

# EFEK KOMBINASI KLOOROKUIN DAN *N-ACETYL CYSTEINE* TERHADAP JUMLAH TROMBOSIT MENCIT GALUR BALB/C YANG DIINFEKSI *Plasmodium berghei*

## (THE EFFECT OF COMBINATION OF CHLOROQUINE AND *N-ACETYL CYSTEINE* ON AMOUNT OF PLATELETS IN BALB/C MICE INFECTED BY *Plasmodium berghei*)

Yuanita Mulyastuti\*, Anik Widijanti\*\*, Mulyohadi Ali\*\*\*, Agustin Iskandar\*\*\*\*, Loeki Enggar Fitri\*\*\*\*\*

\* Program Studi Kedokteran FK Unibraw Malang

\*\* Laboratorium Sentral RSU dr. Saiful Anwar Malang

\*\*\* Laboratorium Farmakologi FK Unibraw Malang

\*\*\*\* Laboratorium Parasitologi FK Unibraw Malang

### ABSTRACT

Malaria is the most important of the parasitic diseases of humans. In Indonesia, about more than 70 million people live in area which is endemic to malaria, about 15 million new case of malaria occurred every year. In malaria immune response forms free radical which assist to eliminate the cause of disease but also destroys endothelial cells at various organ. This oxidative damage plays an important role in the development of malarial thrombocytopenia. The aim of this research was to investigate the effect of Chloroquine combine with N-Acetyl cysteine on the degree of parasitemia and platelets amount during malaria infection. Combination of Chloroquine and N-Acetyl cysteine have been tested by using experimental research method in male Balb/c mice which was infected by *Plasmodium berghei*. Measurement of the degree of parasitemia was done everyday and the amount of the platelet as one of the nonspecific cellular immunity parameter at malaria was calculated once in three days. Treatment group were divided to eight groups, group of chloroquine(0,05 mg/gr), group of N-Acetyl cysteine with dose 0,25 mg/gr, 0,5 mg/gr, and 1 mg/gr and also combination group of chloroquine and N-Acetyl cysteine with constant dose of chloroquine(0,05 mg/gr) and various dose of N-Acetyl cysteine(0,25 mg/gr, 0,5 mg/gr, and 1 mg/gr). One group consisted of infected mice without treatment as control group. Significant degradation of parasitemia was noted in combination group of chloroquine and N-Acetyl cysteine during the infection of malaria ( $p < 0,05$ ). Amount of platelet at combination group of chloroquine and N-Acetyl cysteine was higher than control ( $p > 0,05$ ). The conclusion this research is combination of chloroquine and N-Acetyl cysteine can degrade the degree of parasitemia, but not yet proven degradation of platelet amount during malaria infection.

**Keywords:** *Plasmodium berghei*, chloroquine, N-acetyl cysteine, platelet

### PENDAHULUAN

Malaria merupakan penyakit akibat parasit yang paling penting untuk manusia. Transmisinya terjadi di 103 negara dan menyerang lebih dari satu milyar manusia dan menyebabkan 1–3 juta kematian setiap tahun. Kebanyakan malaria terjadi pada daerah tropis, tapi malaria juga merupakan ancaman bagi negara non endemik serta bahaya bagi para wisatawan (1).

Di Indonesia, sekitar lebih dari 70 juta orang hidup di daerah endemis malaria, lebih kurang 15 juta kasus baru malaria terjadi setiap tahunnya. Tingkat kematian malaria mencapai  $\pm 30.000$  pertahun. Kerugian yang timbul pada bidang sosial ekonomi sekitar US\$ 5 juta pertahun, kehilangan penghasilan ini karena penderita tidak bekerja selama sakit malaria (2).

Malaria disebabkan oleh protozoa intraseluler yang bergenus *Plasmodium*. Keberadaan *Plasmodium* didalam tubuh akan merangsang sistem imun untuk memberikan perlindungan bagi tubuh dengan jalan menghilangkan benda asing atau antigen, diantaranya adalah dengan mengaktivasi sel T limfosit dan makrofag serta produksi TNF(*Tumor Necrosis Factor*) (3). Respon imun dalam rangka melawan keberadaan parasit yang melibatkan makrofag, limfosit T dan berbagai sel yang lain, akan

disertai metabolisme aktif dan pembentukan *Reactive Oxygen Species*(ROS) yang bersifat oksidatif atau dengan kata lain akan terbentuk radikal bebas. Radikal bebas juga akan dibentuk oleh sel-sel fagosit untuk melawan *Plasmodium* didalam sel darah merah sehingga membantu mengeliminasi penyebab penyakit malaria, akan tetapi radikal bebas yang terbentuk ini juga mampu menghancurkan/melisiskan eritrosit yang normal serta merusak sel endotel pada berbagai organ. Dengan demikian perusakan oksidatif oleh radikal bebas menjadi salah satu penyebab terjadinya kelainan patologis pada penderita malaria (4).

Klorokuin telah lama dikenal sebagai obat antimalaria. Banyak penelitian yang membuktikan efektivitas klorokuin dalam membunuh *Plasmodium*. Selain itu klorokuin merupakan obat antimalaria yang murah, efektif dengan batas keamanan yang tinggi (5).

Penggunaan antioksidan pada pengobatan malaria telah dicobakan pada binatang. Penurunan derajat parasitemia dan peningkatan aktivitas makrofag ditemukan pada mencit yang diinfeksi *Plasmodium berghei* dan diberikan kombinasi klorokuin dan vitamin C (6). Selain itu banyak juga penelitian lain yang mulai menggunakan kombinasi antimalaria dengan antioksidan terutama vitamin C, vitamin E dan  $\beta$ -karoten untuk mempercepat eliminasi *Plasmodium*. Tetapi belum ada peneliti yang melaporkan penggunaan *N-acetyl cysteine* pada penyakit malaria yang digunakan bersama klorokuin, walaupun *N-acetyl cysteine* juga merupakan antioksidan yang potensial.

Jurnal Kedokteran Brawijaya, Vol. XX, No. 1, April 2004.

Korespondensi: Loeki Enggar Fitri; Lab.Parasitologi FK Unibraw; Jl. Veteran Malang-65145; telp (0341) 580993, 567192 fax (0341)564755 lukief@brawijaya.ac.id

*N-acetyl cysteine* selama ini lebih dikenal sebagai *mucoytic agent* dan digunakan sebagai terapi tambahan pada kasus bronchitis kronis. *N-acetyl cysteine* disamping sebagai *mucoytic agent* juga diketahui sebagai antioksidan. Obat ini didalam darah akan menjadi cystein yang merupakan protein sulfhydryl *antioksidant groups*. *N-acetyl cysteine* merupakan antioksidan kuat, antitoksin yang cukup penting serta merupakan substansi yang menunjang sistem imun. *N-acetyl cysteine* dapat diperoleh secara alami dari makanan. *N-acetyl cysteine* merupakan prekursor untuk pembentukan glutathion, antioksidan penting yang melindungi sel melawan stres oksidatif (7). Dengan diketahuinya peranan radikal bebas pada penyakit malaria, maka perlu adanya pemikiran penggunaan terapi antioksidan sebagai terapi suportif yang dapat mendukung dalam proses penyembuhan penderita malaria dan mengurangi berbagai resiko yang potensial terjadi pada penderita.

Pada malaria terjadi perubahan pada jumlah trombosit, atau yang dikenal dengan trombositopenia (8). Mekanisme trombositopenia pada malaria berhubungan dengan destruksi trombosit di perifer dan konsumsi trombosit. Kompleks imun yang terbentuk dari antigen malaria dengan IgG atau IgM dengan atau tanpa komplemen pada trombosit memicu sekuestrasi trombosit oleh makrofag di limpa (8). Hiperaktifitas makrofag juga memainkan peran dalam destruksi trombosit. Konsumsi trombosit saat terjadi DIC merupakan faktor lain yang juga turut berperan dalam terjadinya trombositopenia (8). Pemberian antioksidan diharapkan dapat membantu mengeliminasi *Plasmodium* dan secara tidak langsung mengatasi perubahan pada trombosit.

Pada penelitian ini digunakan kombinasi klorokuin dan *N-acetyl cysteine* dengan tujuan kedua obat ini dapat bekerja secara sinergis dalam eliminasi *Plasmodium*. Diharapkan juga kombinasi ini dapat meningkatkan aktivitas imunitas seluler, dengan jumlah trombosit sebagai parameternya, dan mempercepat eliminasi parasit.

## METODOLOGI

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan metode serial menggunakan hewan uji mencit galur Balb/C sebagai sampel. Setiap hari dilakukan pengamatan derajat parasitemia dan pada hari ke 3, 5 dan 7 dari masing-masing kelompok 3 mencit dimatikan untuk diambil sampel darahnya dan dihitung jumlah trombosit.

Hewan uji dibagi menjadi 8 kelompok yang seluruhnya diinfeksi *Plasmodium berghei*. Masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor mencit yang dipilih secara acak. Adapun pembagian kelompoknya adalah sebagai berikut:

### Pembagian Kelompok Penelitian

Kelompok kontrol (A)	Kelompok klorokuin (B)	Kelompok <i>N-acetyl cysteine</i> (NAC) (C)	Kelompok klorokuin+NAC (D)
Tanpa pemberian klorokuin & NAC	Mencit diberi klorokuin 0,05 mg/gr BB	C1 : Mencit diberi NAC dosis 0,25 mg/grBB C2 : Mencit diberi NAC dosis 0,5 mg/grBB C3 : Mencit diberi NAC dosis 1 mg/grBB	D1 : Mencit diberi klorokuin 0,05 mg/gr BB + NAC 0,25 mg/grBB D2 : Mencit diberi klorokuin 0,05 mg/gr BB + NAC 0,5 mg/grBB D3 : Mencit diberi klorokuin 0,05 mg/gr BB + NAC 1 mg/grBB

Semua kelompok diinfeksi secara intraperitoneal dengan *Plasmodium berghei* sebesar  $5 \times 10^7$  parasit/ml darah. Selama tujuh hari, setiap hari dilakukan pengambilan darah dari ekor mencit untuk dilihat derajat parasitemianya. Saat parasitemia mencapai 15%, pada kelompok B, C, dan D diberikan perlakuan sesuai kelompok masing-masing. Pada hari ke-3, 5 dan 7 dari tiap kelompok masing-masing tiga ekor mencit dan diperiksa jumlah trombosit dalam darahnya.

### Estimasi jumlah sampel

Berdasarkan penghitungan rumus diperoleh jumlah hewan coba untuk masing-masing perlakuan adalah lebih atau sama dengan 3. Dalam penelitian ini digunakan 9 hewan coba karena setiap hari ke3, 5 dan 7 dimatikan 3 mencit.

### Pemilihan hewan coba

Penelitian ini menggunakan hewan coba mencit galur Balb/C sebanyak 72 mencit. Hewan coba diambil dari Fakultas MIPA Universitas Airlangga Surabaya.

Kriteria inklusi antara lain umur mencit 6-8 minggu, berat badan mencit 20–25 gram dan merupakan mencit jantan. Sedangkan kriteria eksklusi antara lain mencit yang dalam penelitian tidak mau makan dan mencit yang kondisinya menurun atau mati

### Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada bulan Januari - April 2004.

### Cara Penelitian

#### Inokulasi *Plasmodium berghei*

Pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan setiap mencit diinfeksi dengan  $5 \times 10^7$  parasit *Plasmodium berghei* /ml darah secara intraperitoneal. Jumlah eritrosit per ml darah dan parasitemia mencit donor yang akan ditransfer parasitnya terlebih dahulu dihitung. Untuk menghitung jumlah eritrosit, darah diambil dari ujung ekor sebanyak 10  $\mu$ L dan dilakukan pengenceran  $10^3 \times$  dengan larutan PBS. Kemudian jumlah eritrosit dihitung dalam kamar hitung eritrosit (kamar hitung *Improved Naubauer*).

Setelah mencit diinokulasi dengan *Plasmodium berghei* setiap hari diamati derajat parasitemianya. Parasitemia dihitung dari sediaan darah tipis yang telah dipulas dengan pewarnaan Giemsa. Jumlah parasit dihitung per1000 eritrosit dengan mikroskop dengan pembesaran 1000x. Dengan mengalikan jumlah eritrosit/ml darah dengan parasitemia, didapatkan jumlah parasit/ml darah. Selanjutnya dilakukan pengenceran mendapatkan konsentrasi parasit  $5 \times 10^7$  dalam 1 ml darah, kemudian larutan tersebut disuntikkan pada mencit secara intraperitoneal sebanyak 0,2 ml.

#### Pemberian klorokuin dan *N-acetyl cysteine*

Klorokuin dapat diberikan dengan dosis 0,05 mg/grBB mencit per oral dengan cara diminumkan menggunakan sonde atau secara intraperitoneal dengan dosis 800  $\mu$ g selama 7 hari (9). Dengan demikian dalam penelitian ini klorokuin diberikan secara oral dengan dosis 0,05 mg/grBB mencit selama 7 hari. Mula-mula dihitung jumlah obat untuk seluruh mencit, kemudian dihitung jumlah larutan yang dibutuhkan. Jumlah obat dalam larutan yang diberikan adalah dosis obat dibagi jumlah obat seluruh mencit kemudian dikalikan jumlah larutan yang dibutuhkan.

*N-acetyl cysteine* diberikan sesuai dengan dosis masing-masing kelompok, yaitu 0,25 mg/grBB, 0,5 mg/grBB dan 1 mg/grBB mencit per hari per oral selama 7 hari. *N-acetyl cysteine* diberikan dengan cara melarutkannya dalam aquadest kemudian diminumkan dengan sonde. Penghitungan dilakukan dengan cara yang sama dengan klorokuin.

**Pengukuran derajat parasitemia**

Cara pembuatan hapusan darah antara lain diambil setetes darah dari ekor mencit dengan cara menggunting ekor mencit dan ditetaskan pada gelas objek, kemudian tetesan darah tersebut dibuat hapusan dan ditunggu hingga kering, Hasil hapusan diberi methanol hingga merata dan ditunggu kering, Dibuat pewarnaan Giemsa dengan cara mencampurkan pulas Giemsa dengan buffer Giemsa dengan perbandingan 1 : 4, Hapusan darah dicat Giemsa dan ditunggu selama 20 menit, selanjutnya dibilas dengan air hingga tidak ada cat yang tersisa kemudian dikeringkan.

Sedangkan cara pemeriksaan parasitemia antara lain hapusan darah yang sudah dicat diperiksa dengan mikroskop menggunakan perbesaran 1000 kali, dihitung jumlah sel darah merah yang terinfeksi malaria dalam 5 lapang pandang, persentasi parasitemia dihitung berdasarkan jumlah sel darah merah yang terinfeksi malaria dalam 200 sel darah dalam satu lapang pandang.

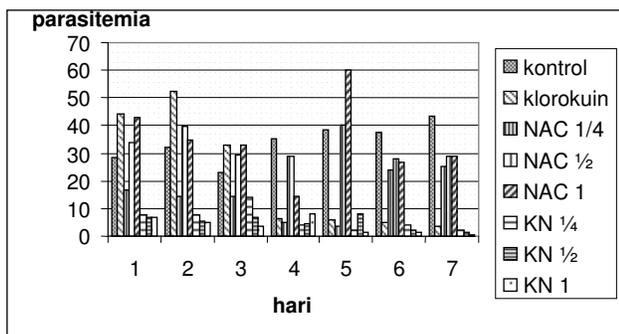
**Cara Penghitungan jumlah trombosit**

Setelah mencit dimatikan dan diambil darahnya sejumlah 0,5 ml kemudian darah tersebut dimasukkan kedalam mesin *Analyzer ABX Micros 60*. Penghitungan dilakukan dengan prinsip mengukur impedansi elektron dari aperture mikro dari sel darah.

**HASIL**

**Hasil Penghitungan Derajat Parasitemia**

Dalam penelitian ini setiap hari diukur derajat parasitemia setiap mencit untuk mengetahui kaitannya dengan efek terapi. Pada setiap kelompok didapatkan hasil derajat parasitemia yang bervariasi. Hasil dari penghitungan parasitemia ini dapat dilihat pada gambar 1.



**Gambar 1. Gambaran parasitemia mencit seluruh kelompok**

Dari hasil penghitungan parasitemia didapatkan bahwa kelompok kontrol mengalami peningkatan yang sedikit fluktuatif dari hari ke hari, sedangkan kelompok lainnya mengalami banyak fluktuasi. Kelompok klorokuin mengalami penurunan dari hari ke hari. Secara umum tampak derajat parasitemia pada kelompok NAC lebih rendah daripada kelompok kontrol kecuali pada

kelompok NAC 1 di hari kelima. Pada awal infeksi kelompok NAC memiliki derajat parasitemia yang lebih rendah daripada kelompok klorokuin namun seiring berjalannya waktu maka mulai hari keempat parasitemia menjadi lebih tinggi pada kelompok NAC. Disamping itu secara umum derajat parasitemia pada kelompok NAC juga lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok KN.

**Hasil Pemeriksaan Jumlah Trombosit Mencit yang Diinfeksi *Plasmodium berghei***

Setelah penelitian dilaksanakan, didapatkan hasil penghitungan jumlah trombosit pada tiap-tiap kelompok. Secara umum hasil dari penghitungan jumlah trombosit pada seluruh kelompok dapat dilihat melalui gambar 2.

Hasil penghitungan trombosit memperlihatkan bahwa jumlah trombosit pada setiap kelompok secara umum mengalami peningkatan pada hari kelima dibandingkan dengan hari ketiga, kecuali pada kelompok kontrol dan kelompok KN 1 terjadi penurunan jumlah trombosit pada hari kelima dibandingkan dengan hari ketiga. Pada hari ketujuh umumnya jumlah trombosit mengalami penurunan, kecuali pada kelompok kontrol dan kelompok KN 1/2 terjadi peningkatan jumlah trombosit dibandingkan dengan hari ketiga dan hari kelima.

Dari hasil uji *General Linear Model* didapatkan jumlah trombosit pada hari ke 3, 5, dan 7 berbeda secara signifikan dengan  $p = 0,020$  ( $p < 0,05$ ). Jumlah trombosit antar kelompok juga berbeda secara signifikan dengan  $p = 0,001$  ( $p < 0,05$ ). Dengan hasil tersebut, maka analisis harus dilanjutkan dengan membandingkan perubahan jumlah trombosit antar hari pada tiap kelompok dan antar kelompok pada satu hari yang sama.

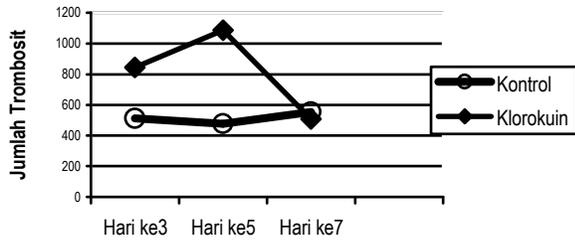
**Perubahan Jumlah Trombosit Hari ke 3, 5 dan 7 pada Setiap Kelompok**

Dengan uji analisis ANOVA didapatkan bahwa pada kelompok klorokuin jumlah trombosit hari ke 5-7 saja yang mengalami penurunan bermakna dengan nilai  $p = 0,048$  ( $p < 0,05$ ), sedangkan jumlah trombosit pada hari ke 3-5 dan 5-7 tidak bermakna secara signifikan ( $p > 0,05$ ).

Dengan ANOVA didapatkan bahwa pada kelompok NAC 1 jumlah trombosit hari ke 3-5 yang mengalami peningkatan bermakna dengan nilai  $p = 0,046$  ( $p < 0,05$ ) dan hari ke 5-7 mengalami penurunan bermakna dengan nilai  $p = 0,029$  ( $p < 0,05$ ), sedangkan jumlah trombosit pada hari ke 3-7 tidak bermakna secara signifikan ( $p > 0,05$ ).

**Perbandingan Jumlah Trombosit Kelompok Mencit Terinfeksi *Plasmodium berghei* Tanpa Terapi (Kontrol) dengan Kelompok Mencit Terinfeksi *Plasmodium berghei* dengan Pemberian Klorokuin**

Gambar 3 memperlihatkan grafik perbandingan perubahan jumlah trombosit hari ke 3, 5, dan 7 pada kelompok kontrol dan kelompok klorokuin.



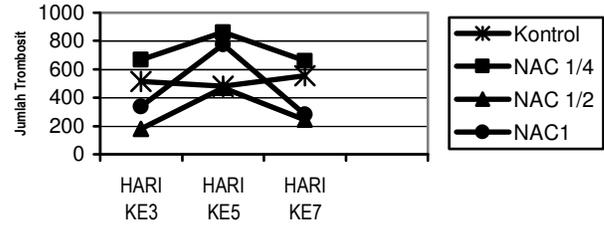
**Gambar 3. Perbandingan hasil penghitungan rata-rata jumlah trombosit kelompok kontrol dengan kelompok klorokuin**

Dari tabel dan grafik di atas terlihat dalam kelompok kontrol pada hari kelima jumlah trombosit mengalami penurunan jika dibandingkan dengan jumlah trombosit pada hari ketiga. Pada hari ketujuh trombosit kembali meningkat lebih tinggi dibandingkan dengan jumlah trombosit pada hari ketiga maupun hari kelima.

Pada kelompok klorokuin jumlah trombosit pada hari ketiga dan kelima lebih tinggi daripada jumlah trombosit kelompok kontrol pada hari-hari yang sama. Jumlah trombosit mengalami

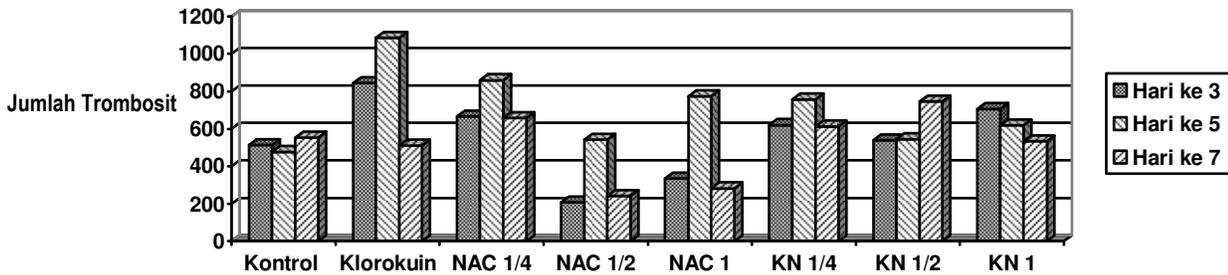
**Perbandingan Jumlah Trombosit Kelompok Mencit Terinfeksi *Plasmodium berghei* Tanpa Terapi (Kontrol) Dengan Kelompok Mencit Terinfeksi *Plasmodium berghei* dengan Pemberian *N-acetyl cysteine* (Kelompok NAC)**

Pada gambar 4 dapat dilihat grafik perbandingan perubahan jumlah trombosit hari ke 3, 5, dan 7 pada kelompok kontrol dan kelompok NAC ¼, NAC ½, dan NAC 1.



**Gambar 4. Perbandingan hasil penghitungan rata-rata jumlah trombosit kelompok kontrol dengan kelompok NAC**

Dari grafik di atas terlihat dalam kelompok kontrol pada



**Gambar 2 Hasil penghitungan rata-rata jumlah trombosit pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan**

Keterangan:

- Kontrol : Kelompok mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* tanpa perlakuan
- Kelompok Klorokuin : Kelompok mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* dengan pemberian klorokuin 0,05 mg/grBB
- Kelompok NAC ¼ : Kelompok mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* dengan pemberian *N-acetyl cysteine* dosis 0,25 mg/grBB
- Kelompok NAC ½ : Kelompok mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* dengan pemberian *N-acetyl cysteine* 0,50 mg/grBB
- Kelompok NAC 1 : Kelompok mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* dengan pemberian *N-acetyl cysteine* 1 mg/grBB
- Kelompok KN ¼ : Kelompok mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* dengan pemberian klorokuin 0,05 mg/grBB dan *N-acetyl cysteine*(NAC) dosis 0,25 mg/grBB
- Kelompok KN ½ : Kelompok mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* dengan pemberian klorokuin 0,05 mg/grBB dan *N-acetyl cysteine*(NAC) dosis 0,50 mg/grBB
- Kelompok KN 1 : Kelompok mencit terinfeksi *Plasmodium berghei* dengan pemberian klorokuin 0,05 mg/grBB dan *N-acetyl cysteine*(NAC) dosis 1 mg/grBB

peningkatan pada hari kelima sedangkan pada hari ketujuh jumlah trombosit justru menurun dibandingkan dengan jumlah trombosit hari ketiga maupun hari kelima dan sedikit lebih rendah dibandingkan jumlah trombosit pada kelompok kontrol.

Dari hasil uji ANOVA(Tukey HSD) tampak bahwa jumlah trombosit kelompok klorokuin dibandingkan dengan kelompok kontrol pada hari ke 3, 5, dan 7 tidak berbeda secara bermakna ( $p > 0,05$ ).

hari kelima jumlah trombosit mengalami penurunan jika dibandingkan dengan jumlah trombosit pada hari ketiga. Pada hari ketujuh trombosit kembali meningkat lebih tinggi dibandingkan dengan jumlah trombosit pada hari ketiga maupun hari kelima.

Pada kelompok NAC ¼ dan kelompok NAC 1 jumlah trombosit mengalami peningkatan pada hari kelima sedangkan pada hari ketujuh jumlah trombosit justru menurun dibandingkan dengan jumlah trombosit hari ketiga maupun hari kelima.

Pada kelompok NAC ½ jumlah trombosit mengalami peningkatan pada hari kelima sedangkan pada hari ketujuh jumlah trombosit menurun dibandingkan dengan jumlah trombosit hari kelima. Meskipun mengalami penurunan, pada kelompok NAC ½ jumlah trombosit pada hari ketujuh lebih tinggi dibandingkan dengan hari ketiga.

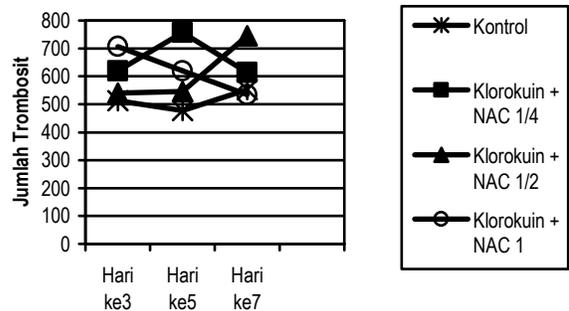
Jumlah trombosit pada kelompok NAC ¼ selalu lebih tinggi dibandingkan dengan jumlah trombosit pada kelompok kontrol maupun kelompok NAC ½ dan NAC 1 pada hari ke 3, 5 maupun hari ke 7. Jumlah trombosit pada kelompok NAC ½ selalu lebih rendah dibandingkan dengan jumlah trombosit pada kelompok kontrol dan kelompok NAC ¼ maupun kelompok NAC 1 pada hari ke 3, 5 maupun hari ke 7. Sedangkan jumlah trombosit pada kelompok NAC 1 pada hari ketiga lebih tinggi daripada jumlah trombosit kelompok NAC ½ tetapi lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol maupun kelompok NAC ¼. Pada hari kelima jumlah trombosit kelompok NAC 1 lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol dan kelompok NAC ½ tetapi lebih rendah daripada jumlah trombosit kelompok NAC ¼. Pada hari ketujuh jumlah trombosit pada kelompok NAC 1 kembali mengalami penurunan sampai dibawah jumlah trombosit kelompok kontrol dan kelompok NAC ¼, tetapi masih lebih tinggi dibandingkan dengan jumlah trombosit kelompok NAC ½. Dari grafik 4 juga dapat dilihat bahwa kelompok NAC menghasilkan jumlah trombosit yang sangat fluktuatif. Peningkatan dan penurunan yang tampak lebih tajam dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Dari hasil uji ANOVA(Tukey HSD) tampak bahwa jumlah trombosit kelompok kontrol dibandingkan dengan kelompok NAC ¼, NAC ½ dan NAC 1 tidak berbeda secara bermakna (  $p > 0,05$ ) baik pada hari ke 3, 5, dan 7.

Dari uji korelasi dapat dilihat bahwa tidak terdapat hubungan yang kuat secara statistik antara perubahan jumlah trombosit dan dosis NAC pada hari ketiga dan kelima. Namun pada hari ketujuh didapatkan korelasi Pearson sebesar -0,518, hal ini menunjukkan terdapat hubungan yang cukup erat antara variabel bebas (dosis NAC) dengan variabel tergantug(jumlah trombosit). Tanda negatif menunjukkan hubungan yang terjadi adalah hubungan yang berlawanan, yakni semakin besar dosis NAC maka jumlah trombosit semakin kecil. Pada hari ketujuh didapatkan Sig. = 0,042 ( $p < 0,05$ ) menandakan bahwa memang ada hubungan antara dosis obat dengan jumlah trombosit.

**Perbandingan Jumlah Trombosit Kelompok Mencit Terinfeksi *Plasmodium berghei* (Kelompok Kontrol) dengan Kelompok Mencit Terinfeksi *Plasmodium berghei* dengan Pemberian Kombinasi Klorokuin dan *N-acetyl cysteine* (Kelompok KN)**

Gambar 5 memperlihatkan grafik perbandingan perubahan jumlah trombosit hari ke 3, 5, dan 7 pada kelompok kontrol dan kelompok KN ¼, KN ½ dan KN 1.



**Gambar 5. Perbandingan hasil penghitungan rata-rata jumlah trombosit kelompok kontrol dengan kelompok KN**

Dari grafik di atas terlihat dalam kelompok kontrol pada hari kelima jumlah trombosit mengalami penurunan jika dibandingkan dengan jumlah trombosit pada hari ketiga. Pada hari ketujuh trombosit kembali meningkat lebih tinggi dibandingkan dengan jumlah trombosit pada hari ketiga maupun hari kelima.

Pada kelompok kombinasi klorokuin dan NAC ¼ (KN ¼) tampak bahwa pada hari kelima jumlah trombosit mengalami peningkatan dibandingkan hari ketiga, namun pada hari ketujuh jumlah trombosit kembali menurun sampai sedikit lebih rendah dibanding hari ketiga.

Pada kelompok kombinasi klorokuin dengan NAC ½ (KN ½) tampak bahwa jumlah trombosit perlahan tapi pasti mengalami peningkatan, baik dari hari ketiga menuju hari kelima, maupun pada hari ketujuh.

Pada kelompok kombinasi klorokuin dan NAC 1 (KN 1) tampak garis yang terbentuk hampir lurus. Penurunan jumlah trombosit terjadi dari hari ketiga menuju hari kelima, dan terus mengalami penurunan sampai hari ketujuh.

Seperti saat membedakan kelompok kontrol dengan klorokuin atau dengan kelompok NAC, uji analisis ANOVA kembali digunakan untuk mengetahui lebih lanjut signifikansi perbedaan jumlah trombosit pada hari ketiga, lima dan tujuh antara kelompok kontrol dengan kelompok KN.

Dari hasil uji ANOVA(Tukey HSD) tampak bahwa jumlah trombosit kelompok kontrol dibandingkan dengan kelompok KN pada hari ke 3, 5, dan 7 tidak berbeda secara bermakna ( $p > 0,05$ ).

Dari uji statistik korelasi didapatkan korelasi Pearson pada hari ketiga sebesar 0,564. Hal ini menunjukkan adanya hubungan yang cukup kuat secara statistik antara variabel bebas (dosis KN) dengan variabel tergantug(jumlah trombosit). Angka Sig. pada hari ketiga sebesar 0,028( $p < 0,05$ ) menunjukkan bahwa memang terdapat hubungan antara kelompok perlakuan (kelompok KN) dengan perubahan jumlah trombosit.

Pada hari kelima dan ketujuh korelasi Pearson menunjukkan angka dibawah 0,5 yang berarti hubungan yang terdapat antara dosis obat dengan perubahan jumlah trombosit kurang kuat. Disamping itu Sig. Yang terlihat lebih besar dari 0,05 ( $p > 0,05$ ), menunjukkan bahwa tidak ada hubungan antara dosis obat dengan perubahan jumlah trombosit.

**Perbandingan Jumlah Trombosit Kelompok Mencit Terinfeksi *Plasmodium berghei* (Kelompok Klorokuin) dengan Kelompok Mencit Terinfeksi *Plasmodium berghei* dengan Pemberian *N-acetyl cysteine* (Kelompok NAC) serta dengan Kombinasi Klorokuin dan *N-acetyl cysteine* (Kelompok KN)**

Perbandingan antar kelompok memperlihatkan jumlah trombosit pada kelompok klorokuin jika dibandingkan dengan kelompok NAC didapatkan hasil yang tidak menunjukkan perbedaan bermakna ( $p > 0,05$ ), baik pada hari ketiga, lima maupun tujuh, kecuali perbandingan antara klorokuin dengan NAC  $\frac{1}{2}$  pada hari ke 3 menunjukkan perbedaan yang nyata secara statistik ( $p < 0,05$ ).

Jumlah trombosit pada kelompok klorokuin dibandingkan dengan seluruh kelompok kombinasi klorokuin dan NAC (KN) tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $p > 0,05$ ) pada hari ketiga, lima maupun tujuh.

## PEMBAHASAN

Di Indonesia, sekitar lebih dari 90 juta orang hidup di daerah endemis malaria, lebih kurang 15 juta kasus baru malaria terjadi setiap tahunnya (2). Malaria disebabkan oleh protozoa intraseluler yang bergenus *Plasmodium*. Keberadaan *Plasmodium* didalam tubuh akan merangsang sistem imun untuk memberikan perlindungan bagi tubuh dengan jalan menghilangkan benda asing atau antigen, diantaranya adalah dengan mengaktivasi sel limfosit T dan makrofag serta produksi TNF (*Tumor Necrosis Factor*) (3).

Dengan diketahuinya peranan radikal bebas pada penyakit malaria, maka perlu adanya pemikiran penggunaan terapi antioksidan sebagai terapi suportif yang dapat mendukung dalam proses penyembuhan penderita malaria dan mengurangi berbagai resiko yang potensial terjadi pada penderita. Penurunan derajat parasitemia dan peningkatan aktivitas makrofag ditemukan pada mencit yang diinfeksi *Plasmodium berghei* dan diberikan kombinasi klorokuin dan vitamin C (6). Pada penelitian ini dicobakan antioksidan lain yaitu *N-acetyl cysteine* sebagai terapi tambahan pada infeksi malaria. *N-acetyl cysteine* merupakan antioksidan kuat, antitoksin yang cukup penting serta merupakan substansi yang menunjang sistem imun. *N-acetyl cysteine* merupakan prekursor untuk pembentukan glutathion, antioksidan penting yang melindungi sel melawan stres oksidatif (7).

Pada malaria terjadi penurunan jumlah trombosit (8). Jumlah megakariosit yang terlihat abnormal besar jumlahnya meningkat dalam sumsum tulang. Trombosit sirkulasi juga membesar, menunjukkan dispoiesis trombopoiesis (10). Penurunan jumlah trombosit juga disebabkan adanya antigen malaria yang menyebabkan sekuestrasi trombosit dalam kapiler organ-organ tubuh bagian dalam, termasuk ambilan limpa yang membesar. Aktifasi makrofag yang menyebabkan hiperaktifasi makrofag juga ikut berperan dalam destruksi trombosit (5,10). Dalam penelitian ini, pemberian klorokuin dikombinasikan dengan *N-acetyl cysteine* dengan tujuan agar klorokuin bekerja membunuh parasit sedangkan *N-acetyl cysteine* bekerja menstimulasi aktivitas sel-sel imun (11). Diharapkan juga kombinasi ini dapat meningkatkan aktivitas imunitas nonspesifik seluler, diantaranya memperbaiki sistem pembentukan trombosit, dan mempercepat eliminasi parasit.

Secara umum parasitemia pada kelompok kombinasi klorokuin dan *N-acetyl cysteine* adalah yang paling rendah diantara seluruh kelompok, dan kelompok *N-acetyl cysteine* pada urutan berikutnya. Kelompok kontrol menunjukkan peningkatan setiap hari meskipun kurang bermakna, hal ini terjadi karena kelompok kontrol sama sekali tidak mendapatkan terapi sehingga parasit dalam darah dapat terus mengulangi siklusnya tanpa hambatan. Kelompok klorokuin menunjukkan penurunan yang sangat bermakna, terutama pada hari kelima, hal ini tidak mengherankan karena klorokuin jelas sudah terbukti sebagai antimalaria yang sangat efektif untuk mengeliminasi parasit dalam fase eritrosit. Waktu paruh klorokuin untuk pengobatan adalah 6-10 hari (12). Hal ini dapat dilihat pula pada efeknya dalam kombinasi bersama *N-acetyl cysteine* yang menunjukkan derajat parasitemia yang sangat rendah. Sampai hari ketujuh derajat parasitemia pada kelompok klorokuin maupun kelompok kombinasi klorokuin dengan *N-acetyl cysteine* tetap menunjukkan angka yang rendah.

Meskipun sempat mengalami peningkatan pada hari kelima, namun pada hari ketujuh kelompok *N-acetyl cysteine* mengalami derajat parasitemia yang lebih rendah dibandingkan dengan kontrol. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh G Watt, dkk pada tahun 2002 bahwa *N-acetyl cysteine* dapat menurunkan derajat parasitemia dibandingkan dengan plasebo. Dalam penelitian tersebut dikatakan bahwa mekanisme *N-acetyl cysteine* dalam menurunkan derajat parasitemia adalah melalui inhibisi sitoaderens dan agregasi eritrosit terinfeksi sehingga eliminasi eritrosit yang terinfeksi terjadi lebih cepat (13). Kemungkinan rendahnya derajat parasitemia juga merupakan efek *N-acetyl cysteine* sebagai inhibitor enzim *cystein proteinase* yang dibutuhkan oleh *Plasmodium* untuk memecah eritrosit dan menginvasi eritrosit yang lain. Kedua hal di atas juga memberikan pengaruh rendahnya parasitemia pada kelompok kombinasi klorokuin dan *N-acetyl cysteine*. Tidak ada satu kelompok pun yang mencapai derajat parasitemia sama dengan nol pada hari ketujuh.

Selain untuk mengukur tingkat parasitemia, perlakuan juga dimaksudkan untuk mengevaluasi efek kombinasi klorokuin dan *N-acetyl cysteine* terhadap perubahan jumlah trombosit. Penurunan jumlah trombosit merupakan indikator terjadinya trombositopenia yang merupakan salah satu manifestasi klinis pada malaria.

Variasi harga normal trombosit pada mencit adalah  $300-900 \times 10^3/\mu\text{l}$  (14). Karena variasinya yang luas ini, maka meskipun jumlah trombosit setiap pengukuran kadang-kadang didapatkan hasil yang berbeda jauh, namun masih dapat dianggap normal bila masih dalam batas-batas tersebut. Dalam penelitian ini penghitungan jumlah trombosit dilakukan dengan mesin *Analyzer ABX Micros 60*. Mesin ini menghitung trombosit dengan mengukur impedansi elektron dari apertura mikro dari sel darah, oleh karena itu mesin ini memiliki kelemahan yang cukup besar dalam menghitung trombosit. Trombosit yang sangat besar dan diameternya melebihi batas kanal trombosit tidak akan dimasukkan dalam kalkulasi instrumen terhadap trombosit. Eritrosit yang teraglutinasi dapat mengikat trombosit, hal ini juga menyebabkan negatif palsu. Trombosit yang menggumpal karena teknik pengambilan darah yang salah atau satelitosis karena aktivasi EDTA terhadap Ig juga dapat menyebabkan jumlah trombosit yang rendah. Sebaliknya, hemolisis yang menyebabkan

eritrosit terpecah menjadi fragmen-fragmen kecil (schizosit), eritrosit yang sangat kecil (mikrosit), dan fragmen sel darah putih dapat menjadikan hasil penghitungan positif palsu dan meningkatkan jumlah trombosit. Kelemahan mesin *analyzer* ini ikut berperan dalam menyebabkan terjadinya peningkatan dan penurunan jumlah trombosit yang tidak berpola dalam penelitian ini.

Selain kelemahan pada mesin yang digunakan untuk menganalisa hasil penelitian, jumlah sampel yang sangat sedikit dalam penelitian ini juga berpengaruh terhadap hasil yang diperoleh, misalnya saja bila jumlah sampel lebih banyak, ada kemungkinan trombositopenia yang terjadi lebih banyak sehingga dalam analisa statistik pun harus dipisahkan antara kelompok yang trombositopenia, kelompok yang normal maupun kelompok yang trombositosis. Dalam penelitian ini, sehubungan dengan sedikitnya jumlah sampel yang mengalami trombositopenia, maka analisa statistik tidak dikelompokkan berdasarkan jumlah trombositnya, namun berdasarkan kelompok perlakuan.

Dalam penelitian ini didapatkan hasil pengukuran trombosit pada seluruh kelompok berada pada kisaran normal kecuali kelompok *N-acetyl cysteine* ½ pada hari ketiga, yaitu rata-rata  $208,67 \times 10^3/\mu\text{l}$  dan hari ketujuh, sebesar rata-rata  $241,67 \times 10^3/\mu\text{l}$  serta kelompok *N-acetyl cysteine* 1 pada hari ketujuh, yaitu rata-rata  $282,67 \times 10^3/\mu\text{l}$ . Setelah hasil pengukuran jumlah trombosit diuji dengan *Analysis of varian* (ANOVA) ternyata ada perbedaan bermakna pada beberapa kelompok perlakuan. Artinya pada beberapa kelompok didapatkan perubahan bermakna pada jumlah trombosit bila dibandingkan antara hari ketiga, lima dan tujuh. Setelah dilanjutkan dengan tes Tukey untuk mengetahui perbandingan antar kelompok pada hari ketiga, lima dan tujuh peburunan bermakna terjadi pada hari ketiga kelompok *N-acetyl cysteine* ½ ( $p < 0,05$ ) bila dibandingkan dengan kelompok klorokuin, sedangkan trombositopenia yang terjadi pada kelompok *N-acetyl cysteine* ½ hari ketujuh dan *N-acetyl cysteine* 1 hari ketujuh tidak bermakna secara statistik. Pembahasan tentang ini akan dikemukakan kemudian.

Pada seluruh kelompok jumlah trombosit mengalami peningkatan pada hari kelima dibandingkan dengan hari ketiga, namun menurun kembali pada hari ketujuh, kecuali pada kelompok kontrol dan KN ½ yang mengalami peningkatan pada hari ketujuh. Pengecualian pada kelompok kontrol maupun KN ½ pun tidak bermakna secara statistik. Pada penelitian ini perlakuan dimulai setelah parasitemia mencapai 15-20% (satu minggu setelah infeksi), sedangkan masa hidup trombosit setelah dilepaskan oleh megakariosit adalah 8-10 hari (15). Inilah kemungkinan yang menyebabkan trombositopenia pada hari ketiga setelah perlakuan, atau sama dengan hari kesepuluh setelah infeksi malaria terjadi. Rendahnya jumlah trombosit pada hari ketiga kemungkinan disebabkan karena parasitemia masih cukup tinggi dan efek pemberian perlakuan belum tampak secara nyata, misalnya saja klorokuin yang waktu paruh untuk pengobatannya adalah 6-10 hari. Sedangkan peningkatan jumlah trombosit pada hari kelima setelah perlakuan dapat disebabkan oleh banyak hal. Pertama, parasitemia yang mulai mengalami penurunan menyebabkan sistem imun kembali mengalami kemajuan sehingga produksi trombosit pun kembali meningkat. Namun peningkatan ini juga dapat disebabkan adanya kesalahan pada metode penghitungan seperti yang telah disebutkan di atas. Hal inilah yang dapat menyebabkan turunnya jumlah trombosit

pada hari ketujuh jika dibandingkan hari kelima. Pada hari ketujuh parasitemia sudah lebih rendah daripada hari kelima dan target terapi mulai tercapai, eritrosit berparasit yang dieliminasi dari sirkulasi pun sudah berkurang, sehingga pecahan eritrosit sudah mengurangi kesalahan penghitungan dengan metode *analyzer*.

Jumlah trombosit pada kelompok klorokuin merupakan jumlah yang tertinggi dibandingkan dengan seluruh kelompok, kecuali pada hari ketujuh. Hal ini wajar mengingat kemampuannya mengeliminasi eritrosit berparasit sehingga stimulus terhadap trombosit untuk menjadi agregasi menjadi berkurang. Selama infeksi malaria, trombosit distimulasi oleh bermacam faktor, yaitu kompleks imun, kontak permukaan membran trombosit dengan eritrosit berparasit serta rusaknya sel endotel. Hal ini menstimulasi trombosit untuk kehilangan *sialic acid* dari membran trombosit dan menjadi hiperaktif. Trombosit yang hiperaktif dapat lebih mudah mengalami lisis. Lisis trombosit yang abnormal ini dapat terjadi intravaskular. Lisis intravaskular selama hiperagregasi ini diikuti dengan meningkatnya *release* bermacam substansi dari granul trombosit yang dapat menginduksi pembentukan trombus trombosit-fibrin yang dikenal sebagai DIC (8). Dengan berkurangnya eritrosit berparasit maka jumlah trombosit abnormal yang lisis pun berkurang juga. Dalam penelitian pada tahun 1997 yang dilakukan oleh Osim dkk menghasilkan kesimpulan bahwa infeksi malaria menyebabkan hilangnya serotonin pada trombosit. Serotonin pada trombosit berfungsi menarik trombosit lain. Penelitian Osim dkk yang dilakukan secara *in vivo*, menghasilkan kesimpulan bahwa pada dosis terapi klorokuin juga dapat menghambat agregasi trombosit (16). Hal ini menyebabkan mencit yang diberi klorokuin memiliki jumlah trombosit yang lebih tinggi. Namun tingginya jumlah trombosit pada kelompok klorokuin ini pun tidak bermakna secara statistik jika dibandingkan dengan kelompok lainnya.

Pada kelompok *N-acetyl cysteine*, jumlah trombosit bervariasi. Jika dibandingkan dengan kontrol maka *N-acetyl cysteine* ¼ saja yang selalu lebih tinggi, sedangkan *N-acetyl cysteine* 1 hanya menampakkan jumlah trombosit yang lebih tinggi pada hari kelima. *N-acetyl cysteine* ½ menunjukkan hasil jumlah trombosit yang selalu lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol. Diantara kelompok *N-acetyl cysteine* yang lain jumlah trombosit pada kelompok *N-acetyl cysteine* ½ adalah yang paling rendah.

Jika dibandingkan dengan kelompok klorokuin secara umum kelompok *N-acetyl cysteine* menunjukkan jumlah trombosit yang lebih rendah, terutama *N-acetyl cysteine* ½ ( $p < 0,05$ ). Hal ini disebabkan karena pada kelompok *N-acetyl cysteine* tidak ada perlakuan yang dapat membunuh parasit dalam darah, yang diberikan hanyalah *N-acetyl cysteine* sebagai imunostimulan, sedangkan klorokuin sudah teruji sebagai antimalaria yang mengeliminasi parasit dalam darah. Dengan tidak adanya perlakuan yang mematikan parasit dalam darah maka tubuh terus berusaha meningkatkan peran sistem imun. Trombosit sebagai salah satu komponen sistem imun tersebut juga dikerahkan untuk melawan kerusakan yang dihasilkan oleh Plasmodium tersebut. Kadar *platelet associated IgG* kembali normal mengikuti pembersihan parasit. Peningkatan PAIgG tersebut menyebabkan lisis trombosit yang cenderung menimbulkan pembersihan cepat oleh limpa. Sejumlah studi memperlihatkan antibodi trombosit timbul sewaktu infeksi malaria. Ini dapat mengaktifkan trombosit yang kemudian dikeluarkan oleh hati dan limpa. Selain itu,

trombosit sendiri merupakan sumber yang kaya dengan *Reactive oxygen species* (ROS). Konsumsi oksigen oleh trombosit yang aktif bersifat sangat kuat dan mendukung mekanisme respon agregasi. Aktivasi trombosit memiliki sifat autoamplifikasi yang tergantung oksigen dan tidak ada yang mengendalikan (15). Kemungkinan sifat *N-acetyl cysteine* sebagai antioksidan yang menghambat pembentukan ROS membatasi ekspansi agregasi trombosit yang tidak terkendali.

Pada kelompok kombinasi klorokuin dan *N-acetyl cysteine* secara umum terlihat jumlah trombosit yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol dan *N-acetyl cysteine*, tetapi lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok klorokuin. Pada kelompok kombinasi klorokuin dan *N-acetyl cysteine* jumlah trombosit lebih rendah daripada kelompok klorokuin kemungkinan disebabkan karena fungsi *N-acetyl cysteine* sebagai antioksidan yang membatasi agregasi trombosit. Jumlah trombosit kelompok kombinasi klorokuin dan *N-acetyl cysteine* lebih tinggi dibanding kelompok *N-acetyl cysteine* karena adanya kombinasi dengan klorokuin yang mengeliminasi eritrosit berparasit sehingga stimulus bagi trombosit untuk menjadi hiperaktifitas tidak sebanyak pada kelompok *N-acetyl cysteine*.

#### DAFTAR KEPUSTAKAAN

- White NJ, Breeman JG. *Malaria and Babesiosis: Diseases Caused by Red Blood Cell Parasites*. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, eds. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. New York: The McGraw-Hill Companies 2001; 1: 1203-1212.
- Anonymous. *Mengejar Target Penurunan Malaria 50 Persen*. 2004. Online. <http://www.kompas.com/kompas-cetak/0405/05/humaniora/1008433.htm>, [diakses 5 Mei 2004]
- Abbas KA, Lichtman AH, Pober JS. *Cellular and Molecular Immunology*. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 2000.
- Hunt NH, Kopp M, Stocker R. *Free radicals and Antioxidant in Malaria*. In: ASH Ong & L Packer, eds. *Lipid Soluble Antioxidant: Biochemistry and Clinical Application*. Basel: Birkhauser Verlag; 1992; 337-354.
- Sardjono TW. *Malaria: Mekanisme Terjadinya Penyakit dan Pedoman Penanggulangannya*. Malang: Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya; 2001.
- Fitri LE, Suhendro W, Murwani S, Ali M, Artha IKGM. *Effect of Combined Therapy Using Chloroquine and Vitamin C to the Peritoneal Macrophage Function in BALB/C Strain Mice Infected by Plasmodium berghei*. *Majalah Kedokteran Universitas Brawijaya* 2003; Desember: 19 (3): 99-103.
- Staal FJ, Ela SW, Roederer M, Anderson MT, Herzenberg LA, Herzenberg LA. *Glutathione Deficiency and Human Immunodeficiency Virus Infection*. *Lancet* 1992; 339(8798): 909-912.
- Srichaikul T. *Hematologic Change in Malaria*. *Annual Tropical Medicine Parasitology* 1999; 24-28(Oct): 188-192.
- Suwarni, Tuti S, Dewi RM, Marwoto HA. *Pengaruh Klorokuin terhadap Jumlah Parasit pada Mencit yang Diinfeksi dengan Plasmodium berghei*. *Cermin Dunia Kedokteran* 1994; 94.
- Widodo. *Efek Radikal Bebas Asap Rokok dan Vitamin E pada Kadar Lemak Peroksida, Kontraktilitas Pembuluh Darah dan Perubahan Histopatologi Pembuluh Darah Arteri Ekor Tikus Normal dan Tikus Diabetes dan Efek Vitamin E pada Perjalanan Penyakit dan Komplikasi Diabetes Melitus Tipe II*. *Makalah(unpublish)*. Malang: Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya; 1995
- Vechiarelli A, Dottorini M, Pietrella D, et al. *Macrophage Activation by N-Acetyl Cysteine in COPD Patients*. *Chest* 1994; 105: 806-811.
- Sutisna P. *Malaria Secara Ringkas: Dari Pengetahuan Dasar Sampai Terapan*. Jakarta: EGC; 2003.
- Watt G, Jongsakul K, Ruangvirayuth R. *A Pilot Study Of N-Acetylcysteine As Adjunctive Therapy For Severe Malaria*. *Q J Med* 2002; 95: 285-290.
- Shayne CG, dan Christopher P. *Animal Models In Toxicology*. New York: Marcell Dekker, Inc.; 1992.
- Murphy S, dan Rao AK. *Platelet Disorders: Hereditary and Acquired dalam Mazza J, Manual of Clinical Hematology, 3rd ed*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2002.
- Osim E. *In vivo effect of chloroquine on platelet aggregation in anesthetized rats*. 2002. Online <http://www.haematologica.it/abstr/osim841.html>, [diakses 20 Maret 2004]

#### KESIMPULAN

- Kombinasi klorokuin dan *N-acetyl cysteine* dapat menurunkan derajat parasitemia selama terjadinya infeksi malaria.
- Kombinasi klorokuin dan *N-acetyl cysteine* belum terbukti dapat mengurangi penurunan jumlah trombosit pada infeksi malaria.

#### SARAN

Dalam penelitian lanjutan mengenai efek obat terhadap jumlah trombosit pada infeksi malaria, sebaiknya waktu penelitian diperpanjang mengingat perbaikan jumlah trombosit pada malaria baru terjadi 7-14 hari setelah pembersihan parasit.

Metode yang digunakan dalam pengukuran jumlah trombosit sebaiknya dikonfirmasi dengan metode penghitungan jumlah trombosit lain untuk menghindari terjadinya positif palsu maupun negatif palsu.

Jumlah sampel dalam penelitian sebaiknya lebih banyak (misalnya 5) untuk menghindari hal-hal tidak diinginkan yang mungkin terjadi dalam penelitian misalnya sampel yang mati, dan agar pengacakan sampel dapat dilakukan lebih luas sehingga hasil yang diperoleh dapat lebih terpercaya.