

Varian Pahang dan Kalimantan *Brugia malayi* subperiodik nokturnal (Nematoda:Filarioidea) penyebab filariasis

Cr Siti Utari
Bagian Parasitologi
Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

ABSTRACT

Cr Siti Utari - *The Pahang and Kalimantan variant of nocturnally subperiodic form of Brugia Malayi (Nematoda:Filarioidea) the causative agent of filariasis.*

Background: the nocturnally subperiodic form of *B.malayi* has been reported as health problem both in East Pahang, Semenanjung, West Malaysia and Kakap, West Kalimantan, Indonesia. The filarial worm is transmitted mainly by the same mosquito vector ie *Mansonia uniformis*.

Objectives: to detect any difference of microfilarial behavioral pattern in peripheral blood in East Pahang and West Kalimantan endemic areas by statistically meta analysis on available data published by previous workers.

Methods: using Aikat and Das formula of statistical analysis.

Results: *B.malayi*'s microfilariae still tended to show nonperiodically in East Pahang and periodically already those found in West Kalimantan.

Conclusion: nocturnally subperiodic form of *B.malayi* shows as different variant (subspecies) of those found in East Pahang, Malaysia and West Kalimantan, Indonesia.

Key words: *B. Malayi*'s microfilaria - nocturnally subperiodic - nocturnally periodic - nonperiodic - meta analysis

ABSTRAK

Cr Siti Utari - *Varian Pahang dan Kalimantan Brugia malayi subperiodik nokturnal (Nematoda:Filarioidea) penyebab filariasis*

Latar belakang: *B.malayi* subperiodik nokturnal dijumpai sebagai masalah kesehatan, baik di Pahang Timur, Semenanjung, Malaysia Barat maupun di Kakap, Kalimantan Barat, Indonesia. Cacing filaria itu ditularkan oleh nyamuk yang sama, yaitu *Mansonia uniformis* sebagai vektor utamanya.

Tujuan: mengetahui perbedaan pola perilaku mikrofilaria dalam darah tepi di kedua Pahang Timur dan Kalimantan Barat dengan meta analisis statistik pada data yang ada yang telah dipublikasi oleh peneliti terdahulu.

Metodologi: menggunakan formula Aikat dan Das untuk meta-analisis.

Hasil: mikrofilaria *B.malayi* masih cenderung ke arah nonperiodik di Pahang Timur dan telah ke arah periodik nokturnal di Kalimantan Barat.

Simpulan: *B.malayi* subperiodik nokturnal menunjukkan sebagai varian (subsub-spesies) yang berbeda di Pahang Timur, Malaysia dan Kalimantan Barat, Indonesia.

(B.I.Ked. Vol. 37, No. 3: 112-120, 2005)

PENGANTAR

Cacing filaria *Brugia malayi* subperiodik atau semi periodik nokturnal, salah satu penyebab filariasis, dikenal sebagai bentuk atau tipe atau subspecies (terakhir sebagai kategori formal linnean) *B. malayi* Lichtenstein yang penyebarannya di Asia sangat luas¹. Di Indonesia sendiri tipe *Brugia* tersebut terdapat di daerah-daerah *rural* (pedesaan, bukan lagi dalam hutan) dan tersebar luas terutama di luar Jawa¹, terutama di lingkungan rawa-rawa yang lebih terbuka, mungkin juga di kawasan hutan tetapi yang telah ditebangi. Nyamuk *Mansonia uniformis* Theobald¹, yang menjadi vektor utama *B. malayi* subperiodik nokturnal, habitatnya bukan lagi hutan lebat (*deep forest*) seperti halnya habitat *Mansonia bonnae* Edwards vektor utama *B. malayi* nonperiodik, seperti dijumpai di Kalimantan Timur^{2,3}. *Mansonia bonnae/dives* dapat juga menularkan *B. malayi* subperiodik dan nokturnal¹ tetapi bukan lagi sebagai vektor utamanya, dengan demikian praktis penularan tidak efektif. Ketiga subspecies *B. malayi* (nonperiodik, subperiodik, periodik) dalam penyebarannya terpisahkan satu sama lain oleh perbedaan ekologis setempat.

Untuk subspecies *B. malayi* subperiodik nokturnal, hewan masih berperan sebagai hospes reservoir (sama seperti pada *B. malayi* nonperiodik) tetapi telah menyebar "keluar" dari dalam hutan lebat dan telah adaptasi dengan lingkungan yang baru yaitu lingkungan pedesaan sebagai habitatnya yang sesuai. Lebih jauh, *B. malayi* subperiodik nokturnal terbukti dapat juga ditularkan oleh *Anopheles barbirostris* Van der Wulp¹, tetapi bukan sebagai vektor utamanya sehingga praktis kurang efektif. Nyamuk *An. barbirostris* tersebut lebih efektif dan dikenal sebagai vektor utama *B. malayi* periodik nokturnal¹. Sub spesies terakhir habitatnya sebenarnya juga di pedesaan tetapi terutama di daerah pertanian, artinya daerah yang telah jauh dari hutan. Di alam *B. malayi* periodik nokturnal berbeda dari subspecies lain karena tidak lagi memiliki hospes reservoir pada hewan bagi manusia¹, dengan demikian merupakan varian *B. malayi* yang telah benar-benar dekat sebagai parasit pada manusia. Spesies lain, *Brugia timori* Partono *et al.*, juga ditularkan oleh *An. barbirostris*, demikian juga bersifat periodik nokturnal¹.

Secara filetik (evolusi linneair) *B. malayi* subperiodik nokturnal dapat dikatakan lebih muda dibanding bentuk nonperiodik dan merupakan betuk yang paling muda atau paling dekat sebagai parasit manusia, yaitu bentuk periodik nokturnal^{2,3}. *B. malayi* nonperiodik apabila harus menyebar keluar dari hutan akan mengalami tekanan seleksi alamiah yang berat (penularan tidak lagi efektif) karena bukan lagi di habitatnya yang sesuai. Demikian pula halnya bentuk subperiodik nokturnal apabila harus menyebar ke arah perkotaan, misalnya, atau menjauh dari lingkungan hutan. Tidak demikian halnya apabila terjadi sebaliknya, yaitu apabila *B. malayi* subperiodik ataupun periodik nokturnal misalnya, harus menyebar menuju atau masuk hutan kembali. Oleh karena sifat polifiletik sangat divergen yang dimiliki oleh cacing filaria⁵, maka selanjutnya pada *B. malayi* subperiodik tidak tertutup kemungkinannya untuk dijumpai varian-varian berlainan dalam lingkup subspecies yang ada, seperti juga dijumpai pada bentuk periodik nokturnal.

Filariasis yang disebabkan oleh *B. malayi* masih menjadi masalah kesehatan, baik di Malaysia maupun di Indonesia, ataupun di Asia pada umumnya¹. Penyebaran penyakit di kedua negara tersebut sangat luas tetapi di Indonesia istimewa ke arah timur meluas tidak melewati garis zoogeografis Wallace di Maluku, daerah penyebarannya masih terbatas pada lingkup fauna Asia. Diperkirakan¹, di Asia episentrum penyebaran filariasis malayi tersebut di sekitar perbatasan kedua negara, Malaysia dan Indonesia¹.

Sedikit tentang sejarah, sifat yang berbeda, periodik dan subperiodik (nokturnal) pada mikrofilaria *B. malayi* dilaporkan pertama kali di daerah Penang dan Pahang, Semenanjung, Malaysia Barat oleh Turner dan Edeson (1957)⁶, kemudian juga oleh Wilson *et al.* (1958)⁷. Waktu itu parasit filaria termaksud masih dikenal sebagai *Wucheria malayi*. Kajian lebih lanjut (Edeson dan Wharton, 1958)⁸ kemudian juga Laing *et al.* (1960)⁹ menunjukkan bahwa bentuk subperiodik nokturnal *B. malayi* bersifat zoonotik sedangkan di sisi lain bentuk periodik nokturnal bersifat non zoonotik. Di kemudian hari, bentuk nonperiodik *B. malayi* yang juga bersifat zoonotik, bahkan silvatik, ditemukan oleh Sudjadi (1986)^{2,3} di Kalimantan Timur.

Tidak semua hasil pemeriksaan periodisitas mikrofilaria yang dilakukan peneliti pada masa lampau¹ telah dilakukan analisis statistik secara adekuat. Kebanyakan analisis masih terbatas secara garis besar, yaitu berdasarkan grafik ataupun data langsung. Masalah menjadi rumit apabila harus dibedakan misalnya antara sifat periodik dengan subperiodik atau semi periodik karena batas antara keduanya sangat kabur. Demikian pula apabila harus dibedakan misalnya, antara sifat subperiodik dengan nonperiodik atau aperiodik. Juga apabila puncak kepadatan mikrofilaria pada jam berapa harus ditentukan dengan tepat. Oleh karena itu meta-analisis dengan formula statistik yang adekuat sering kali benar-benar diperlukan terhadap hasil pemeriksaan peneliti pada masa lampau sehingga diketahui dengan tepat jenis ataupun sifat parasit, dalam hal ini tentang perilaku mikrofilaria di darah tepi.

Menurut Sudjadi¹⁰ meta-analisis statistik telah dilakukan pada kasus-kasus bentuk periodik nokturnal *B.malayi* di daerah yang berbeda dan sangat jauh, yaitu di Cheju, Korea Selatan dan di Aceh, Indonesia. Dari meta analisis statistik hasil penelitian peneliti terdahulu itu diketahui, bahwa walaupun sama-sama sebagai subspecies yang bersifat periodik nokturnal keduanya merupakan varian (subspecies) yang taksonomis benar-benar berbeda. *B.malayi* periodik nokturnal di Aceh, misalnya telah terlihat relatif lebih kuat bersifat periodik (nokturnal), atau relatif telah kurang kecenderungannya ke arah subperiodik (nokturnal); dengan kata lain telah kurang ke arah siang hari, dalam munculnya mikrofilaria dalam darah tepi. Di sisi lain, bentuk periodik nokturnal *B.malayi* di Korea Selatan relatif masih kurang tegas bersifat periodik (nokturnal), atau masih lebih ke arah subperiodik (nokturnal), atau dengan kata lain relatif masih kurang kuat ke arah malam hari, dalam hal munculnya mikrofilaria dalam darah tepi, meskipun keduanya masih dalam batas-batas bersifat periodik nokturnal yang nyata. Kedua varian dengan bentuk kecenderungan yang berbeda *B.malayi* di Aceh dan Korea tersebut diperkirakan tidak terlepas dari jenis-jenis nyamuk vektor yang menyebarkan: nyamuk malam *An.barbirostris* untuk *B.malayi* periodik nokturnal di Aceh dan di sisi lain nyamuk siang *Aedes togoi* Theobald untuk *B.malayi* periodik nokturnal di Cheju, Korea. *Ae.togoi*

memang menggigit lebih banyak pada siang hari, sebagai nyamuk siang. Meskipun sebagai nyamuk siang nyamuk tersebut masih juga menggigit pada malam harinya.

Dalam makalah ini dilaporkan meta-analisis statistik hasil pemeriksaan periodisitas mikrofilaria (dari peneliti terdahulu yang lain) pada kasus-kasus bentuk subperiodik nokturnal *B.malayi* dari daerah yang berbeda di Malaysia dan Indonesia. Meta analisis statistik mikrofilaria *B.malayi* subperiodik nokturnal dari daerah terpisah jauh itu dimaksudkan untuk analisis yang lebih teliti, dengan harapan dapat diketahui secara konkrit kemungkinan kecenderungan berbeda, seperti pada *B.malayi* periodik nokturnal yang telah diuraikan di muka. Dengan demikian dapat diketahui, keduanya sebagai varian (taksonomik formal dapat sebagai subspecies) yang benar-benar berbeda, ataukah sebaliknya sebagai varian yang persis sama, apabila keadaannya memang demikian.

BAHAN DAN CARA UNTUK META ANALISIS STATISTIK

Meta analisis statistik hasil pemeriksaan periodisitas mikrofilaria pada bentuk subperiodik nokturnal *B.malayi* pertama-tama dilakukan pada hasil pemeriksaan peneliti terdahulu Turner dan Edeson (1957)⁶, yaitu pada kasus-kasus filariasis di daerah Pahang Timur, Malaysia Barat, ketika parasit masih disebut *Wuchereria malayi* Rao & Maplestone. Selanjutnya juga dilakukan meta-analisis statistik pada hasil pemeriksaan periodisitas di kemudian hari, yang dilakukan oleh Partono *et al* (1977)¹¹, yaitu di daerah Kakap, Kalimantan Barat, Indonesia. Faktor perbedaan yang ada, baik mengenai tempat (geografis) ataupun waktu mungkin dapat memberi sumbangan perbedaan keduanya dalam bentuk periodisitas mikrofilaria *Brugia malayi*.

Pada pemeriksaan periodisitas mikrofilaria di daerah endemik Pahang Timur, Malaysia Barat maupun desa Kakap, Kalimantan Barat, seperti di tempat-tempat lain pada umumnya, darah diambil dari ujung jari dengan volume yang sama (dapat 20, 30, 40 atau 60 mm³ misalnya, yang penting konsisten)^{6,11} dengan menggunakan lanset dan mikropipet tanpa anti koagulan. Pengambilan darah

itu dilakukan tiap 2 jam sampai keseluruhan 24 jam, dengan demikian keseluruhan dilakukan sebanyak 12 kali pemeriksaan darah. Setelah diambil, sampel darah segar segera dibuat sediaan (biasanya dibuat *semithick film*), kemudian dibiarkan kering pada suhu kamar. Setelah kering darah (setidaknya setelah 3 jam) dihemolisis menggunakan air, kemudian difiksasi dengan metanol absolut dan dipulas dengan Giemsa, untuk kemudian dilakukan pemeriksaan mikroskopis biasa. Mikrofilaria *B.malayi* yang ditemukan, biasanya bersarung (*sheathed*), dihitung berapa jumlahnya untuk kemudian hasilnya dianalisis secara statistik per kasus.

Formula Aikat dan Das (1976)¹², yang digunakan dalam meta-analisis statistik dalam kajian ini, dikenal sebagai penyempurnaan cara analisis statistik yang berlaku sebelumnya untuk periodisitas mikrofilaria, yaitu menurut Sasa dan Tanaka (1974)¹³.

Dalam analisis statistik menurut Aikat dan Das¹² ini hubungan antara kepadatan mikrofilaria (Y) dengan waktu pengambilan darah (h=hour) dilukiskan dalam bentuk persamaan sebagai berikut.

$$Y = m + b \cos 15 h + c \sin 15 h$$

$$m = \frac{y}{n} \quad b = \frac{2 \sum y \cos 15h}{n} \quad c = \frac{2 \sum y \sin 15h}{n}$$

Selanjutnya harga a dan indeks periodisitas (D) dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut.

$$a = \sqrt{b^2 + c^2} \quad D = \frac{a}{m}$$

Waktu puncak kepadatan mikrofilaria (K) pada masing-masing kasus dihitung dengan rumus sebagai berikut.

$$\tan 15 k^\circ = \frac{c}{b}$$

Untuk mengetahui apakah harga a (apabila a² tidak sama dengan nol) yang diperoleh bermakna atau tidak (artinya kasus bersifat sirkadian atukah tidak) dilakukan tes dengan rumus sebagai berikut.

$$F = \frac{\frac{n}{2} a^2}{\frac{1}{(n-3)} \left[\sum y^2 - \frac{(\sum y)^2}{n} - \frac{n}{2} a^2 \right]}$$

Gelombang yang menggambarkan hubungan antara kepadatan mikrofilaria dengan waktu pengambilan darah dapat dikatakan sirkadian atau harmonik apabila harga F lebih besar dari pada 5 persen harga F teoretis dengan 2 dan (n-3) derajat kebebasan. Dalam hal ini harga n = 12, dimaksudkan adalah 12 kali pemeriksaan darah tepi.

HASIL META-ANALISIS STATISTIK DAN PEMBAHASAN

Formula Aikat dan Das merupakan cara matematik kuantitatif sederhana yang dapat memberi gambaran tentang variasi kepadatan mikrofilaria dalam darah tepi penderita atau hospesnya pada waktu-waktu pengambilan/pemeriksaan darah yang berbeda. Dengan formula Aikat dan Das¹², ritme variasi kepadatan mikrofilaria dalam darah tepi dari waktu ke waktu dapat ditunjukkan (yang lebih umum) bersifat sirkadian, dan dapat disimulasikan dalam bentuk gelombang yang harmonik sirkadian, seperti halnya siklus siang dan malam hari. Gambaran yang diperoleh akan menjadi tidak demikian apabila mikrofilaria memang menunjukkan sifat yang nonperiodik, seperti dijumpai pada *B.malayi* di Kalimantan Timur^{2,3}. Pada bentuk nonperiodik tidak hanya dijumpai gelombang yang tidak harmonik tidak sirkadian, tetapi puncak kepadatan mikrofilaria juga berubah-ubah, tidak menentu, bahkan dapat siang ataupun malam hari. Pada bentuk subperiodik, apalagi bentuk periodik, puncak kepadatan mikrofilaria tetap pada malam hari misalnya.

Pemeriksaan periodisitas mikrofilaria *B.malayi*, yang hasilnya dilakukan meta-analisis statistik (*adapted* dari Turner dan Edeson, 1957)⁶ dalam makalah ini, pertama-tama dilakukan pada 10 kasus (yang lengkap datanya) *carrier* dari Malaysia Barat, yaitu dari daerah Pahang Timur, Semenanjung. Meta-analisis statistik (*adapted* dari Partono *et al.*, 1977)¹¹ juga dilakukan pada hasil pemeriksaan periodisitas mikrofilaria *B.malayi* pada 10 kasus *carrier* dari

Indonesia, yaitu dari desa Kakap, Kalimantan Barat. TABEL 1 dan TABEL 2 menunjukkan hasil keseluruhan pemeriksaan periodisitas mikrofilaria di Malaysia dan di Indonesia itu. Dilihat dari angka-angka kepadatan mikrofilaria pada masing-masing 10 kasus (TABEL 1 dan TABEL 2) endemisitas di Pahang Timur Malaysia Barat dibandingkan dengan di Kakap Kalimantan Barat tidak terlalu jauh perbedaannya.

Hanya, yang jelas berbeda, seperti terlihat pada TABEL 1 dan TABEL 2, kasus-kasus di Kalimantan Barat kepadatan/jumlah mikrofilaria memang lebih bervariasi, sedangkan di Pahang Timur kisaran variasinya lebih terbatas. Di satu sisi di Kalimantan Barat misalnya, kasus dengan kepadatan mikrofilaria terendah dapat dijumpai pada kasus KB1 (Y=27 mikrofilaria) dan tertinggi pada kasus KB10 (Y=1522 mikrofilaria). Di sisi lain, di Pahang Timur, Malaysia Barat kasus dengan kepadatan mikrofilaria terendah ditemukan pada kasus PH1 (Y=116 mikrofilaria, lebih tinggi dari KB1) dan kepadatan mikrofilaria tertinggi pada kasus PH9 (Y=1086 mikrofilaria, lebih rendah dari KB10). Variasi kepadatan mikrofilaria tersebut mudah difahami, tidak terlepas dari endemisitas *B.malayi* di masing-masing daerah.

Sebelum dilakukan analisis statistik, dilihat secara langsung, hasil pemeriksaan di Malaysia maupun Indonesia menunjukkan lebih banyak ditemukan mikrofilaria pada malam hari dibanding pada siang hari dalam darah tepi penderita. Keadaan tersebut sebenarnya cukup memberi gambaran ke arah

sifat subperiodik (nokturnal), walaupun belum konkrit. Yang mudah menarik perhatian dari Kalimantan Barat, yaitu ada beberapa kasus (KB1, KB2, KB3, KB4), yang pada siang hari terutama sekitar pukul 10.00, pukul 12.00, pukul 14.00, dan pukul 16.00 mikrofilaria menurun sampai ke titik nol. Keadaan itu mengarah atau menunjuk pada sifat periodik nokturnal, walaupun keseluruhan masih dalam batas sifat subperiodik. Pada dasarnya mikrofilaria periodik nokturnal hanya ditemukan pada malam hari dalam darah tepi, tidak pada siang hari. Dengan demikian relatif telah kuat gelombang sirkadiannya, relatif telah kuat keterkaitannya dengan siklus siang dan malam. Keadaan seperti itu tidak dijumpai pada kasus-kasus di Pahang Timur, Malaysia Barat. Sebaliknya kasus-kasus di Pahang Timur mikrofilaria selalu berada dalam darah tepi sepanjang hari, bahkan pada tengah hari sekalipun, tidak ada hasil pemeriksaan yang kosong sama sekali, tidak seperti dijumpai di Kalimantan Barat. Meskipun masih dalam batas subperiodik nokturnal, keadaan tersebut mengingatkan pada sifat nonperiodik, seperti dijumpai pada *B.malayi* di Kalimantan Timur^{2,3}

Keadaan yang didapatkan di kedua daerah yang terpisah jauh itu memberi kesan bahwa sifat subperiodik (nokturnal) yang ditemukan di Kalimantan Barat telah mulai bergerak (dalam konteks evolusi) mengarah ke periodik (nokturnal), atau mengarah ke gelombang sirkadian yang lebih kuat, varian yang telah lebih dekat sebagai parasit pada manusia. Di

TABEL 1. Hasil pemeriksaan periodisitas mikrofilaria *B.malayi* pada 10 kasus filariasis di Pahang Timur, Semenanjung, Malaysia Barat, adapted dari Turner dan Edeson (1957)

Waktu Ambil Darah	Kepadatan mikrofilaria									
	kasus PH1	kasus PH2	kasus PH3	kasus PH4	Kasus PH5	kasus PH6	kasus PH7	kasus PH8	kasus PH9	kasus PH10
08.00	11	22	12	25	42	34	43	37	78	67
10.00	4	17	19	25	28	29	53	28	97	40
12.00	6	14	8	16	14	43	47	19	137	32
14.00	4	6	16	20	18	43	68	24	105	46
16.00	3	16	16	25	20	36	46	21	96	55
18.00	5	11	21	10	29	78	33	65	102	57
20.00	9	21	21	32	64	72	75	60	128	78
22.00	25	14	11	21	63	66	70	86	99	99
24.00	14	32	8	24	60	57	39	64	52	91
02.00	13	24	2	31	56	67	82	82	58	99
04.00	11	11	10	13	54	47	51	50	80	109
06.00	11	23	7	23	47	36	49	58	54	102
Total	116	211	151	265	495	608	656	594	1086	875

TABEL 2. Hasil pemeriksaan periodisitas mikrofilaria *B. malayi* pada 10 kasus filariasis di Kakap, Kalimantan Barat, *adapted* dari Partono *et al* (1977)

Waktu Ambil Darah	Kepadatan mikrofilaria									
	kasus KB1	kasus KB2	kasus KB3	kasus KB4	kasus KB5	kasus KB6	kasus KB7	kasus KB8	kasus KB9	kasus KB10
08.00	3	2	4	15	24	9	88	13	69	164
10.00	0	0	0	0	4	10	34	17	20	50
12.00	0	0	0	0	4	15	8	18	13	14
14.00	0	0	0	1	4	29	7	24	25	24
16.00	0	1	8	7	6	11	15	74	100	73
18.00	4	6	30	22	32	37	45	15	37	120
20.00	2	8	15	54	21	65	89	217	132	112
22.00	2	11	31	37	19	46	98	128	110	223
24.00	7	15	36	17	51	49	94	151	212	218
02.00	3	14	40	40	35	31	68	165	140	164
04.00	3	20	20	32	5	38	35	27	111	175
06.00	3	23	18	41	12	17	94	45	186	185
Total	27	100	202	266	217	357	675	894	1155	1522

sisi lain, untuk sifat subperiodik (nokturnal) yang dijumpai di Pahang Timur sebaliknya jelas masih terlihat nuansa nonperiodik atau nonsirkadian (masih ada kemiripan), yang secara filetik lebih primitif, dan masih lebih dekat sebagai parasit hewan. Dengan demikian terkesan sifat subperiodik nokturnal yang masih belum terlalu mantap, sifat nonperiodik masih kadang-kadang tampak. Analisis statistik dengan metoda Aikat dan Das¹² berikut diharapkan dapat memperjelas mengenai hal itu semua.

Untuk analisis statistik formula Aikat dan Das¹², berikut (lihat TABEL 3) diperlihatkan perhitungan statistik pada salah satu kasus sebagai contoh aplikasi, yaitu kasus PH1 dari Pahang Timur yang memiliki harga Y (jumlah mikrofilaria keseluruhan) sebesar 116 mikrofilaria. Dengan cara perhitungan yang sama analisis statistik kemudian dilanjutkan pada semua kasus yang lain, baik yang berasal dari Pahang Timur (TABEL 4), Malaysia maupun dari Kakap, Kalimantan Barat (TABEL 5).

TABEL 3. Contoh perhitungan statistik periodisitas mikrofilaria pada kasus-1 penderita filariasis malayi di Pahang Timur, Malaysia Barat

Waktu Pengambilan Sampel Darah	cos 15 h	sin 15 h	Jumlah mikrofila ria (Y)	Y ²	Y cos 15h	Y sin 15h
i	2	3	4	5	6	7
08.00	-0,5	0,866	11	121	-5,5	9,526
10.00	-0,866	0,5	4	16	-3,464	2
12.00	-1,0	0	6	36	-6	0
14.00	-0,866	-0,5	4	16	-3,464	-2
16.00	-0,5	-0,866	3	9	-1,5	-2,598
18.00	0	-1,0	5	25	0	-5
20.00	0,5	-0,866	9	81	4,5	-7,794
22.00	0,866	-0,5	25	625	21,65	-12,5
24.00	1,0	0	14	196	14	0
02.00	0,866	0,5	13	169	11,258	6,5
04.00	0,5	0,866	11	121	5,5	9,526
06.00	0	1,0	11	121	0	11
Total			116	1536	36,98	8,66

Pertama-tama yang harus dilihat dalam perhitungan statistik kasus PH1 yaitu harga (m) = $Y/n = 116/12 = 9,667$. Tahap berikutnya perlu dihitung harga (b) = $(2 SY \text{ Cos } 15 h)/n = 2(+36,98)/12 = +6,163$. Selanjutnya harga (c) dapat dihitung sebagai berikut = $(2 SY \text{ Sin } 15 h)/n = 2(+8,66)/12 = +1,443$. Dengan demikian harga (a²) dapat diperoleh = $b^2 + c^2$. Dan a² dapat dihitung sebagai berikut = $37,98 + 2,082 = 40,062$. Dengan demikian dapat diperoleh harga (a) = 6,329. Dari rumus tertera di atas dapat dihitung, $\tan 15^\circ k = c/b = 0,234$. Dari angka yang diperoleh, untuk puncak kepadatan mikrofilaria, harga (K) pada kasus PH1 ini didapatkan (dari inversi tangen) pada tengah malam, pukul 00.52'48".

Untuk mengetahui apakah harga a (apabila harga a² tidak sama dengan nol) yang diperoleh bermakna atautkah tidak (artinya kasus bersifat harmonik/sirkadian atautkah tidak) dilakukan tes menggunakan rumus yang telah disebutkan di muka. Dengan demikian harga (F) pada kasus PH1 didapatkan = $240,372/19,366 = +12,412$. Oleh karena harga (F) lebih besar daripada harga F 5% teoretis dengan derajat kebebasan 2 dan (n-3), yaitu 4,26. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa mikrofilaria *B.malayi* pada kasus PH1 Pahang Timur termaksud menunjukkan gelombang yang harmonik atau sirkadian. Selanjutnya dapat dihitung Indeks Periodisitas (D) pada kasus PH1, ternyata relatif tidak tinggi = $a/m \times 100\% = 6,329/9,667\% = 65,0\%$. Dengan demikian kasus PH-1 ini individual menunjukkan sifat subperiodik nokturnal, dengan puncak kepadatan mikrofilaria kira-kira pada tengah malam, pukul 00.52'48".

Baik dari analisis data (TABEL 1 dan TABEL 2) langsung maupun dengan analisis statistik formula Aikat dan Das¹² (TABEL 4 dan TABEL 5) sifat subperiodik (nokturnal) mikrofilaria dapat ditunjukkan dengan jelas, baik di Pahang Timur, Malaysia Barat maupun di Kakap, Kalimantan Barat. Meskipun demikian, kasus-kasus di kedua daerah itu ternyata mempunyai sifat ataupun kecenderungan yang jelas berbeda, dalam hal ini sebagai varian atau subspecies yang berbeda. Sifat-sifat nokturnal, dalam hal ini subperiodik nokturnal *B.malayi* misalnya, seperti disinggung di muka, lebih nyata atau stabil dijumpai pada kasus-kasus di Kalimantan Barat. Bahkan mikrofilaria *B.malayi* di daerah tersebut telah mulai memperlihatkan kecenderungannya yang nyata ke arah periodik nokturnal, atau dengan gelombang sirkadian yang lebih kuat, lebih banyak keterkaitan dengan siklus siang dan malam.

Berikut dengan analisis statistik Aikat dan Das¹² ditunjukkan kesepuluh kasus di Kalimantan Barat yang tegas-tegas menunjukkan sifat *B.malayi* yang (subperiodik, bahkan telah ke arah periodik) nokturnal itu. Seperti terlihat pada harga F yang semuanya lebih besar daripada harga F 5% teoretis dengan derajat kebebasan 2 dan (n-3), yaitu 4,26. Harga F pada masing-masing kasus sebagai berikut: KB1 (F=11,25), KB2 (F=25,74), KB3 (F=46,97), KB4 (F=14,77), KB5 (F=8,17), KB6 (F=12,97), KB7 (F=10,35), KB8 (F=15,33), KB 9 (F=16,9) dan KB10 (F=37,88). Dengan demikian semua kasus menunjukkan gelombang yang harmonik sirkadian, tidak satupun nonharmonik. Sifat gelombang yang harmonik sirkadian tersebut

TABEL 4. Hasil analisis statistik periodisitas mikrofilaria *B.malayi* pada 10 kasus filariasis di Pahang Timur, Malaysia Barat

Statistik	Kasus mikrofilaremia no:									
	PH1	PH2	PH3	PH4	PH5	PH6	PH7	PH8	PH9	PH10
Y	116	211	151	265	495	608	656	594	1086	875
Y ²	1536	4269	2301	6331	24235	33858	38468	40764	106476	71755
Ycos15h	36,98	27,99	-17,55	11,56	137,22	91,33	37,35	171,46	-106,97	188,49
Ysin15h	8,66	19,04	-29,99	4,046	29,89	-71,88	-8,88	-1,80	-129,66	79,24
M	9,67	17,58	12,58	22,08	41,25	50,67	54,67	49,5	90,5	72,92
B	6,16	4,665	-2,93	1,927	22,869	15,22	6,224	28,58	17,828	31,42
C	1,44	3,173	-4,998	0,674	4,982	-11,98	-1,48	-0,301	-21,61	13,21
A	6,33	5,64	5,79	2,04	23,4	19,37	6,40	28,58	28,01	34,10
K (hour)	00°52 '48"	02°16'4 8"	15°58'4 8"	01°17'2 4"	00°49'1 2"	21°27'0 0"	23°66'0 0"	23°57'3 6"	15°22'1 2"	01°31'1 2"
F	12,4	4,67	9,06	0,496	55,80	25,28	0,936	6,83	12,16	64,20
D	65	32,09	46,03	92,42	56,74	38,23	11,70	57,75	30,96	46,76

TABEL 5. Hasil analisis statistik periodisitas mikrofilaria *B. malayi* pada 10 kasus filariasis di daerah Kakap, Kalimantan Barat

Statistik	Kasus mikrofilaremia no:									
	KB1	KB2	KB3	KB4	KB5	KB6	KB7	KB8	KB9	KB10
Y	27	100	202	266	217	357	675	894	1155	1522
Y ²	109	1576	5786	9638	6481	14173	52309	123312	158309	251440
Ycos15h	12,33	49,15	108,99	114,82	84,84	108,4	204,75	429,73	413,53	500,06
Ysin15h	2,96	29,76	-6,63	27,68	-10,27	-28,81	63,95	-172,37	116,47	181,86
M	2,25	8,33	16,83	22,17	18,08	29,75	56,25	74,5	96,25	126,83
B	2,06	8,19	18,16	19,14	14,14	18,07	34,13	71,62	68,92	83,34
C	0,49	4,96	-1,11	4,61	-1,71	-4,8	10,66	-28,72	19,41	30,31
A	2,11	9,58	18,2	19,68	14,24	18,7	35,75	77,17	71,6	88,68
K (hour)	1.01'1	2.18'0	23.44'3	01.00'0	23.20'2	01.00'0	01.16'4	22.22'4	02.39'0	01.28'4
	2"	4"	6"	0"	0"	0"	8"	8"	0"	8"
F	11,25	25,74	46,97	14,77	8,17	12,97	10,35	15,33	16,9	37,88
D	93,96	114,97	108,13	88,79	78,77	62,8	63,56	103,0	74,39	69,92

masih didukung oleh puncak kepadatan mikrofilaria, yang selalu dijumpai pada malam hari (bahkan cenderung di sekitar tengah malam, seperti pada bentuk periodik). Seperti terlihat pada harga K, masing-masing kasus: KB1 (pukul 01.01'12"), KB2 (pukul 02.18'04"), KB3 (pukul 23.44'36"), KB4 (pukul 01.00'00"), KB5 (pukul 23.20'20"), KB6 (pukul 01.00'00") KB7 (pukul 01.16'48"), KB8 (pukul 22.22'48"), KB9 (pukul 02.39'00") dan KB10 (pukul 01.28'48"). Sifat sirkadian juga didukung oleh indeks periodisitas yang diperoleh, seperti terlihat dari harga D, yang relatif tidak tinggi (tetapi masih lebih tinggi dibanding di Pahang Timur). Harga D pada masing-masing kasus di Kalimantan Barat sebagai berikut: KB1 (D=93,96%), KB2 (D=114,97%), KB3 (D=108,13%), KB4 (D=88,79%), KB5 (D=78,77%), KB6 (D=62,8%), KB7 (D=63,56%), KB8 (D=103,0%), KB9 (D=74,39%) dan KB10 (D=69,92%).

Berbeda halnya dengan kasus-kasus infeksi *B. malayi* di Pahang Timur, Malaysia Barat, yang tidak/belum seluruhnya menunjukkan sifat tegas subperiodik nokturnal, walaupun mayoritas demikian, melainkan dengan variannya sendiri. Gelombang harmonik sirkadian misalnya, dijumpai pada 8 kasus berikut: PH1 (F=12,4), PH2 (F=4,67), PH3 (F=9,06), PH5 (F=55,8), PH6 (F=25,28), PH8 (F=6,83), PH9 (F=12,16), PH10 (F=64,2). Dengan demikian hanya 8 kasus didapatkan dengan harga F lebih besar dari pada harga F 5% teoretis dengan derajat kebebasan 2 dan (n-3), yaitu 4,26. Di antara 8 kasus di Pahang Timur itu hanya 6 kasus *B. malayi* yang mempunyai puncak kepadatan mikrofilaria

(harga K) pada malam hari, sehingga per definitif benar-benar bersifat subperiodik nokturnal, antara lain PH1 (F=12,4, K= pukul 00.52'48"), PH2 (F=4,67, K= pukul 02.16'48"), PH5 (F=55,8, K= pukul 00.49'12"), PH6 (F=25,28, K= pukul 21.27'00"), PH8 (F=6,83, K= pukul 23.57'36") dan PH10 (F=64,20, K= pukul 01.31'12"). Yang lain, seperti kasus PH3, meskipun harga F=9,06 (di atas 4,26), puncak kepadatan mikrofilaria (K) dijumpai pada siang hari pukul 15.58'48", dengan demikian kasus ini menunjukkan sebagai varian *B. malayi* yang bersifat subperiodik diurnal. Demikian pula kasus PH9, meskipun harga F=12,16 (di atas 4,26), puncak kepadatan mikrofilaria juga dijumpai pada siang hari pukul 15.22'12" (subperiodik diurnal). Untuk kasus PH4 (F=0,496) dan PH7 (F=0,936) atau dengan harga F lebih kecil dari pada harga F 5% teoretis dengan derajat kebebasan 2 dan (n-3), yaitu 4,26 memang dapat dikategorikan sebagai varian *B. malayi* dengan gelombang yang nonharmonik, atau tidak sirkadian. Tetapi, sifat nonperiodik yang ditunjukkan itu tentunya tidak sestabil sifat nonperiodik pada *B. malayi* di Kalimantan Timur, misalnya. Demikian pula mengenai kasus subperiodik diurnal tersebut di muka. dalam hal ini hanya dijumpai pada 1 kasus. Pada pemeriksaan ulang pada waktu yang berbeda, baik sifat subperiodik diurnal ataupun nonperiodik pada *B. malayi* di Pahang Timur diperkirakan akan kembali lagi menunjukkan sifat yang "normal", yaitu subperiodik nokturnal.

Sifat subperiodik nokturnal (juga subperiodik diurnal) *B. malayi* pada kasus-kasus di Pahang

Timur juga disokong oleh indeks periodisitas (harga D) yang relatif rendah. Seperti terlihat pada kasus-kasus PH1 (D= 65%), PH2 (D= 32,09%), PH3 (D= 46,03), PH5 (D= 56,74), PH6 (D= 38,23), PH8 (D= 57,75), PH9 (D= 30,96), PH10 (D= 46,76). Harga D pada kasus di Pahang Timur yang secara keseluruhan tampak lebih rendah dibanding harga D di Kalimantan Barat menunjukkan belum stabilnya sifat nokturnal (periodisitas) pada mikrofilaria. Seperti terlihat, kadang-kadang masih ke arah siang hari.

Perubahan perilaku mikrofilaria dalam darah tepi, seperti dari nonperiodik menjadi subperiodik (nokturnal ataupun diurnal) atau sebaliknya, dapat saja terjadi. Perubahan sifat periodisitas itu dapat reversibel atau lama kelamaan juga menjadi menetap. Demikian pula perubahan perilaku mikrofilaria dapat terjadi dari subperiodik menjadi periodik nokturnal. Perilaku parasit itu dikenal sebagai sifat parasit yang paling labil, sesudah fisiologi dan morfologi. Perubahan perilaku mikrofilaria tersebut tentu saja bukan bersyarat seperti pada hewan yang lebih tinggi melainkan berlatarbelakang perubahan genetik. Variasi ataupun frekuensi genetik cacing filaria dapat berubah-ubah, bergeser (*genetic drift*) dengan pengaruh dari berbagai faktor lingkungan. Pengaruh faktor lingkungan pada variasi ataupun frekuensi genetik tersebut dikenal sebagai Geoffroyism atau Lamarckism (Mayr, 1973)¹⁴. Pengaruh faktor lingkungan setempat yang berbeda, seperti halnya dijumpai di Pahang Timur dan Kalimantan Barat, ditambah dengan faktor isolasi geografis dapat menjadikan varian yang berbeda *B. malayi* meskipun masih sama-sama subperiodik nokturnal, dan ditularkan oleh nyamuk vektor yang sama, yaitu *Ma. uniformis*. Isolasi spasial geografis sehingga tidak terjadi aliran genetik, seperti Semenanjung dan Kalimantan, pada akhirnya dapat menyebabkan perbedaan variasi sifat periodisitas mikrofilaria itu.

SIMPULAN

B. malayi dari Pahang Timur, Malaysia Barat dan *B. malayi* dari Kakap, Kalimantan Barat masih sama-sama bersifat subperiodik nokturnal tetapi dari meta-analisis, cacing filaria dari kedua daerah yang

berbeda jauh tersebut telah menunjukkan sebagai varian atau subspecies yang benar-benar tidak sama.

KEPUSTAKAAN

1. Sasa M. Human filariasis. A global survey of epidemiology and control. Tokyo: University of Tokyo press, 1976.
2. Sudjadi FA. Nonperiodic form of *Brugia malayi* in man in East Kalimantan, Indonesia. Southeast Asia J Trop Med Pub Hlth, 1986;17(1):148-50.
3. Sudjadi FA. Filariasis di beberapa daerah endemik di Kalimantan Timur. Kajian infraspesifik *Brugia malayi* penyebab penyakit dan beberapa segi epidemiologinya. Disertasi. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 1996.
4. Sudjadi FA. *Mansonia bonnea* (Diptera: Culicidae) sebagai vektor utama filariasis yang disebabkan oleh *Brugia malayi* nonperiodik di daerah penduduk asli Dayak di Kalimantan Timur. B.I.Ked 1999;31(4):2003-211.
5. Anderson RC and Bain O. CIH keys to the nematode parasites of vertebrata No 3 Keys to genera of the order spirurida. Part 3. Diplotrienoidea, Aproctoidea and Filarioidea. Commonwealth Agricultural Bureaux, England; pp 59-116.
6. Turner LH, Edeson JFB. Studies on filariasis in Malaya: the periodicity of the microfilariae of *Wuchereria malayi*. Ann Trop Med Parasitol 1957;51(3):271-77
7. Wilson T, Edeson JFB, Wharton RII, Reid JA, Turner LH and Laing ABG. The occurrence of two forms of *Wuchereria malayi* in man. Trans Roy Soc Trop Med and Hyg, 1958;52:480-81
8. Edeson JFB and Wharton RII. The transmission of *Wuchereria malayi* from man to domestic cat. Trans Roy Soc Trop Med and Hyg, 1957;51:366.
9. Laing ABG, Edeson JFB and Wharton RH. Studies on filariasis in Malaysia: The vertebrate hosts of *Brugia malayi* and *Brugia pahangi*. Ann Trop Med Parasitol, 1960;54:92-99.
10. Sudjadi FA. Varian Korea dan Indonesia *Brugia malayi* periodik nokturnal (Nematoda: Filarioidea) penyebab filariasis. B.I. Ked, 2005; 37(3): 103-11.
11. Partono F, Djakaria, Sri Ocmijati, Joesoef A, Clarke MD, Cole WC, Lien JC and Cross JH. Filariasis in West Kalimantan (Borneo), Indonesia. Southeast Asia J Trop Med Pub Hlth, 1977; 8(4):459-63.
12. Aikat TK and Das M. A modified statistical method for analysis of periodicity of microfilariae. WHO/Fil/76;142:1.
13. Sasa M and Tanaka II. A statistical method for comparison and classification of the microfilarial periodicity. Jap J Exp Med, 1974;44:321.
14. Mayr E. Animal species and evolution. The Belknap Press of Harvard University Press, 1973; Massachusetts.