

UJI KELAYAKAN SEDIAAN TEBAL TANPA HEMOLISIS UNTUK DIAGNOSIS *Plasmodium falciparum* di LABORATORIUM AKADEMI ANALIS KESEHATAN 17 AGUSTUS 1945 SEMARANG

Dyah Kusumawati*), Ika Theresia Fiscarina
Akademi Analis Kesehatan 17 Agustus 1945 Semarang
jalan Jenderal Sudirman 350 Semarang - 50149
*email : dkusumawati4@gmail.com

Abstract

Background: The case of malaria in the eastern part of Indonesia requires considerable consideration in the process of making thick blood stocks. The current procedure, use hemolysis techniques. The process of removal in the malaria survey takes longer time before the preparation can be examined. The thickness of different thick blood sections causes the time for the release varies. A new microscopic observation can show whether a thick dosage without hemolysis is feasible to be used as a support for malaria diagnosis which is a gold standard. Eligibility includes the core of old violet blood cells, usually not visible granules, only eosinophil granules. Platelets are mauve and often in groups. Parasites appear small, cytoplasmic boundaries are often unreal. Ring shape often appears as "coma," "exclamation point", or "flying bird" especially in *Plasmodium falciparum*.

Method : This research is experimental because experimentation of thick blood supply of malaria that is dihemolysis and without hemolysis then done comparison on result of microscopic picture of blood thickness malaria.

Primary data were obtained from the dyeing quality of thick blood samples with hemolysis techniques and without hemolysis were assessed by score. To determine whether the thick blood preparations included preparations of good or suitable staining qualities were used for the diagnosis of malaria, a normality test was performed using Kolmogorov smirnov. Furthermore, if the data is normally distributed using the T test, if the data is not normally distributed using alternative test Wilcoxon.

Result : result of examination on the test of the feasibility of blood thickness of malaria with hemolysis technique and without hemolysis obtained thick blood stock with hemolysis technique as much as 20 stocks, 20% bad category, 80% good category. While without hemolysis 5% category less good, 95% good category. The result of difference test of sig value is $0.565 > \alpha 0.05$ hence there is no difference of result of microscopic image assessment of thickness of malaria between hemolysis and without hemolysis.

Conclusion : There was no significant difference between the observed thick dosage forms of hemolysis techniques with no hemolysis (from observation: *Plasmodium* Cytoplasm, *Plasmodium* Core and Background of the Stock) so that thick preparations without hemolysis are feasible for the diagnosis of malaria.

Keywords : feasibility test, thick blood preparation, without hemolysis.

PENDAHULUAN

Programme (GMP) menyatakan bahwa malaria merupakan penyakit yang harus

terus - menerus dilakukan pengamatan, monitoring dan evaluasi, serta diperlukan formulasi kebijakan dan strategi yang tepat. (Arsin, 2012). Di Indonesia malaria

ditemukan tersebar luas pada semua pulau dengan derajat dan berat infeksi yang bervariasi. Menurut data yang berkembang hampir separuh dari populasi Indonesia, bertempat tinggal di daerah endemik malaria dan diperkirakan ada 30 juta kasus malaria setiap tahunnya. Kejadian tersebut disebabkan adanya permasalahan-permasalahan teknis antara lain karena pembangunan yang tidak berwawasan kesehatan lingkungan, mobilitas penduduk dari daerah endemik malaria, adanya resistensi nyamuk vektor terhadap insektisida yang digunakan dan juga resistensi obat malaria makin meluas. (Arsin, 2012).

Malaria merupakan penyakit yang disebabkan oleh infeksi protozoa dari *genus Plasmodium* yang dapat dikenali dari gejala meriang (panas, dingin dan menggigil) serta demam berkepanjangan (Achmadi, 2008). Di Indonesia, secara umum spesies yang paling sering ditemukan adalah *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae* jarang ditemukan di Indonesia bagian timur, sedangkan *Plasmodium ovale* lebih jarang lagi. Penemuannya pernah dilaporkan dari Flores, Timor dan Irian Jaya (Arsin, 2012) Malaria dapat diderita seseorang yang pernah berada di daerah endemik, seseorang yang pernah melakukan transfusi darah, penggunaan jarum suntik yang terkontaminasi, kemungkinan infeksi kongenital dan penularan melalui nyamuk *Anophele sps* yang terinfeksi parasit tersebut. Pasien dengan diagnosis *Plasmodium falciparum* harus mendapatkan perawatan darurat medik sebelum berakibat fatal. Pada tubuh manusia, parasit membelah diri dan bertambah banyak di dalam hati dan kemudian menginfeksi sel darah merah (Depkes RI, 2008). Analisis bertanggung jawab untuk mendiagnosis dengan mengidentifikasi parasit penyebab malaria dan harus siap selama 24 jam sehari (Garcia dkk, 1985, Bruckner dkk,1985). Diagnosis spesies yang tepat sangat

penting dalam penanganan pasien selanjutnya, hal ini berhubungan dengan penentuan pemberian obat. *Parasitemia* yang rendah dengan bentuk cincin yang tidak jelas menyebabkan parasit tidak terdeteksi walaupun dengan alat diferensial otomatis, untuk itu dianjurkan memeriksa dengan perbesaran objektif 100 kali (Garcia dkk, 1985, Bruckner dkk,1985). Sediaan yang diperlukan berupa hapusan darah tebal dan hapusan darah tipis. Harus dibuat sediaan tebal dan tipis yang sedikitnya diperiksa sebanyak 200 - 300 lapangan pandang dengan minyak imersi sebelum menentukan hasil negatif. Sediaan darah tebal mempunyai keuntungan lebih cepat menemukan parasit yang pertama, tetapi sebagian morfologi tidak utuh karena lisis. (DepKes RI,1986). Keterbatasan waktu pada proses pelisisan dalam survey malaria yaitu proses hemolisis membutuhkan waktu lebih lama karena dilakukan pelisisan eritrosit terlebih dahulu, tahap berikutnya dilakukan pengecatan. Ketebalan sediaan darah tebal yang berbeda-beda menyebabkan waktu pelilisan juga berbeda-beda. Untuk itu perlu diujicoba dengan menggunakan sediaan tebal tetapi tanpa dilakukan pelisisan. Hasil pengamatan secara mikroskopis baru bisa menunjukkan apakah sediaan tebal tanpa hemolisis layak untuk digunakan sebagai penunjang diagnosis malaria yang merupakan gold standart. Kelayakan meliputi Inti sel darah putih lembayung tua, granula biasanya tidak tampak, hanya granula eosinofil. Trombosit berwarna lembayung muda dan sering berkelompok. Parasit tampak kecil, batas sitoplasma sering tidak nyata.(Irianto, 2009). Beberapa kriteria pembuatan dan pewarnaan sediaan darah yang baik adalah :

- Inti sel darah putih berwarna ungu tua (tanda utama)
- Sel darah pembeku, berwarna ungu muda atau merah muda
- Sisa – sisa sel darah merah muda berwarna biru atau biru muda

- Sitoplasma limfosit, kelihatan biru pucat
- Sitoplasma monosit, biru
- Granula eosinofil, orange.
- Latar belakang sediaan bersih dan kelihatan berwarna pucat (biru pucat) (Depkes.RI, 1986).

Bentuk cincin sering tampak sebagai “koma”, “tanda seru”, atau “burung terbang” terutama pada *Plasmodium falciparum*. (Irianto, 2009). Tujuan penelitian ini adalah : untuk menentukan kelayakan sediaan darah tebal tanpa Hemolisis dapat digunakan sebagai penunjang diagnosis malaria dari hasil uji statistika, berdasarkan penilaian atas sitoplasma plasmodium, inti plasmodium dan latar belakang sediaan. Jika keadaan tersebut tidak ada perbedaan secara signifikan jika dibandingkan dengan sediaan dengan teknik hemolisis, maka sediaan darah tebal tanpa hemolisis layak digunakan.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini bersifat eksperimen, dengan melakukan percobaan terhadap sediaan darah tebal malaria yang dihemolisis dan tanpa hemolisis lalu dilakukan perbandingan pada hasil gambaran mikroskopis sediaan darah tebal malaria, berdasarkan penilaian atas sitoplasma plasmodium, inti plasmodium dan latar belakang sediaan. Data primer yang didapat dari kualitas pewarnaan sediaan darah tebal dengan teknik hemolisis dan tanpa hemolisis dinilai dengan skor dan dilakukan pernyataan “baik” jika rentang skor 6-8 dan “kurang baik” jika rentang skor 4-5.

Untuk mengetahui apakah sediaan darah tebal termasuk preparat dengan kualitas pewarnaan yang baik atau layak digunakan untuk penentu diagnosis malaria, maka dilakukan uji kenormalan data menggunakan *Kolmogorov smirnov*. Selanjutnya bila data berdistribusi normal menggunakan uji T test, bila data

berdistribusi tidak normal menggunakan uji alternatif *Wilcoxon*.

Interpretasi hasil

X : skor gambaran mikroskopis sediaan tebal dengan hemolisis

Y : skor gambaran mikroskopis sediaan tebal tanpa hemolisis

No	Kategori penilaian	Objek yang Diamati	Hasil	Skor
1	Plasmodium	Sitoplasma Plasmodium	Biru,morfologi utuh	2
			Pucat/ tidak sesuai	1
		Inti Plasmodium	Merah keunguan	2
			Pucat / tidak sesuai	1
2	Sel darah	Eritrosit	Lisis	2
			Masih terdapat eritrosit/ eritrosit bertumpuk-tumpuk	1
3	Latar belakang sediaan	Latar belakang sediaan	Bebas sisa Giemsa	2
			Terlihat sisa Giemsa	1

- a. Rentang skor : 4 – 8
- b. Kategori skor :
6 – 8 dikategorikan “Baik”
4 – 5 dikategorikan “Kurang Baik”

Bahan : darah EDTA

Alat dan Reagen : Objek glass, mikroskop binokuler, bak pengecatan, jembatan pengecatan, pipet tetes, cat Giemsa 1 : 20, aquades, minyak imersi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pemeriksaan terhadap uji kelayakan sediaan darah tebal malaria dengan teknik hemolisis dan tanpa hemolisis didapatkan hasil :

Kode Sampel	Objek yang Diamati				Total
	S.P	I.P	Eri	L.B	
X ₁	1	2	2	1	6
X ₂	2	1	2	1	6
X ₃	2	2	2	1	7
X ₄	1	2	2	2	7
X ₅	1	1	2	1	5
X ₆	1	2	2	1	6
X ₇	1	2	2	1	6

X ₈	1	2	2	1	6
X ₉	2	1	2	1	6
X ₁₀	1	2	1	1	5
X ₁₁	2	2	1	1	6
X ₁₂	2	1	2	2	7
X ₁₃	1	2	2	1	6
X ₁₄	1	2	1	2	6
X ₁₅	1	1	1	1	4
X ₁₆	1	2	1	1	5
X ₁₇	2	2	2	1	7
X ₁₈	2	2	2	1	7
X ₁₉	2	2	2	1	7
X ₂₀	1	2	2	1	6
Y ₁	2	2	1	2	7
Y ₂	2	2	1	1	6
Y ₃	2	2	1	1	6
Y ₄	2	2	1	1	6
Y ₅	2	1	2	2	7
Y ₆	2	2	2	1	7
Y ₇	2	1	1	2	6
Y ₈	1	2	2	1	6
Y ₉	1	2	2	2	7
Y ₁₀	1	2	1	2	6
Y ₁₁	2	2	2	1	7
Y ₁₂	2	2	2	1	7
Y ₁₃	2	2	1	1	6
Y ₁₄	1	2	1	2	6
Y ₁₅	2	1	1	1	5
Y ₁₆	2	1	2	1	6
Y ₁₇	2	2	1	1	6
Y ₁₈	1	2	2	1	6
Y ₁₉	2	2	1	1	6
Y ₂₀	2	2	1	1	6

Keterangan :

X : Teknik hemolisis

Y : Tanpa Hemolisis

SP : Sitoplasma Plasmodium

IP : Inti Plasmodium

LB : Latar Belakang Sediaan

Sediaan darah tebal dengan teknik hemolisis sebanyak 20 sediaan menghasilkan : Jumlah skor 4 sebanyak 1 sediaan, jumlah skor 5 sebanyak 3 sediaan, jumlah skor 6 sebanyak 10 sediaan, dan jumlah skor 7 sebanyak 6 sediaan. Sediaan darah tebal malaria tanpa teknik hemolisis

sebanyak 20 sediaan menghasilkan jumlah skor 5 sebanyak 1 sediaan, jumlah skor 6 sebanyak 14 sediaan, dan jumlah skor 7 sebanyak 5 sediaan.

Jadi untuk teknik hemolisis : 20% kategori kurang baik, 80% kategori baik, sedangkan untuk teknik tanpa hemolisis : 5% kategori kurang baik, 95% kategori baik.

Hipotesis:

H_0 : data hasil penilaian gambaran mikroskopis sediaan darah tebal malaria berdistribusi normal

H_1 : data hasil penilaian gambaran mikroskopis sediaan darah tebal malaria tidak berdistribusi normal

Kriteria pengambilan keputusan sebagai berikut:

- i. Apabila $\text{sig} < \alpha$ maka tolak H_0 , sehingga kesimpulannya adalah data tidak berdistribusi normal.
- ii. Apabila $\text{sig} \geq \alpha$ maka gagal tolak H_0 , sehingga kesimpulannya adalah data berdistribusi normal.

Nilai $\alpha = 5\%$

	Tests of Normality					
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Stat	df	Sig.	Stat	Df	Sig.
Hasil	,290	40	,000	,790	40	,000

a. Lilliefors Significance Correction

Karena nilai $\text{sig} 0,000 < \alpha 0,05$ maka data hasil penilaian gambaran mikroskopis sediaan darah tebal malaria tidak berdistribusi normal.

UJI BEDA

Hipotesis:

H_0 : tidak ada perbedaan hasil penilaian gambaran mikroskopis sediaan darah tebal malaria antara teknik hemolisis dan tanpa hemolisis

H_1 : ada perbedaan hasil penilaian gambaran mikroskopis sediaan darah tebal malaria antara teknik hemolisis dan tanpa hemolisis

Kriteria pengambilan keputusan sebagai berikut:

- i. Apabila $\text{sig} < \alpha$ maka tolak H_0 , sehingga kesimpulannya adalah ada

perbedaan antara kelompok satu dengan kelompok yang lain.

- ii. Apabila $\text{sig} \geq \alpha$ maka gagal tolak H_0 , sehingga kesimpulannya adalah tidak ada perbedaan antara kelompok satu dengan kelompok yang lain.

Test Statistics ^a	Hasil
Mann-Whitney U	178,500
Wilcoxon W	388,500
Z	-,658
Asymp. Sig. (2-tailed)	,511
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,565 ^b

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

Karena nilai sig adalah $0,565 > \alpha 0,05$ maka tidak terdapat perbedaan hasil penilaian gambaran mikroskopis sediaan darah tebal malaria antara teknik hemolisis dan tanpa hemolisis.

Pada sediaan tebal tanpa hemolisis perpaduan antara eosin, metilen blue dan metillen azur tidak terserap baik oleh sitoplasma plasmodium sehingga berwarna lebih pucat. Sedangkan pada teknik hemolisis perpaduan cat warna Giemsa terserap baik oleh sitoplasma plasmodium karena tidak terhalangi warna eritrosit sehingga terlihat warna biru keunguan. Pada pewarnaan sediaan tebal tanpa hemolisis, sitoplasma *P. falciparuum* utuh sehingga lebih mudah dalam penentuan spesies, sedangkan pada teknik hemolisis didapatkan sitoplasma *P. falciparum* sebagian hilang.

Berdasarkan hasil pengamatan gambaran mikroskopis sediaan darah tebal dengan teknik hemolisis, perpaduan antara eosin, metillen blue dan metillen azur terserap baik oleh inti plasmodium sehingga berwarna merah keunguan.

Hal ini untuk pemula memang bisa mempengaruhi pengamatan, tapi bagi yang sudah terlatih adanya eritrosit yang bertumpuk masih bisa dibedakan dengan warna sitoplasma atau inti dari *P. falciparum*, dikarenakan pada saat pengecatan sebagian eritrosit juga lisis. Latar belakang yang kotor diakibatkan dari sisa cat Giemsa dengan pencucian yang

kurang bersih. Sebaiknya cairan Giemsa yang berada pada sediaan darah tidak boleh dibuang dulu sebelum dicuci tetapi dengan jalan mengguyur dengan air pencuci, supaya permukaan yang berminyak itu tidak mengotori sediaan.

KESIMPULAN

Tidak ada perbedaan yang signifikan antara hasil pengamatan sediaan tebal teknik hemolisis dengan tanpa hemolisis (dari pengamatan Sitoplasma Plasmodium, Inti Plasmodium dan Latar Belakang Sediaan) sehingga preparat sediaan tebal tanpa hemolisis layak digunakan untuk penentu diagnosis malaria.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada pimpinan dan civitas akademika Akademi Analis Kesehatan 17 Agustus 1945 Semarang, yang selalu memberikan kesempatan untuk penulis.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmadi, Supri,. 2008. *Faktor Risiko Kejadian Malaria di Desa Lubuk Nipis Kecamatan Tanjung Agung Kabupaten Muara Enim*. Tesis tidak diterbitkan. Semarang: Program Pascasarjana Universitas Diponegoro.
- Arsin, Arsunan A, 2012, *Malaria Di Indonesia Tinjauan Aspek Epidemiologi*, Masagena Press.
- Depkes RI, 2008, *Pedoman Penatalaksanaan Kasus Malaria Di Indonesia*. Direktorat Jenderal Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan.
- Depkes RI, 1986, *Pemeriksaan Parasit Malaria Secara Mikroskopis*, Direktorat Jenderal Pemberantasan Penyakit Menular Dan Penyehatan Lingkungan Pemukiman.
- Irianto,K., 2009, *Parasitologi – Berbagai Penyakit yang Mempengaruhi Kesehatan Manusia*, Yrama Widya, Bandung

Garcia, Lynne S., 1996, *Diagnostik Parasitologi Kedokteran*, EGC, Jakarta
Gobbo, Giovanni, 2014, *Atlas of Human Malaria*, <http://www.atlas-malaria.com> (20 November 2014)

Rosdiana S, 2009, *Parasitologi Kedokteran, Protozoologi-Helminologi- Entomologi*, Yrama Widya - Bandung.
Soedarto, 2011, *Malaria*, CV Sagung Seto- Jakarta