

# Laboratorium Diagnostik Malaria Masa Kini

Makmur Husaini

Bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara  
Rumah Sakit Dr Pirmgadi, Medan

## PENDAHULUAN

Penyakit malaria sudah dikenal lebih seabad yang lalu. Banyak hal yang sudah terungkap akan tetapi masih banyak yang masih perlu mendapat perhatian karena masih banyak negara yang belum terbebas dari penyakit ini. Banyak hal yang belum terungkap baik tentang parasitologi, klinik, terapi, epidemiologi dan juga diagnostiknya.

Penemuan parasit *Plasmodium* yang beredar pada darah tepi hingga saat ini masih merupakan diagnosis pasti yang tak terbantahkan. Akan tetapi untuk memastikan bahwa seseorang tidak mengandung parasit ini dalam darahnya akan menjadi sukar karena mungkin parasit sedikit sekali beredar di darah tepi atau dalam jaringan hati atau tidak jarang juga tidak dijumpai parasit karena kekurangan dalam teknik pemeriksaan, pewarnaan dan juga teknisi pemeriksa kurang trampil. Sejak awal abad ini pemeriksaan laboratorium untuk menunjukkan adanya Plasmodia pada darah tepi sudah menggunakan Metode Giemsa yang sensitifitas dan spesifisitasnya cukup baik sehingga masih terus dipakai sampai saat ini.

Akhir-akhir ini banyak penelitian yang dilakukan untuk mendapatkan metode pemeriksaan laboratorium diagnostik malaria yang lebih baik dari yang sudah ada. Hingga saat ini masih terus diteliti metode-metode baru yang sesuai, lebih peka, lebih mudah pelaksanaannya dan lebih murah.

Kemajuan yang pesat dari imunologi dan bioteknologi juga menyumbangkan keikutsertaannya dalam laboratorium diagnostik malaria yang pada mulanya adalah merupakan usaha untuk menemukan vaksin terhadap malaria.

## LABORATORIUM DIAGNOSTIK MALARIA

### 1) Metode Giemsa

Metoda ini menggunakan pewarnaan Giemsa yang klasik. Dipakai larutan Giemsa pekat (*stock solution*) yang diencerkan

menjadi 5 -15% tergantung pada keperluannya.

#### a. Pewarnaan cepat sediaan darah tebal :

- Larutan Giemsa pengenceran 15% atau 3 tetes *stock solution* untuk 1 ml *buffer* pH 6.6 - 6.8.
- Pewarnaan selama 5 - 10 menit.
- Cuci dan keringkan untuk dilihat di bawah mikroskop.

#### b. Pewarnaan standard sediaan darah tebal :

- Larutan Giemsa 5% atau dengan 1 tetes *stock solution* untuk 1 ml *buffer* pH 7.1.
- Pewarnaan selama 45 menit.
- Cuci dan keringkan.

#### c. Pewarnaan standard sediaan darah tipis

- Fiksasi dilakukan dengan metanol.
- Larutan Giemsa 5% atau 1 tetes *stock solution* untuk 1 ml *buffer* pH 7.1.
- Pewarnaan selama 30 menit.
- Cuci dan keringkan.

### 2) Field's staining

Pewarnaan ini menggunakan 2 jenis larutan yang pewarnaannya berlangsung cepat. Larutan *Field A* mengandung *methylene blue* dan *Azure blue* dalam *buffer*. Larutan *Field B* mengandung eosin dalam *buffer*.

Dilakukan dengan mencelupkan sediaan darah tersebut pada larutan B selama 10 - 30 detik, kemudian mencucinya dengan air dan berikutnya dicelupkan pada larutan A selama 3 - 5 detik, dicuci dan dikeringkan.

Pewarnaan ini berlangsung cepat dan sering dipergunakan di lapangan pada waktu survai.

### 3) J.S.B. Staining

Metode ini menggunakan dua larutan pewarna yang dilakukan berurutan seperti penggunaan *Field's staining*. Larutan I berisi *Polychromed methylene blue* dan *disodium hydrogen*

*phosphate* (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>). Larutan II berupa larutan eosin dalam air.

Cara kerja :

– *Slide* apusan darah dicelupkan ke dalam larutan II selama 1 – 2 detik.

Dicuci dengan air pH 6.2 – 6.6.

Dicelupkan pada larutan I selama 40 – 45 detik.

Dicuci dengan air *buffer* pH 6.2 – 6.6 3 – 4 kali.

#### 4) Wright's staining

Metode ini menggunakan *Wright's solution* tanpa pengenceran. Kerjanya mudah, tetapi kurang baik untuk pewarnaan *Plasmodium*.

#### 5) QBC System (Quantitative Buffy Coat analysis system)

Alat dan pewarnaan dengan *Acridine Orange* diperkenalkan tahun 1983 untuk pemeriksaan darah putih, kemudian dikembangkan pada tahun 1988 untuk pemeriksaan parasit darah dan juga untuk malaria. Tahun 1989 Perrone menggunakan peralatan fluoresens sederhana menggantikan alat fluoresens yang biasa.

Kepekaan dan spesifisitasnya mengimbangi metode konvensional Giemsa dan lebih unggul dalam penggunaan waktu dan mudah kerjanya (Jataporn 1990).

Cara kerja :

– Digunakan pipa kapiler yang biasa untuk pemeriksaan hematokrit yang sebelumnya dilapisi dengan pewarna *Acridine Orange*.

– Pipa ditutup dengan lempeng plastik sesuai besar pipa dan diberi penutup ujung pipa.

– Sediaan disentrifuse selama 5 menit.

– Sediaan diperiksa di bawah mikroskop fluoresens; eritrosit yang mengandung parasit akan kelihatan berfluoresens karena mengambil pewarna.

#### 6) Immunodiagnosis

Path dasarnya penggunaan imunologi untuk diagnosis adalah menemukan antibodi spesifik malaria ataupun menemukan antigen malaria, yang larut dalam darah.

##### a) Untuk mendeteksi antibodi :

Untuk melengkapi reaksi antigen-antibodi, dipakai antigen yang sudah diketahui, yang biasanya diperoleh dari darah penderita yang sudah diketahui mengandung parasit, darah monyet yang sudah dijangkiti dengan plasmodium, atau parasit dari hasil kultur yang terus menerus.

Teknik yang dipakai antara lain :

– *Indirect Fluorescence Antibody* (IFA).

– *Indirect Haemagglutination* (IHA).

– *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA).

– *Radio-immune Assay*.

– *Schizont-infected Cell Agglutination Test* (SICA).

##### b) Untuk mendeteksi antigen :

Dipergunakan metode pengembangan antibodi spesifik dengan latar belakang antigen yang ada di darah dengan cara bioteknologi hibridoma, *DNA probe*, dan lain-lain.

### PEMILIHAN METODE PEMERIKSAAN

Banyak metode pemeriksaan laboratorium untuk diagnostik malaria yang telah diperkenalkan dan digunakan. Untuk hal ini tergantung pada kebutuhan apa hasil dari diagnosis itu dipergunakan.

Umumnya hasil dari pemeriksaan laboratorium untuk diagnosis dipergunakan untuk keperluan :

1. Menentukan pengobatan terhadap penderita
2. Penelitian Epidemiologi
3. Penelitian Parasitologi
4. Penelitian Imunologi.

Untuk keperluan pengobatan dan perawatan biasanya dibutuhkan hasil yang cepat dan dapat segera diberikan pengobatan; untuk kasus-kasus di klinik yang jumlahnya tidak banyak dapat digunakan metode Giemsa.

Untuk keperluan penelitian epidemiologi yang biasanya melibatkan banyak sampel darah dan umumnya hasilnya tidak dibutuhkan segera, dapat dipakai metode *Field's staining* atau *QBC system*. Penelitian parasitologi biasanya bersama dengan penelitian epidemiologi.

Pada penelitian imunologi tujuan utamanya adalah untuk mendapatkan vaksin malaria, pada pemeriksaan imunologi yang diperiksa adalah antigen terlarut maupun antibodi yang kadang-kadang munculnya dalam darah penderita agak terlambat mengikuti proses pembentukannya, walaupun kepekaan cara hibridoma dapat mendeteksi 1 parasit dalam 1.000.000 eritrosit.

### KEPUSTAKAAN

1. Bruce Chwau LI. DNA probes for malaria diagnosis. *Lancet* 1984; 1: 795.
2. Cohen S, Warren KS. *Immunology of Parasitic Infections*, 2nd ed. Blackwell, 1982. 460 - 465.
3. Craig. *Faust's Text book of Parasitology*.
4. Jaturapom Pomsilapatip et al. Detection of Plasmodia in acridine orange stained capillary tubes (The QBC System), *Southeast Asian J Trop Med Public Health* vol 21 no 4 December 1990; 21(4): 34-540.
5. Dep Kes RI, Dit Jen PPM PLP. *Malaria*. 7. Pemeriksaan parasit malaria secara mikroskopis. 1983.
6. Dep Kes RI, Dit Jen PPM PLP. *Malaria*, 9. Test resistensi in vivo dan in vitro *Plasmodium falciparum*, 1983.
7. Thomas T Ho. A rapid and simple method for diagnosis of malaria utilizing the QBC Malaria test, *Proc. Simposium Malaria*, Jakarta, 1991.