

CEK SILANG MIKROSKOPIS SEDIAAN DARAH MALARIA PADA MONITORING PENGOBATAN DIHIDROARTEMISININ-PIPERAKUIN DI KALIMANTAN DAN SULAWESI

Endah Ariyanti,* Riyanti E, Budi Prasetyorini, Aisyah, Khairiri, Syahrial Harun,
Sarwo Handayani, Emiliana Tjitra

*Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Jl. Percetakan Negara No. 29, Jakarta
Email: endah6881@gmail.com

CROSS-CHECKING MALARIA SMEARS IN MONITORING DYHYDROARTEMISININ- PIPERAKUIN IN KALIMANTAN AND SULAWESI

Abstract

Quality assurance of malaria microscopy is an important issue in health service and health research for a better case management. In monitoring Dyhydroartemisinin-Piperaquine, quality assurance was a part of this research activities at sentinel sites in Kalimantan and Sulawesi. This activity was carried out to confirmed diagnosis of malaria cases that could be analysed, and to evaluate the skill of microscopists to be improved in the future. Quality assurance was assessed based on the results of cross-checking malaria smears which done blindly by certified microscopist from Laboratory of Parasitology ,National Institute of Health Research and Development, The quality of smears were mostly good, however the error rate was still high (10.9%). Therefore, a better and continuing planning and strategi is needed to improve and mantain the quality of skill microscopists.

Keywords: malaria; microscopic, Dyhydroartemisinin-Piperaquine

Abstrak

Pemantapan kualitas mikroskopis malaria merupakan isue penting dalam pelayanan dan penelitian kesehatan untuk penanganan kasus yang lebih baik. Pada monitoring pengobatan Dihidroartemisinin-Piperakuin, pemantapan kualitas merupakan bagian dari kegiatan penelitian tersebut di lokasi sentinel (Kalimantan dan Sulawesi). Pemantapan dilakukan untuk mendapatkan kepastian diagnosis kasus malaria yang dapat dianalisis, dan sebagai evaluasi ketrampilan mikroskopis untuk perbaikan dan peningkatan di masa datang. Pemantapan kualitas dinilai berdasarkan hasil cek silang sediaan darah malaria secara *blinded* yang dilakukan oleh mikroskopis tersertifikasi dari Laboratorium Parasitologi Badan Litbang Kesehatan. Hasil cek silang menunjukkan kualitas sediaan darah sebagian besar sudah baik meskipun untuk *error rate* masih tinggi mencapai 10,9%. Oleh sebab itu dibutuhkan rencana dan strategi yang baik dan berkelanjutan untuk memperbaiki dan mempertahankan kualitas tenaga mikroskopis malaria yang handal.

Keywords: malaria; mikroskopis; Dihidroartemisinin-Piperakuin

Submit: 5 Juli 2011, Review 1: 28 september 2011, Review 2: 28 September 2011, Eligible article: 30 Desember 2011

Pendahuluan

Malaria merupakan penyakit yang disebabkan oleh infeksi protozoa dari genus plasmodium.¹ Diagnosis penyakit malaria ditegakkan berdasarkan pemeriksaan klinis dan pemeriksaan laboratorium. Pemeriksaan laboratorium untuk diagnosis malaria dapat dilakukan melalui beberapa metode antara lain secara mikroskopis, *Rapid Diagnosis Test*, Elisa, dan *Polymerase Chain Reaction (PCR)*.¹ Standar emas (*Gold Standar*) pemeriksaan malaria sampai saat ini masih dilakukan dengan pemeriksaan sediaan darah secara mikroskopis.¹

Untuk memperbaiki pelayanan kesehatan dan ketepatan diagnosis mikroskopis malaria, pemantapan kualitas sangat diperlukan agar dapat menyediakan kualitas diagnostik mikroskopis yang terstandar. Ketepatan yang tinggi merupakan salah satu prasyarat utama dalam rangka memperoleh hasil pembacaan yang sesuai dengan standar *World Health Organization (WHO)*.² Kemampuan mikroskopis di setiap daerah saat ini beragam yang disebabkan beberapa hal antara lain, dasar pendidikan yang berbeda, pelatihan dan penyegaran mikroskopis yang kurang dari mikroskopis di tingkat atasnya, kurang melakukan pemeriksaan karena rendahnya kasus malaria di daerahnya, sarana dan prasarana yang kurang memadai, kurangnya perawatan peralatan yang digunakan, dan penyimpangan SOP (*Standard Operational Procedure*).³ Pemantapan kualitas ini dilakukan untuk memantau dan meningkatkan kemampuan laboratorium terutama untuk diagnosis malaria sehingga dapat menyediakan pelayanan yang efektif dan akurat secara terus-menerus.⁴

Pada monitoring pengobatan Dihidroarte-misinin-Piperakuin di Sulawesi dan Kalimantan, cek silang dilakukan sebagai salah satu bagian dari pemantapan kualitas di laboratorium Puskesmas lokasi sentinel penelitian. Lokasi sentinel disini merupakan lokasi penelitian yang telah ditentukan karena adanya kejadian atau tanda penting suatu penyakit yaitu malaria yang sedang dalam upaya preventif atau pengobatan untuk melakukan perbaikan.⁵ Penelitian ini dilakukan untuk memantapkan tenaga mikro-skopis di Puskesmas karena dimungkinkan adanya penyimpangan cara kerja yang dapat mem-pengaruhi hasil mikroskopis.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengkonfirmasi seluruh hasil pemeriksaan sediaan darah malaria penelitian yang diperiksa oleh

mikroskopis Puskesmas dengan menghitung nilai akurasi spesies dan *error rate*.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan bagian dari kegiatan penelitian monitoring Dihidroarte-misinin-Piperakuin di lokasi sentinel Kalimantan dan Sulawesi. Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus 2010 - Januari 2011. Pemeriksaan dilakukan di Laboratorium Parasitologi Badan Litbangkes oleh tenaga mikroskopis yang ahli dan tersertifikasi sebanyak 4 orang dan hasil pembacaan dari keempatnya telah dilakukan kesepakatan sebelum dilaporkan hasil akhirnya. Sampel yang dikumpulkan dari empat provinsi lokasi penelitian berupa sediaan darah tebal dan tipis yang dibuat *duplo* dari H-0 sampai dengan H-42 atau H-kambuh/gagal obat (10 kali pengambilan). Lokasi penelitian meliputi delapan Puskesmas yaitu Toluaan dan Tambelang (Kabupaten Minahasa Tenggara, Sulawesi Utara), Baluase dan Banpres (Kabupaten Sigi, Sulawesi Tengah), Kasongan dan Tumbang Samba (Kabupaten Katingan, Kalimantan Tengah), Toho dan Anjungan (Kabupaten Pontianak, Kalimantan Barat).

Sampel yang telah dibaca oleh mikroskopis Puskesmas kemudian dibawa ke Laboratorium Badan Litbangkes oleh para peneliti Badan Litbangkes pada saat melakukan supervisi. Penilaian awal dilakukan terhadap kualitas sediaan yang diterima oleh Badan Litbangkes sebelum dilakukan pembacaan mikroskopis. Kualitas sediaan darah yang baik adalah yang sesuai dengan standar pembuatan sediaan darah Badan Kesehatan Dunia (WHO), yaitu kebersihan sediaan darah, volume darah, bentuk sediaan darah tebal dan tipis, dan metode pewarnaan.⁶

Cek silang yang dilakukan secara *blinded* tanpa mengetahui hasil pembacaan dari mikroskopis Puskesmas yang meliputi identifikasi jenis spesies, stadium dan jumlah kepadatan parasit malaria. Selanjutnya hasil pemeriksaan dicatat dalam *log book* berdasarkan lokasi sentinel dan dilaporkan ke koordinator penelitian *in vivo* untuk tiap provinsi. Hasil pemeriksaan spesies secara mikroskopis yang dilakukan oleh mikroskopis Badan Litbangkes selanjutnya dikonfirmasi spesiesnya dengan pemeriksaan PCR.

Analisis data (*error rate*) dilakukan berdasarkan hasil pemeriksaan Laboratorium Badan

Litbangkes dibandingkan dengan hasil pemeriksaan dari Puskesmas.

$$Error\ Rate = \frac{\text{Jumlah kesalahan pembacaan} \times 100\%}{\text{Jumlah sediaan yang dibaca}}$$

Hasil

Jumlah sediaan darah malaria yang diterima dari keempat provinsi sebanyak 2211 dari 229 subyek penelitian. Jumlah subyek penelitian dari Provinsi Sulawesi Utara sebanyak 158 subyek (69%), dari Provinsi Sulawesi Tengah 40 subyek (17,5%), Provinsi Kalimantan Tengah sebanyak 22 subyek (10%), dan dari Provinsi Kalimantan Barat sebanyak 9 subyek (3,5%). Hasil penilaian kualitas sediaan darah malaria pada H-0 yang diterima Laboratorium Parasitologi Badan Litbangkes dilihat pada Tabel 1.

Hasil penilaian kualitas sediaan darah pada tabel 1 tidak dapat dijumlahkan karena penilaian kriteria yang berbeda dari sampel yang sama. Kriteria-kriteria sediaan berkualitas baik diantaranya bila latar belakang pandangan di mikroskop terlihat jernih, setiap lapang pandang mikroskop terdapat 10-20 leukosit, warna-warna merah, ungu, biru,/abu-abu dan hitam harus kontras sehingga mudah dibedakan. Bila sediaan darah diletakkan diatas koran, huruf-huruf di koran terbaca dengan mudah.⁶

Sebanyak 229 sediaan darah malaria pada H-0 yang diperiksa oleh Laboratorium Parasitologi Badan Litbang Kesehatan dapat dilihat pada Tabel 2 dan Tabel 3 yang dibedakan berdasarkan spesiesnya.

Hasil pemeriksaan Laboratorium Badan Litbangkes untuk spesies *P. vivax* dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 1. Hasil Penilaian Kualitas Sediaan Darah Malaria pada H-0

Kriteria	Penilaian	
	Baik	Kurang Baik
Sediaan darah tipis	194 (85%)	35 (15%)
Sediaan darah tebal	208 (90,8%)	21 (9,27%)
Pewarnaan	197 (88%)	32 (12%)
Tidak dapat diperiksa : Nihil		

Tabel 2. Hasil Cek Silang Spesies *P. falciparum*

Provinsi	Nama Puskesmas	Jumlah Sediaan Puskesmas	Hasil Cek Silang			
			Pf	Pv	Pf + Pv	Negatif
Sulawesi Utara	Toluaan	44	44	0	0	0
	Tambelang	43	41	0	1	1
Sulawesi Tengah	Baluase	1	1	0	0	0
	Banpres	15	15	0	0	0
Kalimantan Tengah	Kasongan	2	2	0	0	0
	Tumbang Samba	2	2	0	0	0
	Toho	2	1	0	0	1
Kalimantan Barat	Anjungan	3	1	0	1	1
Total		112	107	0	2	3

Tabel 3. Hasil Cek Silang Spesies *P. Vivax*

Provinsi	Nama Puskesmas	Jumlah Sediaan Puskesmas	Hasil Cek Silang			
			Pv	Pf	Pf + Pv	Negatif
Sulawesi Utara	Toluaan	38	38	0	0	0
	Tambelang	33	26	6	1	0
Sulawesi Tengah	Baluase	4	1	0	0	3
	Banpres	20	19	1	0	0
Kalimantan Tengah	Kasongan	16	9	0	0	7
	Tumbang Samba	2	2	0	0	0
Kalimantan Barat	Toho	3	1	0	0	2
	Anjungan	1	1	0	0	0
Total		117	97	7	1	12

Tabel 4. Nilai Akurasi Spesies

Provinsi	Puskesmas	Hasil Puskesmas		Hasil Litbangkes		Akurasi Spesies (%)	
		Pf	Pv	Pf	Pv	Pf	Pv
Sulawesi Utara	Toluaan	44	38	44	38	100	100
	Tambelang	43	33	41	26	95,3	78,8
Sulawesi Tengah	Baluase	1	4	1	1	100	25
	Banpres	15	20	15	19	100	95
Kalimantan Tengah	Kasongan	2	16	2	9	100	56,2
	Tumbang Samba	2	2	2	2	100	100
Kalimantan Barat	Toho	2	3	1	1	50	33,3
	Anjungan	3	1	1	1	33,3	100
Total		112	117	107	97	95,5	82,9

Tabel 5. Jumlah Sediaan Darah yang Berbeda Hasil Pemeriksaannya di Puskesmas versus Badan Litbangkes

No	Hasil Puskesmas	Hasil Litbangkes	Jumlah	Error Rate (%)
1.	<i>P. falciparum</i>	<i>P. vivax</i>	0	<i>P. falciparum</i> 5/112 = 4,5 %
2.	<i>P. falciparum</i>	Campuran	2	
3.	<i>P. falciparum</i>	Negatif	3	
4.	<i>P. vivax</i>	<i>P. falciparum</i>	7	<i>P. vivax</i>
5.	<i>P. vivax</i>	Campuran	1	20/117 = 17,1 %
6.	<i>P. vivax</i>	Negatif	12	
Jumlah			25	Total error rate 25/229 = 10,9 %

Tabel 2 dan Tabel 3 menunjukkan hasil cek silang *P. falciparum* sebanyak 114 (50%) yang didapat dari 107 sediaan darah yang benar diidentifikasi *P. falciparum* ditambah 7 sediaan darah yang oleh puskesmas diidentifikasi sebagai *P.*

vivax tetapi setelah dilakukan cek silang merupakan *P. falciparum*. Hasil cek silang untuk *P. vivax* sebanyak 97 (43,5%), dan infeksi campuran sebanyak 3 (1,3%) yang terdiri dari infeksi *P. falciparum* dan *P. vivax*, sedangkan sisanya

sebanyak 15 (5,2%) teridentifikasi sebagai sediaan darah negatif parasit malaria. Pada Tabel 2 dan Tabel 3 dapat ditentukan nilai akurasi spesies para tenaga mikroskopis Puskesmas dengan cara membandingkan hasil pembacaan mikroskopis Puskesmas dengan mikroskopis Badan Litbangkes dapat dilihat pada Tabel 4.

Rata-rata nilai ketepatan identifikasi spesies *P. falciparum* sebesar 95,5% dan untuk rata-rata ketepatan *P. vivax* 82,9%. Dari seluruh sediaan darah malaria pada H-0 yang diperiksa oleh Laboratorium Parasitologi Badan Litbangkes terdapat 25 sediaan darah yang hasilnya berbeda dengan puskesmas lokasi penelitian. Hasil perbedaan tersebut dapat dilihat secara rinci pada Tabel 5.

Error rate untuk masing-masing plasmodium dapat terlihat pada Tabel 5. Pada tabel tersebut *P. Falciparum* mempunyai nilai *error rate* sebesar 4,5%, *P. vivax* 17,1%, dan *error rate* secara keseluruhan sebesar 10,9%.

Pembahasan

Pada pemeriksaan cek silang ini semua sediaan diperiksa sehingga diperlukan sediaan darah dengan kualitas yang baik terutama sediaan darah pada H-0 karena merupakan penentu untuk *enrollment* (perekrutan). Dari Tabel 1 dapat dilihat bahwa sebagian besar sediaan darah yang diperiksa kondisinya dari segi pembuatan dan pewarnaannya adalah baik, serta tidak ada satu pun sediaan darah yang tidak bisa dibaca. Meski masih ada beberapa sediaan darah yang kurang baik tapi masih tetap bisa terbaca oleh pembaca kedua.

Beberapa sediaan yang kurang baik diantaranya disebabkan oleh jumlah darah pada sediaan tebal maupun tipis yang terlalu banyak maupun terlalu sedikit, pH air pengenceran yang tidak sesuai untuk pewarnaan yang dibutuhkan sehingga hasil pewarnaan terlalu biru atau terlalu merah. Waktu yang tidak sesuai dengan konsentrasi pengenceran (konsentrasi larutan giemsa yang rendah membutuhkan waktu yang lebih lama sedangkan konsentrasi yang tinggi membutuhkan waktu yang lebih singkat) juga bisa menyebabkan hasil pewarnaan yang kurang baik. Penyimpanan yang kurang benar sebagai penyebab banyaknya debu atau kotoran yang menempel pada sediaan darah dan menjadi artefak-arterfak dalam pemeriksaan mikroskopis.⁶ Sebagian besar kondisi sediaan darah yang diterima dalam kondisi baik dan semua sediaan darah bisa diperiksa, hal ini

menunjukkan kemampuan mikroskopis yang sudah baik dalam proses penanganan spesimen.

Berdasarkan hasil pembacaan mikroskopis Puskesmas dari 112 *P. falciparum* hanya 107 yang benar *P. falciparum* menurut mikroskopis dari Badan Litbangkes, 2 infeksi campuran, dan 3 negatif parasit malaria. Hasil pembacaan Puskesmas untuk penentuan spesies *P. falciparum* yang berbeda dengan Badan Litbangkes ada tiga Puskesmas yaitu Puskesmas Tambelang, Puskesmas Toho, dan Puskesmas Anjungan. Tabel 3 menunjukkan hasil pembacaan oleh pembaca kedua dari 117 sediaan yang diidentifikasi sebagai *P. vivax* hanya 97 sediaan yang benar *P. vivax*, 7 *P. falciparum*, 1 infeksi campuran, dan 12 sebagai sediaan negatif parasit malaria. Hanya ada 3 Puskesmas yang hasilnya sama dengan hasil cek silang oleh pembaca kedua yaitu hasil pembacaan dari Puskesmas Toluaan, Puskesmas Tumbang Samba, dan Puskesmas Anjungan.

Nilai akurasi spesies mikroskopis Puskesmas secara keseluruhan dalam mengidentifikasi *P. falciparum* ternyata lebih dominan mencapai hampir 100%, hanya pada hasil dari Kalimantan Barat yang menunjukkan masih rendah hal ini karena minimnya sampel yang didapatkan. Nilai akurasi *P. vivax* lebih banyak yang rendah karena morfologi *P. vivax* yang sangat beragam sehingga banyak mikroskopis yang sering menemukan artefak sebagai positif palsu dari *P. vivax*. Artefak yang ditemukan diantaranya adalah komponen-komponen darah (leukosit, eritrosit, trombosit), bakteri, spora, sel makanan, debu, dan kristal giemsa.⁶

Hasil *error rate* pembacaan mikroskopis Puskesmas sentinel yang telah dibandingkan dengan hasil pembacaan mikroskopis Badan Litbangkes secara keseluruhan adalah lebih dari 5%. Angka ini masih menunjukkan kemampuan mikroskopis yang masih kurang karena *error rate* yang baik dan dapat diterima adalah kurang dari 5%, maka diperlukan tindak lanjut dalam peningkatan kemampuan mikroskopis.

Kesimpulan

Kualitas sediaan darah mempengaruhi hasil pembacaan mikroskopis. *P. falciparum* lebih mudah diidentifikasi oleh tenaga mikroskopis terlihat dari nilai akurasi spesies *P. falciparum* yang tinggi. Nilai akurasi yang mendekati 100% penting bagi seorang mikroskopis karena menentukan kemampuan mereka dalam mengidentifikasi spesies parasit. Nilai *error rate* yang masih tinggi menunjukkan

kemampuan mikroskopis Puskesmas yang masih kurang, sehingga perlu dilakukan cek silang hasil pembacaan mikroskopis puskesmas oleh mikroskopis yang telah terlatih dan tersertifikasi.

Saran

Cek silang harus selalu dilakukan untuk menjaga dan meningkatkan kemampuan tenaga mikroskopis malaria, selain itu kualitas pendidikan tenaga mikroskopis dan pelatihan maupun supervisi secara berkala dari tingkatan mikroskopis di atasnya atau yang lebih senior juga diperlukan untuk memperkaya pengalaman para mikroskopis Puskesmas. Kondisi laboratorium yang nyaman, perawatan alat dan bahan yang baik serta proses penanganan spesimen yang sesuai dengan SOP juga menghasilkan pemeriksaan yang baik dan maksimal.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada semua pihak yang telah membantu ditulisnya artikel ini dan yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini terutama bagi penyandang dana penelitian (Global Fund R-8) serta semua tenaga Puskesmas terutama para mikroskopis di Puskesmas Toluaan, Puskesmas Tambelang, Puskesmas Banpres, Puskesmas Baluase, Puskesmas Kasong-

an, Puskesmas Tumbang Samba, Puskesmas Toho, dan Puskesmas Anjungan. Tak lupa kami ucapkan terima kasih kepada para peneliti senior yang telah banyak memberi masukan pada tulisan ini.

Daftar Pustaka

1. Harijanto P N, Malaria epidemiologi, Patogenesis, Manifestasi Klinis dan Penanganan, Buku Kedokteran EGC, 2000
2. Malaria Microscopy Quality Assurance Manual Version 1, World Health Organization (WHO), 2009
3. Nanakorn Ampon. Laboratory Procedures and Microscopic Training for Pyramax Phase III
4. Power point dengan judul Pemantapan Mutu Internal Laboratorium dan Program Pemantapan Mutu Eksternal Mikroskopis Malaria. Diunduh pada 28-6-2008 <http://www.scribd.com/doc/10051774/Pemantapan-Mutu-Laboratorium>
5. Power point dengan judul Surveilans Malaria. Diunduh pada 28-6-2011 <http://www.scribd.com/doc/50628956/Surveilans-Malaria>
6. Modul Parasitologi Malaria 2, Departemen Kesehatan Ditjen PP & PL Direktorat P2B2, 1999.