

TESIS

EFEKTIFITAS PEMERIKSAAN TINJA MENGGUNAKAN  
LARUTAN MERTIOLAT-IODIUM-FORMALDEHIDA  
UNTUK DETEKSI TROFOZOIT *ENTAMOEBA HISTOLYTICA*



ERINA YATMASARI  
090114249-M



PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2004

EFEKTIFITAS PEMERIKSAAN MIKROSKOPIS TINJA  
MENGUNAKAN  
LARUTAN MERTIOLAT-IODIUM-FORMALDEHIDA  
UNTUK DETEKSI TROFOZOIT *ENTAMOEBIA HISTOLYTICA*

TESIS

Untuk memperoleh Gelar Magister  
dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar  
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga



Oleh:

**ERINA YATMASARI**  
NIM 090114249-M

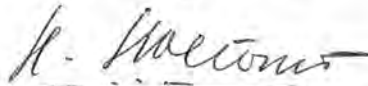
PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
Tanggal 26 Januari 2004

Lembar pengesahan

**TESIS INI TELAH DISEMPURNAKAN DAN DISETUJUI  
PADA TANGGAL 10 AGUSTUS 2004**

Oleh

**Pembimbing Ketua:**



**Dr Sri Hidajati Bayu Santoso, dr, MS, DTM**  
NIP: 130 680 855

**Pembimbing:**



**Dr Suharto, dr, SpPD, MSc, DTM&H**  
NIP: 130 517 170

**MENGETAHUI:**

**Ketua Program Studi  
Ilmu Kedokteran Dasar**



**Prof. Retno Handajani, dr, MS, PhD.**  
NIP: 130 541 984

Diuji pada  
Tanggal 26 Januari 2004  
PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Prof H Soedarto, dr, DTM&H, PhD.  
Anggota : 1. Dr Sri Hidajati Bayu Santoso, dr, MS, DTM.  
2. Dr. Suharto, dr, SpPD, MSc, DTM&H.  
3. Bariah Ideham, dr, MS.  
4. Machfudz, dr, MS, DTM&H.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama saya panjatkan puji syukur ke hadirat Allah SWT yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang atas segala rahmat dan karuniaNya sehingga tesis ini dapat diselesaikan.

Terima kasih sebesar-besarnya dan penghargaan setinggi-tingginya saya sampaikan kepada Dr Sri Hidajati Bayu Santoso, dr, MS, DTM, Pembimbing Ketua yang dengan penuh perhatian dan kesabaran membimbing dan mengarahkan dalam penulisan usulan penelitian tesis, pelaksanaan penelitian, hingga penulisan tesis ini.

Terima kasih yang dalam serta penghargaan dan penghormatan yang besar saya ucapkan kepada Dr Suharto, dr, SpPD, MSc, DTM&H, Pembimbing yang mendampingi Pembimbing Ketua, dan dengan penuh perhatian dan kesabaran di tengah-tengah kesibukan selaku Pembantu Dekan I di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya, memberi arahan dan bimbingan hingga tesis ini selesai.

Terima kasih saya sampaikan pula kepada Pemerintah Republik Indonesia dan Prof Dr Sapto J. Poerwowidagdo, MSc, Laksamana Muda Purnawirawan TNI, Rektor Universitas Hang Tuah Surabaya, yang memberikan bantuan beasiswa pada saya selaku staf pengajar tetap di Fakultas kedokteran Universitas Hang Tuah Surabaya.

Dengan selesainya tesis ini, perkenankanlah saya menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya pula kepada:

Rektor Universitas Airlangga Prof H Dr Med Puruhito, dr atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan program Magister.

Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga Prof Dr H Muhammad Amin, dr atas kesempatan untuk menjadi mahasiswa Program Magister pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Dekan Fakultas kedokteran Universitas Hang Tuah Surabaya yang hingga pertengahan pendidikan dijabat Imam Soewono, dr, SpPD, Laksamana Pertama TNI, dan selanjutnya dijabat Sartono, dr, SpPD, Laksamana Pertama TNI.

Ketua *Tropical Disease Centre* Prof DrYoes Prijatna Dahlan, dr, MSc.

Kedua orang tua saya dan adik saya semata wayang, yang selalu memberi dukungan moral dan spiritual selama saya menjadi peserta didik program Magister.

Serta segenap pihak yang membantu saya yang tidak mungkin saya sebutkan satu persatu.

## RINGKASAN

### Efektifitas Pemeriksaan Mikroskopis Tinja Menggunakan Larutan Mertiolat-Iodium-Formaldehida untuk Deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica*

Erina Yatmasari

Setiap tahun terjadi 100.000 kematian di dunia akibat infeksi *Entamoeba histolytica*, merupakan peringkat tertinggi kedua kematian akibat infeksi parasit protozoa. Penyakit yang tersering ditimbulkan adalah amubiasis intestinalis, dengan gastroenteritis atau kolitis non disenteri sebagai manifestasi klinis yang tersering, dan gejalanya adalah diare akut maupun kronis, namun dapat berlanjut sebagai disenteri amuba. Trofozoit *Entamoeba histolytica* dapat keluar bersama tinja diare tersebut.

Pemeriksaan rutin tinja secara mikroskopis yang direkomendasikan WHO (dibuat sediaan langsung dengan larutan garam fisiologis) memberi hasil deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica* yang positif sangat kecil (10-20%), sebab syaratnya harus diperiksa tinja yang baru dikeluarkan, supaya dapat teramati trofozoit hidup dengan pergerakan yang khas, dan trofozoit segera mengalami degenerasi begitu keluar dari tubuh manusia.

Larutan Mertiolat-Iodium-Formaldehida (MIF), salah satu bahan pemeriksaan mikroskopis tinja untuk deteksi infeksi protozoa, yang belum digunakan secara rutin untuk deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica* dalam tinja diare.

Rumusan masalah penelitian ini adalah apakah benar bahwa pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF lebih efektif daripada pemeriksaan rutin tinja, untuk deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica* dalam tinja diare, berdasarkan persentase hasil pemeriksaan yang dinyatakan positif?

Tujuan penelitian adalah untuk membuktikan bahwa pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF lebih efektif daripada pemeriksaan rutin tinja, untuk deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica* dalam tinja diare, berdasarkan persentase hasil pemeriksaan yang dinyatakan positif, baik yang dilakukan segera setelah tinja dikeluarkan penderita, maupun dilakukan pada waktu yang ditunda.

Berdasarkan tinjauan pustaka, diketahui bahwa larutan MIF telah lama dikenal dan terdiri dari bahan-bahan yang dapat mengawetkan tinja, sekaligus memfiksasi morfologi protozoa yang ada dalam tinja dan memberi warna protozoa-protozoa itu.

Penelitian ini dilakukan dengan memeriksa secara mikroskopis 27 sampel tinja diare pasien gastroenteritis yang memenuhi syarat (baru, tidak tercemar dan tidak mengkonsumsi obat selama dua minggu). Tinja dari setiap sampel penelitian, diambil sebanyak 0,5 ml, untuk dilakukan pemeriksaan rutin tinja. Tinja dalam jumlah yang sama dicampur merata dengan larutan MIF sebanyak 2,5 ml (dibuat secara *recenter paratus* dari 2,35 ml larutan MF dan 0,15 ml larutan Iodium dalam lugol), dan diperiksa pada tiga waktu pemeriksaan yang berbeda, (pemeriksaan MIF pertama, dilakukan segera setelah tinja dikeluarkan penderita, pemeriksaan MIF kedua, dilakukan dua jam setelah tinja dikeluarkan penderita, pemeriksaan MIF ketiga, dilakukan 24 jam setelah tinja dikeluarkan penderita).

Pengamatan mikroskopis menggunakan lensa obyektif dengan pembesaran 10 kali dan 40 kali, berpedoman pada kriteria gerakan khas untuk pemeriksaan rutin tinja, dan kriteria morfologi untuk pemeriksaan tinja menggunakan larutan MIF.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada pemeriksaan rutin tinja, hasil yang dinyatakan positif hanya tiga dari 27 sampel (11,1% sampel), sedangkan pada pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF, hasil pemeriksaan yang dinyatakan positif adalah sebanyak 14 dari 27 sampel (51,9%).

Analisis hasil dengan uji statistik Mc Nemar, menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $p=0,001$ ), dengan demikian terbukti bahwa pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF lebih efektif daripada pemeriksaan rutin, untuk deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica* dalam tinja diare penderita gastroenteritis, berdasarkan persentase hasil pemeriksaan yang dinyatakan positif.

Hasil pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF, pada ketiga waktu pemeriksaan (segera setelah tinja dikeluarkan penderita, dua dan 24 jam setelah tinja dikeluarkan penderita) memberikan hasil yang sama besar untuk hasil-hasil yang dinyatakan positif (tetap 14 dari 27 atau 51,9% sampel). Analisis hasil dengan uji statistik Mc Nemar, menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $p=0,001$ ), baik antara hasil pemeriksaan MIF kedua maupun pemeriksaan MIF ketiga, terhadap hasil pemeriksaan rutin tinja.

Analisis dengan uji statistik Mc Nemar menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna, antar pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF pada tiga waktu pemeriksaan yang berbeda ( $p=1,000$ ). Dengan demikian terbukti bahwa pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF lebih efektif daripada pemeriksaan rutin tinja, walaupun dilakukan pada waktu yang ditunda, dan tidak berbeda secara bermakna dari pemeriksaan yang dilakukan segera setelah pemeriksaan rutin tinja.

Berdasarkan penelitian ini, disarankan pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF untuk deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica* dalam tinja diare penderita gastroenteritis.



## SUMMARY

### Effectiveness of Microscopic Stool Examination using Merthiolate-Iodine-Formaldehyde Solution for Detection of the *Entamoeba histolytica* trophozoite

Erina Yatmasari

Every year *Entamoeba histolytica* is responsible for up to 100.000 deaths, placing it on the second position in terms of mortality caused by protozoan parasites. Amoebiasis is currently defined as infection with the protozoan parasite *Entamoeba histolytica*, the most frequent disease is intestinal amoebiasis, with gastroenteritis or colitis as the clinical manifestation, and patients have acute or chronic diarrhea, which may progress to dysentery. The trophozoite form of *Entamoeba histolytica* is generally found in the diarrheal stool.

Routine microscopic examination of stool specimens, recommended by WHO (direct wet film using normal saline), gives a low percentage of positive results (10-20%) in detection of trophozoite form of *Entamoeba histolytica*, it is based of the condition of the method that needs a freshly passed stool from patients, and have to be examined directly in order to see the living trophozoite form of the *Entamoeba histolytica* showing its specific movement, and the trophozoite degenerate rapidly since they are passed.

Merthiolate-Iodine-Formadehyde (MIF) solution, which is utilized in microscopic stool examination for protozoan infection, it is not used routinely in detection of trophozoite form of *Entamoeba histolytica*.

The problem is: is the microscopic stool examination using Merthiolate-Iodium-Formaldehyde solution in detection of trophozoite form of *Entamoeba histolytica* in diarrheal stool is more effective than the routine stool examination?

The objective of this research is to prove that the microscopic stool examination using MIF solution is more effective than the routine one, and it is still more even done in canceled time, based on the percentage of the positive result.

According to the references, MIF solution contains preservative, fixative and colouring agents for protozoa in stool at once.

This research was done by examining diarrheal stool of 27 patients that fit with the conditions needed (new, clean, free from treatment in the last two weeks). For routine stool examination, 0.5 ml diarrheal stool of each patient was taken. Other 0.5 ml diarrheal stool from the same patients was taken and stored in pots in where the MIF solution (made recenter paratus of 2.35 ml MF solution and 0.15 ml Lugol's iodine solution) was added and then mixed thoroughly, and was examined in three different times (immediately after passage named the first MIF examination, two hours after passage named the second MIF examination and 24 hours after passage named the third MIF examination).

Microscopic examination was done by using 10X and 40X objective lenses. The results based on movement criteria for the routine stool examination, and morphology for the examination of stool using MIF solution.

The results showed that routine stool examination revealed only 3 of 27 samples (11.1%) showed positive results, while examination of stool using MIF solution showed



14 of 27 samples (51.9%) positive. Analysis of the result was done by the Mc Nemar statistical test, and it showed a significant difference between the two methods of examination ( $p=0.001$ ), therefore it prove that the examination of stool using MIF solution for detection of trophozoite form of *Entamoeba histolytica* is more effective than the routine stool examination.

Mc Nemar analysis also revealed that there is a significant difference between the examination using MIF solution in two hours delay (the second MIF examination) or 24 hours delay (the third MIF examination) with the routine one ( $p=0.001$ ). Therefore, it proved that even it was done in canceled time, it still more effective than the routine one.

Moreover, analysis of the results among examinations in three different times showed no significant difference ( $p=1.000$ ). Therefore, it proved that examination of stool using MIF solution is possible to be done in canceled time at least 24 hours.

Based on this research, it could be suggested to use the microscopic stool examination using the MIF solution routinely for detection of the trophozoite form of the *Entamoeba histolytica* in diarrheal stool of patients with gastroenteritis.

## ABSTRACT

### Effectiveness of Microscopic Stool Examination using Merthiolate-Iodine-Formaldehyde Solution for Detection of the *Entamoeba histolytica* trophozoite

Erina Yatmasari

The objective of this research is to prove that the microscopic stool examination using MIF solution is more effective than the routine stool examination recommended by WHO, and it is still more even done in canceled time, based on the percentage of the positive result.

This research was done by examining diarrheal stool of 27 patients that fit with the conditions needed (new, clean, free from treatment in the last two weeks). For routine stool examination, 0.5 ml diarrheal stool of each patient was taken. Other 0.5 ml diarrheal stool from the same patients was taken and stored in pots in where the MIF solution (made recenter paratus of 2.35 ml MF solution and 0.15 ml Lugol's iodine solution) was added and then mixed thoroughly, and was examined in three different times (immediately after passage named the first MIF examination, two hours after passage named the second MIF examination and 24 hours after passage named the third MIF examination).

Microscopic examination was done by using 10X and 40X objective lenses. The results based on movement criteria for the routine stool examination, and morphology for the examination of stool using MIF solution.

The results showed that routine stool examination revealed only 3 of 27 samples (11.1%) showed positive results, while examination of stool using MIF solution showed 14 of 27 samples (51.9%) positive. Analysis of the result was done by the Mc Nemar statistical test, and it showed a significant difference between the two methods of examination ( $p=0.001$ ), therefore it prove that the examination of stool using MIF solution for detection of trophozoite form of *Entamoeba histolytica* is more effective than the routine stool examination.

Mc Nemar analysis also revealed that there is a significant difference between the examination using MIF solution in two hours delay (the second MIF examination) or 24 hours delay (the third MIF examination) with the routine one ( $p=0.001$ ). Therefore, it proved that even it was done in canceled time, it still more effective than the routine one.

Moreover, analysis of the results among examinations in three different times showed no significant difference ( $p=1.000$ ). Therefore, it proved that examination of stool using MIF solution is possible to be done in canceled time at least 24 hours.

Key words: effectiveness of microscopic stool examination, Merthiolate-Iodine-Formaldehyde (MIF) solution, detection of the *Entamoeba histolytica* trophozoite.

## Daftar Isi

	Halaman
Halaman prasyarat Gelar Magister.....	ii
Halaman persetujuan .....	iii
Penetapan panitia penguji .....	v
Ucapan terima kasih .....	vi
Ringkasan .....	vii
<i>Summary</i> .....	ix
Abstrak .....	xi
Daftar Isi .....	xii
Daftar Tabel .....	xv
Daftar Gambar .....	xvi
Daftar Lampiran .....	xvii
<b>Bab 1 Pendahuluan</b> .....	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	5
1.3. Tujuan Penelitian .....	5
1.4. Manfaat Penelitian .....	6
<b>Bab 2 Tinjauan Pustaka</b> .....	<b>7</b>
2.1. <i>Entamoeba histolytica</i> .....	7
2.1.1. Tatanama .....	7
2.1.2. Morfologi .....	7
2.1.3. Biologi, fisiologi dan siklus hidup .....	11
2.1.4. Epidemiologi .....	14

2.2. Penyakit yang ditimbulkan oleh <i>Entamoeba histolytica</i> .....	15
2.2.1. Patologi dan patogenesis .....	16
2.2.2. Simtomatologi .....	20
2.2.4. Terapi .....	27
2.2.5. Prevensi .....	29
2.3. Diagnosis Laboratoris .....	30
2.3.1. Pemeriksaan rutin .....	30
2.3.2. Pemeriksaan tinja menggunakan larutan MIF .....	33
2.3.3. Beberapa Metode Pemeriksaan Mikroskopis Tinja yang Lain	37
2.4. Pemeriksaan Lain .....	39
Bab 3 Kerangka Konseptual dan Hipotesis Penelitian .....	41
3.1. Kerangka Konseptual .....	41
3.2. Hipotesis Penelitian .....	43
Bab 4 Metode Penelitian .....	44
4.1. Rancangan Penelitian yang Digunakan .....	44
4.2. Populasi, Besar Sampel, Teknik Pengambilan Sampel.....	44
4.2.1. Populasi .....	44
4.2.2. Sampel .....	44
4.2.3. Besar sampel .....	45
4.2.4. Teknik pengambilan sampel .....	46
4.3. Variabel Penelitian .....	46
4.3.1. Klasifikasi variabel penelitian .....	46
4.3.2. Definisi operasional variabel .....	47
4.4. Bahan Penelitian .....	49
4.4.1. Macam bahan .....	49
4.4.2. Spesifikasi bahan .....	50
4.5. Instrumen Penelitian .....	52
4.5.1. Instrumen pembuatan dan penyimpanan larutan MIF...	52
4.5.2. Instrumen pengambilan dan penyimpanan sampel tinja diare	53
4.5.3. Instrumen pembuatan sediaan tinja untuk pemeriksaan rutin dan pemeriksaan tinja menggunakan larutan MIF .....	53
4.6. Lokasi Penelitian .....	53

4.7. Cara Kerja .....	53
4.7.1. Cara pembuatan larutan MIF .....	53
4.7.2. Cara pengambilan tinja sebagai sampel penelitian.....	54
4.7.3. Cara pembuatan sediaan.....	55
4.7.4. Cara pemeriksaan mikroskopis.....	56
4.7.5. Cara pencatatan hasil pengamatan.....	58
4.8. Cara Analisis Data.....	59
4.9. Alur Penelitian .....	60
Bab 5 Analisis Hasil Penelitian .....	61
5.1. Data Penelitian .....	61
5.2. Analisis dan Hasil Penelitian .....	63
Bab 6 Pembahasan .....	68
6.1. Efektifitas Pemeriksaan Mikroskopis Tinja Menggunakan Larutan Mertiolat-Iodium-Formaldehida yang Dilakukan Segera setelah Tinja Dikeluarkan Penderita Diare .....	68
6.2. Efektifitas Pemeriksaan Mikroskopis Tinja Menggunakan Larutan Mertiolat-iodium-Formaldehida pada Waktu Pemeriksaan Yang Ditunda .....	74
6.3. Kelebihan dan Kekurangan Pemeriksaan Mikroskopis Tinja Menggunakan Larutan Mertiolat-Iodium-Formaldehida (MIF).....	76
6.4. Masalah serta Keterbatasan dalam Penelitian .....	83
Bab 7 Penutup .....	86
7.1. Kesimpulan .....	86
7.2. Saran .....	87
Daftar Pustaka .....	89
Lampiran	

## Daftar Tabel

	Halaman
Tabel 2.1. Diagnosis banding disenteri amuba dengan disenteri basiler.....	24
Tabel 2.2. Diagnosis banding penampilan tinja secara makroskopis dan mikroskopis pada disenteri amuba dibandingkan dengan pada disenteri basiler .....	25
Tabel 5.1. Hasil keseluruhan pemeriksaan rutin tinja dan pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF.....	62
Tabel 5.2. Jumlah hasil pemeriksaan positif dan negatif pemeriksaan rutin tinja dan pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF.....	59
Tabel 5.3. Analisis untuk uji statistik Mc Nemar antara hasil pemeriksaan rutin tinja dengan hasil pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF.....	65
a) segera setelah tinja dikeluarkan penderita diare (pemeriksaan MIF pertama)	
b) dua jam setelah tinja dikeluarkan penderita diare (pemeriksaan MIF kedua)	
c) 24 jam setelah tinja dikeluarkan penderita diare (pemeriksaan MIF ketiga)	
Tabel 5.4. Analisis untuk uji statistik Mc Nemar hasil pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF antar waktu pemeriksaan .....	67
a) pemeriksaan MIF pertama dengan pemeriksaan MIF kedua	
b) pemeriksaan MIF pertama dengan pemeriksaan MIF ketiga	
c) pemeriksaan MIF kedua dengan pemeriksaan MIF ketiga	

## Daftar Gambar

	Halaman
Gambar 3.1. Skema Kerangka Konseptual.....	41
Gambar 4.1. Skema Alur Penelitian.....	60



## Daftar Lampiran

	Halaman
Lampiran 1 : Tabel data pribadi, keterangan klinis dan hasil pemeriksaan makroskopis tinja penderita gastroenteritis.....	95
Lampiran 2 : Hasil-hasil uji statistik Mc Nemar.....	96
Lampiran 3 : Fotomikrograf trofozoit <i>Entamoeba histolytica</i> dalam tinja diare penderita gastroenteritis, yang diperiksa dengan pemeriksaan mikroskopis menggunakan larutan MIF , dengan kamera Nikon H III dan pembesaran 400 kali, secara fotografis diperbesar dari ukuran 3R ke ukuran 10R .....	100

## Bab 1

### Pendahuluan

#### 1.1. Latar Belakang

Setiap tahun terjadi lebih dari 100.000 kematian di dunia akibat infeksi *Entamoeba histolytica*, sebagai peringkat kedua angka kematian terbesar di dunia akibat infeksi parasit protozoa, setelah malaria (WHO, 1997; Roberts dan Janovy, 2000). Prevalensi infeksi *Entamoeba histolytica* berkisar dari 50 sampai dengan 80% di negara-negara beriklim tropis (Kreidl, Imnadze dan Baidoshvili, 1999), dan insiden infeksi bervariasi dari 0,2% sampai dengan 50% di berbagai penjuru dunia (Neva dan Brown, 1994; Roberts dan Janovy, 2000).

Penyakit akibat infeksi *Entamoeba histolytica* yang tersering adalah amubiasis intestinalis (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994; WHO, 1997; Roberts dan Janovy, 2000). Manifestasi klinis tersering adalah gastroenteritis non disentteri, dengan gejala klinis diare (buang air besar berkonsistensi cair, tiga kali atau lebih dalam sehari) (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Markell, Voge dan John, 1992; WHO, 1997; Roberts dan Janovy, 2000).

Kondisi tersebut di atas, bila tidak dilakukan pemeriksaan serta terapi yang cepat dan tepat, akan menjadi lebih berat karena timbul disentteri amuba, yang sering disertai berbagai komplikasi, antara lain, *ameboma*, intusussepsi, striktura usus dan peritonitis. Terjadi pula penyebaran ke organ-organ ekstraintestinal yaitu ke hepar, paru, bahkan otak (Huston, Haque dan Petri, 1999; Espinosa-Cantellano dan Martinez-Palomo, 2000; Upcroft dan Upcroft, 2001; Dhawan, 2002).

Bersama tinja diare atau disenteri tersebut dapat keluar trofozoit *Entamoeba histolytica* (Neva dan Brown, 1994; Roberts dan Janovy, 2000; Eisen, 2001; Dhawan, 2002), karena itu untuk mengetahui ada tidaknya trofozoit *Entamoeba histolytica* pada usus, dilakukan pemeriksaan tinja secara mikroskopis (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994; Dhawan, 2002).

Pemeriksaan rutin tinja adalah pemeriksaan tinja secara mikroskopis yang direkomendasikan WHO sebagai indikator (pemeriksaan mikroskopis yang harus dilakukan sebelum pemeriksaan mikroskopis lebih lanjut) untuk deteksi infeksi protozoa, termasuk *Entamoeba histolytica*, dan dilakukan di laboratorium-laboratorium parasitologi serta pusat-pusat kedokteran tropis di seluruh dunia, adalah pemeriksaan mikroskopis dari tinja yang dibuat sediaan basah langsung dengan larutan garam fisiologis (*saline wet mount* atau *direct wet film*) (WHO, 1991; Neva dan Brown, 1994; Hiatt dan Markell, 1995; Fonte, Montalvo dan Alberti, 1998).

Metode pemeriksaan rutin tinja untuk deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica* ini dikenal sangat sulit (Burrows, 1965; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown 1994). Kesulitan tersebut karena satu-satunya pedoman deteksi adalah gerak *ameboid* yang khas, sedangkan gerak tersebut cepat pada trofozoit *Entamoeba histolytica* yang hidup. (Manson-Bahr dan Bell, 1986; WHO, 1991; Gonsalez-Ruis, Haque dan Aguirre, 1994).

Kesulitan lain adalah syarat bahwa tinja yang diperiksa dengan pemeriksaan rutin tinja, harus tinja diare yang baru sesaat dikeluarkan, karena trofozoit *Entamoeba histolytica* mudah dan cepat mengalami deteriorasi begitu berada di luar tubuh manusia, dan sering sudah rusak dan mati dalam waktu tiga puluh menit setelah keluar bersama tinja. Pada praktek sulit memeriksa segera tinja yang baru dikeluarkan, baik di

laboratorium rumah sakit maupun laboratorium umum, dengan demikian pemeriksaan rutin tinja dilakukan pada waktu yang tertunda (Burrows, 1965; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994).

Banyaknya komponen lain tinja juga semakin mempersulit penemuan dan pengamatan pergerakan khas tersebut (Burrows, 1965; Manson-Bahr dan Bell, 1986; WHO, 1991; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994).

Kondisi-kondisi tersebut menyebabkan hanya 10-20% spesimen tinja yang terdeteksi pada infeksi *Entamoeba histolytica* (baik untuk infeksi yang menimbulkan gejala diare atau disenteri yang disertai keluarnya trofozoit bersama tinja tersebut, maupun untuk infeksi yang belum menimbulkan gejala diare atau disenteri yang disertai dengan keluarnya kista bersama tinja) (Markell, Voge dan John, 1992).

Berdasarkan keadaan tersebut di atas, maka diperlukan suatu metode pemeriksaan mikroskopis tinja sebagai alternatif pemeriksaan rutin tinja, yang dapat mengatasi masalah-masalah yang terdapat dalam metode pemeriksaan rutin tersebut.

Larutan Mertiolat-Iodium-Formaldehida (MIF), adalah larutan yang telah dikenal dan digunakan pada pemeriksaan mikroskopis tinja, walaupun demikian bahan ini belum digunakan secara luas untuk deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica* dalam tinja diare, dan sampai saat ini belum ada penelitian mengenai efektifitas (keberhasilan dalam mencapai sasaran pemeriksaan) metode pemeriksaan tinja secara mikroskopis yang menggunakan larutan MIF untuk deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica* dalam tinja diare, berdasarkan persentase hasil pemeriksaan yang dinyatakan positif, oleh karena itu sangat penting untuk diadakan penelitian mengenai hal tersebut.

Diagnosis klinis amubiasis intestinalis jarang dilakukan, hal ini disebabkan: 1) pada kasus infeksi yang menimbulkan manifestasi klinis gastroenteritis non disenteri

dengan gejala diare, sukar dibedakan dari diare karena sebab lain, 2) pada kasus infeksi yang menimbulkan manifestasi klinis yang khas yaitu disenteri amuba, kondisi penderita biasanya *walking dysentery* (masih dapat melakukan aktivitas), sehingga kasus ini jarang dilaporkan. penderita berobat bila gejala memberat karena terjadi koeksistensi infeksi dengan bakteri (*Shigellae sp.*), dengan gejala disenteri yang sukar dibedakan dari disenteri basiler, 3) pemeriksaan mikroskopis yang dilakukan adalah pemeriksaan rutin tinja dengan larutan garam fisiologis, sedangkan untuk memenuhi syarat pemeriksaan tersebut bahwa tinja harus baru dikeluarkan sangat sulit (Burrows, 1965; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994).

Berdasarkan kondisi tersebut di atas, maka jika digunakan metode deteksi yang dapat mengatasi kekurangan pemeriksaan rutin tinja, antara lain dengan penggunaan larutan MIF, maka catatan diagnosis klinis amubiasis intestinalis juga akan meningkat. Hal ini diharapkan juga untuk deteksi pada infeksi yang belum menimbulkan gejala sama sekali, karena dengan menggunakan larutan MIF, *Entamoeba histolytica* lebih mudah ditemukan dengan pedoman morfologi yang khas.

## 1.2. Rumusan Masalah

1. Apakah benar pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF yang dilakukan segera setelah tinja dikeluarkan penderita, lebih efektif daripada pemeriksaan rutin tinja\*), untuk deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica* dalam tinja diare (berdasarkan persentase hasil pemeriksaan yang dinyatakan positif)?
2. Apakah benar pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF, yang dilakukan:
  - a. Pada waktu yang ditunda dua jam setelah tinja dikeluarkan penderita
  - b. Pada waktu yang ditunda 24 jam setelah tinja dikeluarkan penderitalebih efektif daripada pemeriksaan rutin tinja, untuk deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica* dalam tinja diare (berdasarkan persentase hasil pemeriksaan yang dinyatakan positif)?

\*) = Pemeriksaan rutin tinja adalah pemeriksaan tinja yang direkomendasikan oleh WHO (1991), yaitu pemeriksaan mikroskopis tinja yang baru dikeluarkan dengan dibuat sediaan langsung yang dibubuhi larutan garam fisiologis (*direct wet smear*).

## 1.3. Tujuan Penelitian

### 1.3.1. Tujuan Umum.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektifitas pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF untuk deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica* dalam tinja diare. berdasarkan persentase hasil pemeriksaan yang dinyatakan positif

### 1.3.2. Tujuan Khusus

1. Membuktikan bahwa pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF yang dilakukan segera setelah tinja dikeluarkan penderita, lebih efektif daripada pemeriksaan rutin tinja, untuk deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica* dalam tinja diare, berdasarkan persentase hasil pemeriksaan yang dinyatakan positif.
2. Membuktikan bahwa pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF, yang dilakukan:
  - a. Pada waktu yang ditunda dua jam setelah tinja dikeluarkan.
  - b. Pada waktu yang ditunda 24 jam setelah tinja dikeluarkan.lebih efektif daripada pemeriksaan rutin tinja, untuk deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica* dalam tinja diare, berdasarkan persentase hasil pemeriksaan yang dinyatakan positif.

### 1.4. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan menjadi langkah awal pengembangan kembali penggunaan larutan MIF dalam pemeriksaan mikroskopis untuk deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica* dalam tinja diare penderita gastroenteritis.



## Bab 2

### Tinjauan Pustaka

#### 2.1. *Entamoeba histolytica*

##### 2.1.1. Tata Nama

Roberts dan Janovy (2000) menyusun tata nama *Entamoeba histolytica* sebagai berikut:

Filum	:	Sarcodina
Subfilum	:	Amoebozoa/Rhizopoda
Kelas	:	Lobosea
Sub kelas	:	Gymnamoebia
Order	:	Amoebida
Suborder	:	Tubulina
Famili	:	Endamoebidae
Genus	:	Entamoeba
Spesies	:	<i>Entamoeba histolytica</i>

##### 2.1.2. Morfologi

Amuba adalah organisme bersel tunggal yang banyak ditemukan pada lingkungan, sebagian besar adalah parasit pada vertebrata selebihnya pada invertebrata. Hanya sedikit spesies amuba yang berhabitat pada usus manusia. *Entamoeba histolytica* telah diidentifikasi sebagai spesies amuba yang paling sering menginfeksi dan menyebabkan penyakit serta kematian pada manusia, yang berhabitat pada saluran dan

dinding usus manusia. (Faust, Russell dan Jung, 1974; Knight, 1982; Manson-Bahr dan Bell, 1986; Roberts dan Janovy, 2000; Upcroft dan Upcroft, 2001).

Infeksi *Entamoeba histolytica* dalam usus ditandai dengan trofozoit atau kista yang keluar bersama tinja manusia yang terinfeksi (Walderich, 1997; Pietrzak-Johnston, Bishop dan Wahlquist, 2000; Roberts dan Janovy, 2000; Dhawan 2002).

Trofozoit *Entamoeba histolytica* keluar bersama tinja cair, yaitu diare atau disenteri dari penderita yang secara klinis menderita gastroenteritis atau kolitis (Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994; Townes, 1997; Roberts dan Janovy, 2000).

Bentuk trofozoit merupakan bentuk vegetatif yang aktif dan dapat dibedakan dari trofozoit spesies amuba usus yang lain, baik dalam keadaan hidup, maupun dalam keadaan telah difiksasi, diawetkan dan diberi pewarnaan (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Neva dan Brown, 1994; Eichinger, 1997; WHO, 1997; Roberts dan Janovy, 2000).

Trofozoit *Entamoeba histolytica* yang hidup menampilkan pergerakan yang khas, yaitu progresif dan terarah, serta hanya dapat diobservasi pada tinja diare atau disenteri yang masih baru dikeluarkan, dan tidak tercampur bahan-bahan lain, antara lain urine penderita sendiri (Manson-Bahr dan Bell, 1986; WHO, 1991; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994).

Trofozoit ini berukuran 10 – 60  $\mu\text{m}$ , paling sering berukuran 15 sampai dengan 30  $\mu\text{m}$ , transparan, jernih tak berwarna, walaupun kadang-kadang dapat tampak sedikit kehijauan (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Neva dan Brown, 1994; WHO, 1997; Roberts dan Janovy, 2000).

Pada pengamatan dengan larutan garam fisiologis, dalam keadaan hidup, trofozoit tersebut senantiasa bergerak dengan menjulurkan pseudopodia yang dibentuk dari

ektoplasma, berbentuk panjang langsing seperti jari-jari, dan berujung tumpul (Crewe dan Haddock, 1985; Manson-Bahr dan Bell, 1986; Neva dan Brown, 1994; Roberts dan Janovy, 2000).

Sitoplasma bentuk trofozoit ini terdiri dari ektoplasma dan endoplasma, yang keduanya dapat dibedakan dengan jelas satu dengan yang lainnya (Manson-Bahr dan Bell, 1986; WHO, 1991; Neva dan Brown, 1994; Roberts dan Janovy, 2000).

Ektoplasma merupakan lapisan hialin lebar, jernih dan refraktil, terpisah dengan jelas dari endoplasmanya. Ektoplasma ini meliputi sekitar sepertiga dari tubuhnya (Manson-Bahr dan Bell, 1986; ; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994; Roberts dan Janovy, 2000).

Endoplasma kental (*viscous*) dan bergranula halus, biasanya tidak mengandung inklusi bakteri dan atau partikel-partikel asing, tetapi dapat berisi sel-sel darah merah, dalam keadaan demikian disebut sebagai trofozoit yang *erythrophagous* atau *hematophagous*, keadaan ini terjadi karena trofozoit *Entamoeba histolytica* telah menginvasi seluruh lapisan dinding usus besar (kolon) dari penderita, sehingga terjadi ulserasi, dan terjadi pula ingesti sel-sel darah merah penderita oleh trofozoit-tofozoit tersebut. Trofozoit *erythrophagous* atau *hematophagous* ini walaupun pada keadaan disenteri yang sangat berat, jarang ditemukan dalam jumlah melimpah pada tinja penderita (Faust, Russell dan Jung, 1974; Manson-Bahr dan Bell, 1986; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994; Roberts dan Janovy, 2000).

Trofozoit *Entamoeba histolytica* mempunyai satu buah inti sel, yang hampir tidak dapat diamati dengan sediaan basah langsung menggunakan larutan garam fisiologis, mungkin dapat tampak sebagai cincin granula yang halus (Davey dan Crewe, 1973; Manson-Bahr dan Bell, 1986; Neva dan Brown, 1994; Roberts dan Janovy, 2000).

Dalam *Basic Laboratory Methods in Medical Parasitology* (WHO, 1991) disebutkan bahwa pada sediaan langsung tinja baru menggunakan larutan garam fisiologis (*saline wet mount*), yang dapat diamati pada trofozoit *Entamoeba histolytica* adalah motilitas, sitoplasma yang khas, dan inklusi sel-sel darah merah jika ada, sedangkan inti sel tidak dapat diamati.

Bentuk trofozoit *Entamoeba histolytica* ini yang mempunyai daya invasi pada organ dan jaringan tubuh manusia yang diinfeksi (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Neva dan Brown, 1994; WHO, 1997; Roberts dan Janovy, 2000).

Pada sediaan yang menggunakan bahan fiksasi, struktur morfologi trofozoit *Entamoeba histolytica* yang terlihat adalah suatu masa berbatas jelas tetapi tidak teratur, dengan diameter rata-rata berkisar 12  $\mu\text{m}$  atau lebih, tampak jelas batas antara endoplasma dengan ektoplasma. Endoplasma dapat mengandung inklusi sel-sel darah merah, terdapat inti sel dengan kariosom sentral dan granula-granula kromatin perifer. Motilitas tidak dapat diobservasi lagi, karena trofozoit ini telah mati (Markell, Voge dan John, 1992).

Bentuk peralihan dari trofozoit ke kista disebut bentuk prakista *Entamoeba histolytica*, merupakan suatu sel bulat atau oval yang tidak berwarna, berukuran lebih kecil dari trofozoit, tetapi lebih besar dari kista (Faust, Russell dan Jung, 1974; Manson-Bahr dan Bell, 1986; Neva dan Brown, 1994; Roberts dan Janovy, 2000).

Bentuk prakista ini tidak mengandung inklusi-inklusi bahan makanan. Gerak pseudopodianya lamban, atau tidak progresif (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Neva dan Brown, 1994; Roberts dan Janovy, 2000).

Bentuk kista merupakan suatu masa bulat atau oval, biasanya sedikit asimetris. Diameter berukuran 10 sampai dengan 20  $\mu\text{m}$ , dengan dinding tebal sekitar 0,5  $\mu\text{m}$ ,

halus, dan refraktil (Crewe dan Haddock, 1985; Manson-Bahr dan Bell, 1986; Neva dan Brown, 1994; Roberts dan Janovy, 2000).

Sitoplasma kista muda berisi vakuola-vakuola glikogen, badan-badan kromatoid yang mengandung asam ribonukleat, asam deoksiribonukleat dan fosfat, yang lenyap bila kista tersebut matur. Kedua tipe dari inklusi sitoplasma tersebut dipercaya sebagai gudang makanan (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Neva dan Brown, 1994; Roberts dan Janovy, 2000).

Kista muda atau imatur mempunyai satu inti, yang berukuran sekitar sepertiga kista imatur tersebut. Kista matur yang infeksi, mempunyai empat buah inti berukuran kecil. Kista dengan satu sampai dengan empat buah inti ini yang keluar bersama tinja yang berbentuk (*formed*) (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Neva dan Brown, 1994; Roberts dan Janovy, 2000; Sodeman, 2003).

Pada sediaan yang menggunakan bahan fiksasi, kista tampak sebagai masa bulat atau oval berukuran diameter 10  $\mu\text{m}$  atau lebih, dengan dinding setebal sekitar 0,5  $\mu\text{m}$  yang halus. Terdapat satu sampai dengan empat buah inti sel pada kista, yang masing-masing mengandung kariosom dan kromatin perifer. Struktur khas pada inti sel tersebut adalah batang-batang kromatoid dengan ujung membulat atau persegi (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Markell, Voge dan John, 1992; Roberts dan Janovy, 2000; Sodeman, 2003).

### 2.1.3. Biologi, Fisiologi dan Siklus Hidup

*Entamoeba histolytica* bersifat parasit obligat, trofozoit hidup dan bermultiplikasi di dalam kripta-kripta pada lapisan mukosa usus besar manusia yang diinfeksi, nutrisi yang diambil adalah zat pati dan hasil sekresi mukosa usus. Trofozoit ini juga

mengadakan interaksi dalam metabolisme dengan bakteri-bakteri usus. Invasi trofozoit *Entamoeba histolytica* pada jaringan terjadi pada saat melakukan aktifitas hidrolisis terhadap sel-sel mukosa, dan pada saat menyerap zat-zat makanan, dengan bantuan enzim proteolisis yang dihasilkan (Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994; Roberts dan Janovy, 2000; Sodeman, 2003).

Trofozoit *Entamoeba histolytica* yang bersifat invasif ini dapat menimbulkan ulserasi sebagai akibat erosi pada dinding saluran intestinal, sering hingga mencapai lapisan submukosa dan pembuluh darah-pembuluh darah yang ada pada lapisan tersebut. Berawal dari tempat tersebut, trofozoit ini masuk dalam aliran darah menyebar ke bagian-bagian lain dari tubuh, antara lain ke hepar, paru, kulit, dan otak (Roberts dan Janovy, 2000; Montealegre, 2001).

Habitat *Entamoeba histolytica* adalah pada dinding dan lumen usus besar (*colon*), terutama pada regio sekal (*caecal*) dan sigmoidorektal (*sigmoidorectal*). Mereka membelah diri secara biner, inti sel membelah secara mitosis. Reproduksi juga dilakukan melalui formasi kista, dengan membentuk delapan *amebulae* atau amuba-amuba metakistik, setelah proses eksistasi (*excystation*) di dalam usus halus (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Neva dan Brown, 1994; Roberts dan Janovy, 2000; Sodeman, 2003).

Pembentukan kista esensial untuk transmisi, dan hanya kista matur berinti empat yang bersifat infeksi (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Neva dan Brown, 1994; Roberts dan Janovy, 2000; Sodeman, 2003). Trofozoit-trofozoit yang telah keluar bersama tinja diare atau disentri tidak dapat menjadi kista (Neva dan Brown, 1994; Roberts dan Janovy, 2000).





*Entamoeba histolytica* tumbuh baik pada kondisi dengan tekanan oksigen rendah dan anaerob serta pada suhu yang berkisar antara 35-37°C (Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994; Roberts dan Janovy, 2000; Upcroft dan Upcroft, 2001).

*Entamoeba histolytica* merupakan parasit dengan siklus hidup dan reproduksi yang sederhana, dan tidak memiliki inang perantara (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Cook, 1995; Roberts dan Janovy, 2000; Sodeman, 2003).

Daya tahan hidup trofozoit *Entamoeba histolytica* ini dalam tinja yang telah dikeluarkan sangat rendah. Begitu ke luar dari tubuh manusia, trofozoit tersebut sudah tidak dapat lagi memenuhi kebutuhan hidupnya, karena kelangsungan proses-proses metabolisme sangat bergantung pada habitatnya. Kondisi ini yang menyebabkan dalam waktu sekitar satu jam, dan seringkali paling lama tigapuluh menit berada di luar tubuh hospes, trofozoit ini telah mengalami deteriorasi bahkan mati (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994; Steiner, 1997; Roberts dan Janovy, 2000; Sodeman, 2003).

Ketahanan hidup di luar tubuh hospes tergantung pada daya tahan kista dari kerusakan, yang dapat mencapai beberapa bulan pada kondisi yang menguntungkan. Dalam kondisi yang tidak menguntungkan kista bahkan masih dapat bertahan hingga semalam dari saat tinja dikeluarkan (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Steiner, 1997; Roberts dan Janovy, 2000; Sodeman, 2003).

Infeksi didapatkan dengan tertelannya kista *Entamoeba histolytica* matur, melalui kontaminasi tinja pada makanan atau air minum, melalui jari-jari tangan, lalat (*Musca domestica*), kecoa, dan tikus. Kista kemudian masuk ke dalam saluran pencernaan, dan saat mencapai kolon, telah menjadi trofozoit. Selanjutnya dapat tetap berupa trofozoit dan keluarnya bersama-sama tinja yang cair (diare atau disentri), atau menjadi kista



kembali, dan keluar bersama-sama dengan tinja yang berbentuk (*formed*) (Neva dan Brown, 1994; Sachdev, 1997; Roberts dan Janovy, 2000; Upcroft dan Upcroft, 2001).

#### 2.1.4. Epidemiologi

Insiden sebenarnya dari infeksi *Entamoeba histolytica* di berbagai penjuru dunia, belum dan sulit diketahui dengan pasti. Survei menunjukkan bahwa insiden infeksi bervariasi dari 0,2% sampai dengan 50% dan secara langsung berhubungan dengan sanitasi setempat, terutama yang sangat buruk adalah di daerah beriklim tropis dan subtropis (Neva dan Brown, 1994; Roberts dan Janovy, 2000). Di Amerika Serikat prevalensi amubiasis usus diestimasikan sebesar 4% (Division of Epidemiology and Immunization, 2001).

Prevalensi infeksi ini sangat besar pada penduduk yang bermukim pada daerah-daerah yang padat, daerah urban pada negara-negara berkembang yang mengalami degradasi ekonomi, terlebih dengan sarana toilet dan fasilitas sanitasi yang tidak atau kurang memadai, termasuk Indonesia (Neva dan brown, 1994; Omar dan Mahfouz, 1995; Telles, 1997; Roberts dan Janovy, 2000).

*Entamoeba histolytica* banyak ditemukan pada negara-negara miskin dan kondisi ini merefleksikan sistem sanitasi yang buruk (Jinda dan Arora, 1995; Meropol, 1995; Monge, 1996; Giacometti, 1997; Sodeman, 2003), walaupun *Entamoeba histolytica* ditemukan pada segala iklim, arktik (daerah kutub) hingga tropis (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Sodeman, 2003).

Dalam suatu keluarga, jika salah satu anggota keluarga terinfeksi parasit ini, maka kemungkinan besar anggota keluarga yang lain juga terinfeksi meskipun belum tentu menampilkan atau mengeluhkan gejala apapun. Penderita yang demikian itu merupakan

*cyst passer* (karier sehat), dan merupakan sumber infeksi atau penyebar penyakit, karena bersama tinja dapat keluar bejuta-juta kista (Neva dan Brown, 1994; Townes, 1997; Roberts dan Janovy, 2000).

Resiko pria dan wanita untuk terjangkit infeksi usus oleh *Entamoeba histolytica* tidak berbeda, demikian pula dengan ras (Faust, Russell dan Jung, 1974; Roberts dan Janovy, 2000; Swords dan Cantey, 2002).

Usia anak-anak di bawah dua tahun, hingga anak-anak usia prasekolah, terutama dari golongan ekonomi lemah di daerah tropis, merupakan kelompok resiko tertinggi untuk terinfeksi dan menderita manifestasi amubiasis usus dengan keadaan klinis yang berat (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Meropol, 1995; Frey, 2002; Swords dan Cantey, 2002). Manifestasi pada anak-anak, sama dengan pada orang dewasa, dapat dengan gejala yang patognomonis (disenteri amuba), maupun yang tidak khas (diare), dan dapat timbul pula berbagai komplikasi. (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Neva dan Brown, 1994; Townes, 1997; Dhawan, 2002).

## **2.2. Penyakit yang Ditimbulkan oleh *Entamoeba histolytica***

*Entamoeba histolytica* menyebabkan amubiasis, yang merupakan penyakit akibat infeksi parasit protozoa yang menyebabkan kematian terbesar kedua di dunia setelah malaria, karena setiap tahun menyebabkan kematian lebih dari 100.000 penduduk dunia (WHO, 1997; Roberts dan Janovy, 2000; Dhawan, 2002).

Penyakit amubiasis yang paling sering ditimbulkan *Entamoeba histolytica* dikenal sebagai amubiasis usus (amubiasis intestinalis), selain itu juga dapat terjadi pula amubiasis ekstraintestinalis. (Manson-Bahr dan Bell, 1986; WHO, 1997; Nace, Steurer

dan Eberhard, 1999; Ghosh, Frisardi dan Ramirez-Avila, 2000; Upcroft dan Upcroft, 2001).

Onset amubiasis intestinalis bersifat tersembunyi (*insidious*), dapat tanpa gejala sama sekali hingga timbul manifestasi gastroenteritis ataupun kolitis yang gejala klinisnya berupa diare sampai dengan disentri. Seringkali pula disertai komplikasi-komplikasi (Neva dan Brown, 1994; Palau, 1997; Roberts dan Janovy, 2000; Sodeman, 2003).

### 2.2.1. Patologi dan Patogenesis

*Entamoeba histolytica* bentuk kista segera mengalami eksistasi (*excystation*) menjadi bentuk trofozoit pada usus halus. Trofozoit ini kemudian menuju ke usus besar dan melakukan perlekatan dengan dinding usus besar (kolon). Kemudian trofozoit tersebut segera melakukan aktivitas penyerapan zat-zat makanan dan mengeluarkan enzim proteolisis yang menginduksi apoptosis sel-sel mukosa usus besar. Perlekatan dan aktifitas inilah yang diduga menyebabkan diare, karena terjadi erosi mukosa, dan dengan adanya “benda asing” tersebut, mukosa kolon akan berusaha untuk mengeliminasi dengan memperbanyak sekresi (Guyton, 1991; Markell, Voge dan John, 1992; Mirelman, Katz dan Libros, 2002; Swords, 2002). Diare diduga pula disebabkan adanya aktifitas trofozoit yang dapat menghasilkan suatu zat yang bersifat enterotoksik yang hingga saat ini masih belum jelas, dan masih diteliti lebih lanjut (Markell, Voge dan John, 1992; Mirelman, Katz dan Libros, 2002).

Pada saat menyerap zat-zat makanan itu, trofozoit *Entamoeba histolytica* juga dibantu oleh suatu enzim proteolisis (*GalNac lectin dan cystein proteinase*), yang ternyata menyebabkan kerusakan epitel kolon dengan menginduksi kematian sel-sel

mukosa kolon melalui mekanisme apoptosis. Dari aktifitas enzim proteolisis tersebut, dimulailah invasi trofozoit pada usus besar (Stanley, 2001; Kauffman, Sher dan Ahmed, 2002; Swords dan Cantey, 2002).

Lesi yang diakibatkan invasi *Entamoeba histolytica* timbul terutama pada sekum (*caecum*), umbai cacing (*appendix*), atau kolon (*colon*) bagian atas yang beraliran lambat, rektosigmoid (*rectosigmoid*), kemudian menyebar ke seluruh kolon. Sebagian kecil lesi terjadi pada *ileum terminale* (Neva dan Brown, 1994; Roberts dan Janovy, 2000; Sodeman, 2003).

Pada proses ulserasi, trofozoit juga bermultiplikasi, sehingga bertambah banyak. Peningkatan jumlah trofozoit ini secara langsung menyebabkan peningkatan kecepatan destruksi mukosa usus (Manson-Bahr dan Bell, 1986, Neva dan brown, 1994; Roberts dan Janovy, 2000).

Lapisan muskularis mukosa merupakan dasar dari lesi. Trofozoit *Entamoeba histolytica* dapat ditemukan pada permukaan lapisan dasar itu. Bagian dasar lesi tersebut berhubungan dengan lumen usus melalui suatu ulkus yang sempit. Dengan demikian lesi primer berbentuk seperti botol yaitu lesi pada permukaan sempit dan meluas pada bagian dasarnya. Kondisi ini khas karena lesi berhenti pada membrana basalis dari lapisan muskularis mukosa dan meluas ke arah lateral, sehingga bagian dasar menjadi lebih luas tetapi dangkal, serta mengalami nekrosis (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Neva dan Brown, 1994; Roberts dan Janovy, 2000; Stanley, 2001).

Tanda-tanda peradangan pada lesi-lesi akibat invasi trofozoit tersebut secara histologis sangat ringan bila tidak disertai dengan invasi bakteri, hal ini disebabkan mekanisme pembentukan lesi tersebut adalah dengan mengadakan stimulasi apoptosis sel-sel mukosa usus besar. Apoptosis ini merupakan mekanisme pengendalian jumlah

sel-sel yang memang rutin dilakukan oleh sel-sel tubuh itu sendiri, karenanya tidak mendapatkan suatu respon imun dari tubuh, baik seluler maupun humoral (Roberts dan Janovy, 2000; Kauffman, Sher dan Ahmed, 2002).

Pada lesi-lesi yang telah terbentuk lama, sering diikuti oleh invasi bakteri yang patogenik, sehingga menyebabkan kerusakan lapisan muskularis mukosa, dengan demikian trofozoit *Entamoeba histolytica* menginfiltrasi lapisan submukosa, dan dapat menembus ke dalam lapisan otot-otot serta lapisan serosa. Kondisi inilah yang memungkinkan trofozoit masuk kedalam aliran darah dan limfe, dan menyebar ke tempat-tempat lain di luar usus, kemudian menimbulkan lesi-lesi sekunder pada organ-organ tubuh yang lain (Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994; Rudra-Patna, 1997; Roberts dan Janovy, 2000).

Biasanya lesi infeksi *Entamoeba histolytica* pada kolon akan menimbulkan respon granulomatus pada bagian yang mengalami ulserasi. Keadaan ini merupakan *pseudotumor*, dan disebut sebagai *ameboma*, yang merupakan pemicu terjadinya intususepsi atau obstruksi usus (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Neva dan Brown, 1994; Roberts dan Janovy, 2000; Sodeman, 2003). Masa tersebut merupakan hasil respon seluler terhadap ulserasi yang bersifat kronis, dan di dalam masa itu tetap terkandung trofozoit *Entamoeba histolytica* (Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994; Roberts dan Janovy, 2000).

Lesi sekunder didapatkan pada organ-organ tubuh yang berdekatan dengan usus. Dalam hal ini, lesi sekunder pada hepar adalah yang paling sering. Lesi pada hepar ini terjadi karena trofozoit masuk ke dalam venul-venul mesenterika dan kemudian mengikuti aliran darah portal hati. Sepanjang perjalanan itu, trofozoit-trofozoit juga menghancurkan dinding kapiler-kapiler portal, sehingga dapat masuk pula ke dalam

sinusoid-sinusoid dan memulai pembentukan abses. Abses yang dibentuk bersifat steril (bebas dari bakteri), namun bila abses ini pecah maka akan mengeluarkan debris, dan trofozoit ke dalam rongga tubuh, yang kemudian menyerang organ-organ tubuh yang lain (Lee dan Yamazaki, 1996; Roberts dan Janovy, 2000).

Penyebaran invasi trofozoit *Entamoeba histolytica* sering pula mengenai paru, yang biasanya merupakan akibat dari pecahnya abses pada hepar yang telah lebih dahulu diinvasi (Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994; Roberts dan Janovy, 2000). Paru dapat mengalami atelektasis dan konsolidasi. Abses hepar yang dekat sekali dengan diafragma dapat menstimulasi efusi pleura (Neva dan Brown, 1994; Lyche, 1997; Sodeman, 2003). Infeksi pleura, paru, dan perikardial merupakan akibat langsung penyebaran dari invasi pada hepar (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Roberts dan Janovy, 2000; Sodeman, 2003).

Organ-organ tubuh lain yang sering pula diinvasi secara sekunder adalah otak, kulit dan penis. Meskipun jarang, penyebaran invasi dapat pula mengenai ginjal, kelenjar adrenalin, limpa dan genitalia wanita. Abses-abses yang terbentuk pada organ-organ tubuh tersebut juga bersifat steril dari bakteri (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Martinez-Garcia, 1996; Nopdonrattakoon, 1996; Fatkenheuer dan Arnold, 1997; Palau, 1997; Rudra-Patna, 1997; Roberts dan Janovy, 2000; Sodeman, 2003).

Aktifitas invasi amuba ini tergantung pada:

- daya tahan tubuh manusia yang diinfeksi
- virulensi dan daya invasi amuba
- kondisi saluran cerna (Neva dan Brown, 1994; Sodeman, 2003; Swords dan Cantey, 2002).



Aktifitas invasi tersebut juga difasilitasi oleh:

- diet kaya karbohidrat
- jejas kimia dan mekanik pada mukosa saluran cerna
- stasis pada saluran cerna
- kandungan flora bakteri dalam saluran cerna (Neva dan Brown, 1994; Roberts dan Janovy, 2000; Sodeman, 2003).

### 2.2.2. Simtomatologi

Manifestasi klinis pada infeksi *Entamoeba histolytica* bervariasi, bergantung pada lokasi yang terinfeksi serta berat infeksi. Infeksi dapat asimtomatis, keadaan ini disebut pula sebagai karier sehat, yang mengeluarkan berjuta-juta kista infeksiif bersama tinja, yang merupakan hasil multiplikasi trofozoit di dalam lumen usus (WHO, 1969; Manson-Bahr dan Bell, 1986; Neva dan Brown, 1994; Roberts dan Janovy, 2000).

Infeksi *Entamoeba histolytica* pada usus yang simtomatis, memberikan gejala gastroenteritis atau kolitis non disenteri yang tidak khas tetapi lebih sering terjadi dengan ditandai terjadinya diare, ataupun gastroenteritis (kolitis) disenteri yang patognomonis tetapi jarang, dan dapat pula bersama-sama infeksi bakteri, jamur, maupun parasit lain (WHO, 1969; Manson-Bahr dan Bell, 1986; Markell, Voge dan John, 1992; Sodeman, 2003; Dhawan, 2002).

Infeksi usus akut oleh *Entamoeba histolytica* periode inkubasinya dari satu sampai dengan 14 (empat belas) minggu, rata-rata sekitar delapan sampai dengan sepuluh hari, atau dapat terjadi tiba-tiba setelah sekian lama penderita merupakan karier sehat. (Fatkeheuer, Arnold dan Steffen, 1997; Espinosa-Cantellano dan Martinez-Palomo, 2000; Upcroft dan Upcroft, 2001; Dhawan, 2002).



Gastroenteritis atau kolitis non disenteri karena infeksi *Entamoeba histolytica* memberi gejala yang tidak khas yaitu berupa diare, ditandai dengan frekuensi buang air besar menjadi lebih dari biasanya (normalnya manusia berdefekasi satu sampai dengan dua kali sehari), yaitu tiga kali sehari atau lebih, dan konsistensi tinja yang dikeluarkan cair (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Goldsmith dan Heyneman, 1989; Markell, Voge dan John, 1992; Dhawan, 2002; Hadi, 2002).

Diare akut pada amubiasis usus ini biasanya timbul secara bergradasi, onset dapat ditandai dengan adanya riwayat nyeri perut selama sekitar satu sampai dengan dua minggu, tenesmus, hingga timbul diare tersebut. Tinja yang dikeluarkan biasanya berair (*watery diarrhea*) dan mungkin bersama lendir dan juga darah, walaupun hal tersebut bukan merupakan hal yang penting untuk menegakkan diagnosis, sedangkan masa tinja bisa banyak atau sedikit, serta jarang disertai demam (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Markell, Voge dan John, 1992; Roberts dan Janovy, 2000).

Gejala yang mula-mula ringan tersebut dapat menjadi gejala intensif yang berkepanjangan, sesuai dengan perubahan mukosa yang terjadi (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Markell, Voge dan John, 1992; Roberts dan Janovy, 2000; Sodeman, 2003). Erosi mukosa menyebabkan terjadinya diare, dan diare ini menghebat seiring dengan berat dan kedalaman perubahan mukosa (Markell, Voge dan John, 1992; Roberts dan Janovy, 2000; Sodeman, 2003; Dhawan, 2002).

Gejala juga dipengaruhi oleh lokasi usus yang terinfeksi. Semakin distal lokasi lesi pada kolon, semakin berat pula gejala klinis yang ditimbulkan; lesi kecil pada rektum lebih sering menimbulkan gejala daripada lesi yang lebih luas tetapi terletak pada kolon (Sodeman, 2003).

Keadaan-keadaan tersebut di atas bila tidak didiagnosis serta diterapi dengan cepat dan tepat, akan mengarah pada timbulnya gastroenteritis atau kolitis disenteri dengan komplikasi yang fatal (Markell, Voge dan John, 1992; Roberts dan Janovy, 2000; Dhawan, 2002).

Roberts dan Janovy (2000) mengklasifikasikan kasus gastroenteritis atau kolitis karena infeksi *Entamoeba histolytica* berdasarkan tanda dan gejala klinisnya sebagai berikut:

Mula-mula diare yang bersifat *intermittent*, kram pada abdomen, muntah, dan terjadi kelemahan umum. Kondisi ini tergantung pada jumlah dan distribusi lesi usus, dan perkembangannya dapat menjadi diare yang semakin berat, dehidrasi, serta dapat pula terjadi kehilangan darah. Diare yang ringan biasanya terjadi empat sampai dengan enam kali sehari, dan disertai rasa tidak enak pada abdomen. Keadaan yang lebih berat menyebabkan diare mencapai 15 sampai dengan 20 kali dalam sehari.

Manifestasi akut amubiasis usus yang khas yaitu gastroenteritis atau kolitis disenteri berat, ditandai dengan mengeluarkan banyak tinja cair, dengan jumlah masa (ampas) tinja setiap keluar sedikit-sedikit, mengandung sejumlah besar darah berwarna merah gelap, atau sama sekali sudah tidak ada masa tinja, dan tergantikan sepenuhnya oleh darah tersebut di atas, bisa terdapat nanah, bisa terdapat lendir yang berserabut dengan jumlah tidak banyak, dan kumpulan jaringan-jaringan nekrotik, tinja berbau khas anyir dan busuk yang tajam atau menyengat, yang bukan merupakan bau tinja biasanya (WHO, 1969; Manson-Bahr dan Bell, 1986; Jeffrey dan Leach, 1991; Sodeman, 2003). Keadaan ini dapat terjadi langsung atau dimulai dari keadaan yang lebih ringan, yang disebut *pre-existing disease* (WHO, 1969; Sodeman, 2003; Dhawan, 2002).

Keadaan berat ini disertai nyeri abdomen akut dan *tenderness*, kram abdomen yang berat, serta adanya demam dengan suhu tubuh 38-39° C (pada disenteri yang masih ringan biasanya tanpa disertai demam), nyeri kepala, dan dapat disertai *tenesmus* (rasa tidak enak hingga nyeri, disertai rasa terus-menerus ingin buang air besar pada daerah anus). Dehidrasi, toksemia, serta kelemahan dan keadaan umum yang sangat buruk juga terjadi. Pada darah tepi terjadi leukositosis yang berkisar antara 7000 sampai dengan 20 ribu tiap millimeter kubik darah disertai eosinofilia, terjadi pula abnormalitas elektrolit, dan trofozoit *Entamoeba histolytica* didapatkan pada tinja penderita (WHO, 1969; Balows dan Hausler, 1982; Neva dan Brown, 1994; Espinosa-Cantellano dan Martinez-Palomo, 2000). Buang air besar disenteri ini dapat terjadi antara 15 sampai dengan 20 kali sehari (Markell, Voge dan John, 1992; Roberts dan Janovy, 2000; Dhawan, 2002).

Manson-Bahr dan Bell (1986) membedakan disenteri amuba dari disenteri basiler sebagai berikut:

Tabel 2.1. Diagnosis banding disenteri amuba dengan disenteri basiler

Disenteri karena infeksi <i>Entamoeba histolytica</i>	Disenteri Basiler
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Merupakan penyakit endemik, kronis: <i>Walking dysentery</i></li> <li>- Periode inkubasi lama: 20-90 hari atau lebih</li> <li>- Onsetnya <i>insidious</i></li> <li>- Febris merupakan komplikasi yang jarang terjadi</li> <li>- Komplikasi: abses pada hepar dan organ-organ tubuh yang lain, amubiasis kulit, perforasi</li> <li>- Terjadi <i>tenderness</i> lokal pada daerah sigmoid, sering terjadi penebalan pada sigmoid, kolon transversum serta sekum</li> <li>- Ulserasi berawal dari abses kecil pada submukosa yang berjalan searah sumbu panjang dari usus; berbentuk seperti botol</li> <li>- Ulkus berbentuk oval, bertepi teratur, meluas pada setiap lapisan dinding usus; dasarnya merupakan suatu jaringan nekrotik yang berwarna gelap, dan merupakan lapisan yang lekat (<i>Dyak-hair slough</i>). Tidak jarang mengalami perforasi</li> <li>- Membrana mukosa tidak mengalami inflamasi. Terjadi penebalan dinding usus</li> <li>- Tinja keluar bersama darah dan lendir, banyak, berbau khas seperti darah yang membusuk. Pada umumnya terjadi berulang</li> <li>- Pada umumnya jarang terjadi <i>tenesmus</i></li> <li>- Gambaran mikroskopis tinja: terdapat banyak sel-sel darah merah dan terdapat dalam tumpukan-tumpukan, tidak banyak terdapat sel-sel polimorfonuklir dan makrofag. Terdapat baksil-baksil yang bergerak cepat dalam jumlah besar. Terdapat trofozoit yang <i>hematophagous</i> dari <i>Entamoeba histolytica</i></li> <li>- Terjadi lekositosis 10.000-25.000, dengan dominasi sel-sel polimorfonuklir sebanyak 70%</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Penyakit yang bersifat akut dengan tendensi terjadi penyebaran secara epidemik: <i>Lying-down dysentery</i></li> <li>- Periode inkubasi singkat: tujuh hari atau kurang</li> <li>- Onsetnya akut</li> <li>- Pada umumnya terjadi febris</li> <li>- Komplikasi: arthritis toksik, komplikasi pada mata</li> <li>- <i>Tenderness</i> pada seluruh daerah abdomen, terutama di sekitar daerah sigmoid</li> <li>- Ulserasi terjadi pada sudut bebas dari lapisan transversal membrana mukosa, berdistribusi secara transversal pada sumbu panjang usus</li> <li>- Ulkus tidak berbatas jelas dan tidak rata yang menyebabkan dapat terjadinya penyatuan dengan ulkus yang lain; dasarnya merupakan jaringan granulasi. Jarang terjadi perforasi</li> <li>- Membrana mukosa hiperemi dan mengalami inflamasi. Tidak terjadi penebalan dinding usus</li> <li>- Tinja sedikit secara kuantitatif, tetapi sangat sering frekuensinya; disertai darah yang berwarna merah cerah, lendir yang kental seperti gelatin, tidak berbau, berupa jeli merah</li> <li>- Terjadi <i>tenesmus</i> yang sangat berat</li> <li>- Gambaran mikroskopis tinja: terdapat sel-sel darah merah yang terpisah-pisah dalam jumlah besar, terdapat sel-sel polimorfonuklir yang melimpah, sejumlah makrofag. Hanya sedikit bakteri yang terlihat</li> <li>- Terjadi lekositosis pada tahap-tahap awal</li> </ul>

Jeffrey dan Leach (1991) membedakan disenteri karena infeksi *Entamoeba histolytica* dari Sigelosis sebagai berikut:

Tabel 2.2. Diagnosis banding penampilan tinja secara makroskopis dan mikroskopis pada disenteri amuba dengan disenteri basiler (*shigellosis*)

Amubiasis karena infeksi <i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Shigellosis</i>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Maroskopis: selalu mengandung masa tinja, lendir tidak liat dan tidak banyak jumlahnya</li> <li>- Mikroskopis: terdapat banyak bakteri, sel nanah terdapat dalam jumlah sedikit dan tidak mengalami degenerasi, terdapat sel-sel darah merah yang saling bertumpuk, makrofag besar bukan merupakan ciri khas, mungkin terdapat kristal <i>Charcot-Leyden</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Makroskopis: mungkin tidak terdapat masa tinja, hanya terdapat darah dan lendir yang liat dan banyak pada stadium akut</li> <li>- Mikroskopis: dapat terlihat adanya sedikit bakteri, terdapat sangat banyak sel-sel nanah yang mengalami degenerasi, terdapat sel-sel darah merah yang tersebar, mungkin bisa terdapat banyak makrofag besar, dan mungkin makrofag besar itu berisi sel-sel darah merah, tidak ada kristal <i>Charcot-Leyden</i></li> </ul>

Kriteria WHO untuk amubiasis usus yang ditetapkan pada tahun 1969, tetapi sampai sekarang masih diakui relevansinya dan digunakan sebagai pedoman diagnosis klinis amubiasis, adalah sebagai berikut (Markell, Voge dan John, 1992; Sodeman, 2003; Swords dan Cantey, 2002):

I. Infeksi asimtomatis: disebut *cyst passer* atau karier sehat (belum timbul manifestasi klinis)

II. Infeksi simtomatis:

A. Disenteri amuba

Buang air besar dengan mengeluarkan banyak tinja cair dengan masa tinja yang jelas walaupun sedikit setiap kali keluar, bersama sejumlah besar darah berwarna merah gelap, dan lendir berserabut yang berjumlah tidak banyak, serta kumpulan jaringan-jaringan nekrotik, berbau khas anyir dan

busuk yang tajam atau menyengat yang bukan bau tinja biasa, dengan frekuensi 12 kali sehari atau lebih. Pada umumnya terjadi demam dan dapat sampai menggigil, dan sering disertai rasa tidak enak sampai dengan rasa nyeri pada perut, *tenderness* daerah sigmoidorektal, serta *tenesmus*. Gejala penyerta lain yang mungkin ada adalah perut terasa kaku atau kram kembung, anus terasa sakit saat dan setelah buang air besar, tidak nafsu makan, berat badan turun, dapat terjadi dehidrasi dan kelemahan badan secara umum.

#### B. Kolitis non disenteri

Gejala klinis yang timbul adalah diare, yaitu buang air besar cair dengan masa tinja sedikit atau banyak. Diare dapat ringan, tanpa lendir dan atau darah, atau hanya ada sedikit lendir yang dapat berwarna sedikit kemerahan (*flecks of blood-tinged mucus*), sampai dengan diare yang bercampur lendir dan darah dalam jumlah banyak. Pada umumnya tidak disertai demam, atau demam hanya sampai 39°C. Dapat disertai rasa tidak enak sampai dengan nyeri perut bagian bawah, *tenderness* daerah *sigmoidorectal* dan *tenesmus*. Gejala penyerta lain yang mungkin ada adalah perut terasa kaku atau kram kembung, anus terasa sakit saat dan setelah buang air besar, tidak nafsu makan, bahkan dapat sampai mengalami penurunan berat badan, dehidrasi dan kelemahan badan secara umum, dapat pula diselingi rasa sulit buang air besar (konstipasi). Selain bersifat akut, diare dapat bersifat kronis (berlangsung lebih dari dua minggu).



Beberapa orang ahli dan peneliti, di antaranya Li dan Stanley (1996), Martinez-Garcia, 1996, Nopdonrattakoon (1996), Anand, Reddy dan Saiprasad (1997), Braunwald (2001) serta Dhawan dan rekan-rekan (2002), menyebutkan bahwa infeksi oleh trofozoit *Entamoeba histolytica* pada usus dapat pula disertai komplikasi-komplikasi, yaitu perforasi usus, intususepsi, striktura kolon, *ameboma*, *ileus*, peritonitis, fistula kolokutaneus, ulserasi perianal, infeksi urogenital, serta komplikasi dan penyebaran pada hepar, paru dan otak. Infeksi yang menetap atau berkepanjangan dapat menimbulkan gangguan psikoneurosis (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Goldsmith dan Heyneman, 1989; King, 1995; Espinosa-Cantellano dan Martinez-Palomo, 2000; Dhawan, 2002).

### 2.2.3. Terapi

Terapi untuk infeksi *Entamoeba histolytica* yang direkomendasikan adalah sebagai berikut:

Terapi pada disenteri berat:

- Tirah baring secara total
- Makan makanan halus dengan protein, vitamin dan cairan yang banyak
- Bisa direkomendasikan sedativa untuk memudahkan istirahat total
- Perbaiki keadaan umum (infus cairan, transfusi darah dan obat simtomatis)
- Pemberian kemoterapi perlu pada:
  - Gejala serangan akut
  - Untuk destruksi trofozoit pada mukosa dan lumen usus, dan
  - Untuk mengontrol infeksi sekunder oleh bakteri



- Obat pilihan pada amebiasis usus yang berat adalah *Metronidazole (Flagyl)*

(WHO, 1990; Neva dan Brown, 1994; Freeman, 1997; Sodeman, 2003).

Infeksi intestinal oleh *Entamoeba histolytica* yang simptomatis, sangat berhasil diobati dengan *Metronidazole per oral*, yang diberikan tiga kali sehari, dosis yang diberikan setiap kali adalah 750 mg, dengan lama pemberian sepuluh hari untuk dewasa. Dapat juga diberikan tiga kali sehari *per oral*, dengan dosis 500-1000 mg setiap kali (tersedia satu tablet berdosis 250 mg atau satu tablet berdosis 500 mg), dengan lama pemberian tujuh sampai dengan sepuluh hari (Bagian Penyakit dalam RSUD dr. Soetomo, 1994). Untuk anak-anak diberikan sebanyak 40 mg/kg/hari *per oral*, dibagi dalam tiga kali pemberian per hari, selama sepuluh hari (Sodeman, 2003). WHO (1990) merekomendasikan pemberian obat tersebut baik untuk dewasa maupun anak-anak dengan dosis 30 mg/kg/hari *per oral*, yang dibagi dalam tiga kali pemberian per hari, selama delapan sampai dengan sepuluh hari.

Penderita yang tidak bisa menggunakan *Metronidazole* dapat diberi antibiotika dengan spektrum luas selama dua minggu, walaupun tidak efektif untuk melenyapkan *Entamoeba histolytica* dari usus (WHO, 1990; Sodeman, 2003).

Terdapat dua pilihan medikamentosa untuk melenyapkan *Entamoeba histolytica* dari lumen usus: *Iodoquinol* dengan dosis 650 mg *per oral* setiap kali, diberikan tiga kali sehari, dengan lama pemberian 20 hari untuk dewasa, atau *Diloxanide furoate* dengan dosis 500 mg *per oral* setiap kali, diberikan tiga kali sehari, dengan lama pemberian sepuluh hari untuk dewasa (Sodeman, 2003). Untuk anak-anak diberikan *Diloxanide furoate* dengan dosis 20 mg/kg/hari *per oral*, dibagi dalam tiga kali pemberian per hari, selama sepuluh hari (WHO, 1990).

Rekomendasi obat untuk amubiasis intestinalis karena infeksi *Entamoeba histolytica* menurut WHO (1990) adalah:

*Metronidazole*, 30 mg/kg per hari *per oral* atau intravena, selama 8-10 hari.

*Tinidazole*, 2 g per hari *per oral*, selama tiga hari.

*Ornidazole*, 2 g per hari *per oral*, selama 10 hari.

*Secnidazole*, 2 g *per oral*, dosis tunggal.

Perlu juga dipikirkan untuk memberikan terapi medikamentosa pada karier sehat. Terapi yang direkomendasikan untuk karier sehat adalah pemberian amebisida luminal, yaitu *Diloxanide furoate* dengan aturan pemberian yang sama dengan untuk infeksi akut yang simptomatis (WHO, 1990).

Terapi bergantung pada medikamentosa, tetapi hingga saat ini tidak ada obat tunggal yang dapat mengeradikasi *Entamoeba histolytica* secara total dari saluran pencernaan, sehingga selalu dilakukan terapi kombinasi (Bhopale dan Pradhan, 1995; Sodeman, 2003).

#### 2.2.4. Prevensi

Pencegahan dilakukan dengan memperhatikan bahwa manusia merupakan faktor utama terjadinya infeksi, maka semua infeksi harus mendapatkan terapi dan pemeriksaan pada individu-individu yang mengadakan kontak dengan penderita maupun karier sehat (Neva dan Brown, 1994; Public Health Division, 1999; Roberts dan Janovy, 2000; Sodeman, 2003).

(Neva dan Brown, 1994; Public Health Division, 1999; Roberts dan Janovy, 2000; Sodeman, 2003).

Pembuangan tinja dan penggunaan toilet secara baik dan benar juga merupakan salah satu bentuk pelaksanaan sanitasi perorangan dan lingkungan secara efektif (Neva dan Brown, 1994; Sodeman, 2003).

Selain itu, yang juga perlu dan penting dilakukan untuk pencegahan adalah memasak air minum dan makanan secara benar, serta tidak lupa menutup makanan dan minuman yang telah masak tersebut dengan baik, supaya tidak terjadi kontaminasi dengan bentuk infeksi *Entamoeba histolytica*, yaitu kista (Neva dan Brown, 1994; Roberts dan Janovy, 2000).

### 2.3. Diagnosis Laboratoris

Diagnosis laboratoris infeksi *Entamoeba histolytica* pada usus adalah pemeriksaan tinja secara mikroskopis (Cable, 1968; Neva dan Brown, 1994; Roberts dan Janovy, 2000; Dhawan, 2002).

#### 2.3.1. Pemeriksaan rutin tinja

Pemeriksaan mikroskopis tinja yang dikatakan sebagai pemeriksaan indikator untuk dugaan infeksi *Entamoeba histolytica*, dan hingga saat ini direkomendasikan oleh WHO, yang secara luas dilakukan di berbagai laboratorium kesehatan di seluruh dunia, adalah pemeriksaan mikroskopis pada tinja yang dibuat sediaan basah langsung, dengan dibubuhi larutan garam fisiologis pada permukaan kaca obyektif (*saline mount* atau *direct wet film*). Pemeriksaan ini dikenal sebagai pemeriksaan rutin tinja (WHO, 1991; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994).

Dalam tinja yang diperiksa tersebut harus ditemukan *Entamoeba histolytica*, di laboratorium rumah sakit maupun laboratorium rujukan, hal ini sukar dilakukan, karena pemeriksaan mikroskopis harus dilakukan segera pada sampel dari tinja yang baru dikeluarkan, agar dapat teramati trofozoit *Entamoeba histolytica* hidup dan menampilkan pergerakan khas (WHO, 1991; Neva dan Brown, 1994)

Pemeriksaan semakin sulit bila dalam tinja terdapat banyak organisme dan komponen lain (Suzuki, 1975; Manson-Bahr dan Bell, 1986; Neva dan Brown, 1994; Fonte, Montalvo dan Alberti, 1998; Sodeman, 2003).

Dikatakan oleh para pakar, antara lain oleh Burrows (1965), deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica* hidup dengan pemeriksaan rutin tinja sangat sulit, walaupun dilakukan oleh seorang master.

Pada pemeriksaan rutin tinja terlihat pula hubungan langsung antara berat penyakit dengan jumlah *Entamoeba histolytica* di dalam tinja; ternyata semakin berat penyakit semakin mudah dideteksi dengan pemeriksaan ini, karena jumlah trofozoit meningkat seiring bertambah beratnya penyakit, termasuk jumlah trofozoit yang keluar bersama tinja penderita (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994; Sodeman, 2003).

Trofozoit dapat ditemukan pada tinja diare atau disentri, sedangkan untuk mendapatkan trofozoit pada spesimen tinja yang berbentuk (*formed*) sulit, karena hampir semua trofozoit telah menjadi kista. (Neva dan Brown, 1994; Sodeman, 2003; Dhawan, 2002).

Sayangnya, bila penderita telah mendapat terapi, maka dengan masuknya substansi-substansi obat-obatan atau bahan pembantu terapi yang lain ke dalam tubuh penderita dapat menyebabkan supresi keberadaan *Entamoeba histolytica* pada tinja.

Bahan-bahan tersebut antara lain adalah barium, bismuth, kaolin, air sabun (sebagai enema), dan antimikroba yang bekerja dalam lumen usus. Supresi dapat berlangsung dalam jangka waktu singkat (enema air sabun), atau berlangsung berminggu-minggu hingga beberapa bulan (antibiotika tertentu yang berspektrum luas) (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Neva dan Brown, 1994; Sodeman, 2003).

Larutan garam fisiologis untuk pemeriksaan rutin tinja yang dimaksud adalah larutan salin yang bersifat isotonik, yang dibuat dari Natrium klorida (NaCl) sebanyak 8,5 gram dengan air yang telah didistilasi sebanyak 1000 ml (WHO, 1991).

Menurut Burrows (1965) untuk menggantikan larutan garam fisiologis tidak boleh menggunakan air kran atau air yang didistilasi, karena penggunaan bahan-bahan tersebut untuk menggantikan larutan garam fisiologis, ternyata menyebabkan kerusakan trofozoit, yaitu mula-mula menggelembung kemudian pecah.

Prosedur pembuatan sedimen langsung dari tinja diare tersebut di atas adalah sebagai berikut (WHO, 1991):

Pertama adalah dengan menyiapkan kaca obyektif dengan dilengkapi nama atau nomor penderita serta tanggal saat pembuatan tersebut pada sisi kaca obyektif yang searah dengan tangan kiri. Kemudian teteskan setetes larutan garam fisiologis pada permukaan kaca obyektif. Setelah itu teteskan setetes tinja diare pada permukaan kaca obyektif yang telah ditetesi larutan garam fisiologis tadi, dan campur merata. Kemudian ditutup dengan *cover glass* (kaca penutup) sedemikian rupa, sehingga tidak terdapat gelembung-gelembung udara. Selanjutnya sediaan diamati pada mikroskop, mula-mula menggunakan lensa obyektif dengan pembesaran 10 kali, bila ada gerak yang diduga sebagai pergerakan khas trofozoit *Entamoeba histolytica* maka pengamatan segera dilakukan menggunakan lensa obyektif dengan pembesaran 40 kali.

Dapat saja suatu pemeriksaan rutin seperti tersebut di atas memberikan hasil yang negatif meskipun ada dugaan serta gejala yang kuat mengacu pada infeksi *Entamoeba histolytica* pada usus, pada keadaan ini dapat dilakukan pengambilan spesimen ulang pada hari yang berbeda, dapat sampai tiga atau empat hari berturut-turut, selama penderita belum mendapatkan terapi spesifik atau terapi lain yang dapat mensupresi trofozoit *Entamoeba histolytica* yang keluar bersama tinja (Faust, Russell dan Jung, 1974; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994).

Manfaat dari sediaan basah dengan menggunakan larutan garam fisiologis adalah:

- 1) Untuk mengenali dan identifikasi organisme dalam keadaan hidup
- 2) Sebagai indikator untuk dilakukan pemeriksaan yang lebih lanjut

(Burrows, 1965; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994; Fone, Montalvo dan Alberti, 1998).

### **2.3.2. Pemeriksaan Mikroskopis Tinja Menggunakan Larutan Mertiolat-Iodium-Formaldehida (MIF)**

*Entamoeba histolytica* dapat teridentifikasi lewat pemeriksaan rutin tinja, walaupun demikian diagnosis yang lebih jelas bergantung pada fiksasi dan pengecatan atau pewarnaan yang dilakukan pada sediaan. Bahan yang dapat digunakan untuk fiksasi antara lain larutan Mertiolat-Iodium-Formaldehida (MIF), yang juga mengandung bahan pengawet serta pewarna bagi protozoa yang terdapat pada tinja. (Anonim, 1953; Burrows, 1965; Faust, Russel dan Jung, 1974; Manson-Bahr dan Bell, 1986; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994; Sodeman, 2003).

Masing-masing komponen dalam larutan MIF, yaitu mertiolat, iodium dan formaldehida, mempunyai efek tertentu terhadap bahan organik, yaitu sebagai berikut:



Mertiolat, salah satu derivat merkuri dengan nama lain garam asam natrium etil-merkuri-tiosalisilat (Reynolds, 1993) yang sering digunakan sebagai pengawet, antara lain pada vaksin dan obat tetes mata. Mekanisme kerja mertiolat sebagai pengawet adalah dengan menghambat kerja enzim-enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme untuk memenuhi kebutuhan hidupnya (Mc Cormick, Bayer dan Berg, 2001; Engley, 2003). Hasil kerjanya pada sel atau suatu mikroorganisme adalah kematian sel atau mikroorganisme tanpa adanya respon inflamasi, tanpa pengerutan, dan tanpa jaringan parut (*scar*) (Mc Cormick, Bayer dan Berg, 2001).

*Iodine* atau iodium merupakan salah satu dari halogen, yang pada umumnya bersifat sangat reaktif. Mekanisme kerjanya dalam pengawetan dan mengecat mikroorganisme, belum diketahui secara pasti, tetapi diperkirakan berdasarkan reaksi enzimatik dengan asam amino tirosin dan protein-protein sel (Murray, 2002), ataupun dengan mekanisme yang sama dengan mertiolat (Engley, 2003). Iodium sebagai antiseptik yang dapat berbentuk tingtura iodium 2%, atau *Povidone iodine* sampai dengan konsentrasi 10% (senyawa iodium dengan bahan organik). Pada bentuk-bentuk dan konsentrasi tersebut iodium bersifat mengendalikan pertumbuhan mikroorganisme, tidak mematikan (Reynolds, 1993; Murray, 2002; Engley, 2003). Sedangkan untuk pewarnaan yang biasa digunakan antara lain adalah larutan Iodium dalam Lugol (Lillie, 1954; Manson-Bahr dan Bell, 1986; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994).

Formaldehida atau *formaldehyde*, dengan nama generik alkil-aldehid (*alkyl-aldehyde*), merupakan bahan pengawet yang telah lama digunakan secara luas (Reynolds, 1993). Bahan ini mampu menstabilisasi struktur-struktur protein dan kimiawi yang terdapat pada jaringan, sel, serta organisme (Lillie, 1954; NOSB TAP, 2002). Kemampuan itu berdasarkan reaksi penghambatan terhadap kerja enzim-enzim



yang bersifat menguraikan, misalnya enzim *RNA-se* (menguraikan RNA) (Ramos-Vara, 1998), selain itu reaksi formaldehida terhadap protein menghasilkan suatu kompleks yang rigid (kaku) (Lillie, 1954; NOSB TAP, 2002). Dengan demikian formaldehida mampu mempertahankan morfologi sel secara baik (Ramos-Vara, 1998).

Berdasarkan mekanisme kerja masing-masing komponen penyusun utamanya, penggunaan larutan MIF ini lebih efektif, karena memiliki tiga kemampuan sekaligus yaitu sebagai bahan pengawet (mertiolat, iodium dan formaldehida), bahan fiksasi struktural morfologis (formaldehida dan mertiolat) dan sekaligus sebagai bahan pengecatan (mertiolat dan iodium) (Lillie, 1954; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994), sehingga pemeriksaan tetap dapat dilakukan walaupun sampel tinja tidak diambil pada hari kerja laboratorium terdekat atau laboratorium rujukan (Burrows, 1965; Manson-Bahr dan Bell, 1986; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994).

Pada pemeriksaan dengan larutan MIF, tinja diambil dari penderita infeksi *Entamoeba histolytica* segera setelah dikeluarkan, selambat-lambatnya adalah lima menit dari saat tinja dikeluarkan oleh penderita. Tinja kemudian dimasukkan ke dalam wadah bertutup gulir yang telah diisi dengan larutan MIF, dicampur hingga homogen, dan disimpan dalam suhu kamar (Balows dan Hausler, 1983; Neva dan Brown, 1994).

Larutan MIF merupakan campuran dari dua macam larutan, yaitu larutan Mertiolat-Formaldehida (larutan MF) dan larutan Iodium dalam Lugol (*Lugol's iodine*). Saat akan digunakan mengawetkan dan mengecat tinja, kedua larutan tersebut baru dicampurkan, hal ini untuk mencegah presipitasi yang mengakibatkan kerusakan larutan MIF, sehingga tidak dapat bereaksi sempurna dengan parasit protozoa yang terdapat dalam tinja (Upton, 2001).

Dua macam larutan dan masing-masing komposisinya yang direkomendasikan untuk disediakan di laboratorium tersebut adalah:

### 1. Larutan Mertiolat-Formaldehida

Tingtura dari <i>Merthiolate</i> (1:1000)	200 ml
(dari 0,2 gram kristal Mertiolat dengan 200 ml etanol)	
Formaldehida ( <i>formaldehyde</i> USP)	25 ml
Gliserol	5 ml
Air yang didistilasi ( <i>aquadestilata</i> )	250 ml

### 2. Larutan Iodium dalam lugol (*Lugol's iodine*)

Iodium	5 gram
Kalium iodida	10 gram
Air yang didistilasi	100 ml
(Neva dan Brown, 1994)	

Untuk keperluan pemeriksaan di laboratorium sehari-hari, sesaat sebelum dicampur dengan tinja, larutan Mertiolat-Formaldehida sebanyak 2,35 ml dicampur dengan larutan Iodium dalam Lugol sebanyak 0,15 ml (Manson-Bahr dan Bell; Markell, Voge dan John, 1992).

Tinja seberat 0,25 gram atau sedikitnya 0,5 ml tinja diare dimasukkan ke dalam wadah yang telah diisi larutan tersebut, diaduk dengan aplikator hingga bercampur rata, kemudian botol harus ditutup rapat (Anonim, 1953; Manson-Bahr dan Bell, 1986; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994).

Bahan larutan yang disebut *Lugol's iodine* atau *Lugol's solution* atau Iodium dalam lugol hanya dapat dipakai paling lama 3 minggu sejak pembuatan awal; dan bila

larutan Iodium dalam lugol itu telah berumur seminggu maka dalam penggunaannya harus ditingkatkan jumlahnya sebesar 25%, dan bila telah lebih dari 2 minggu, maka jumlah yang digunakan harus ditingkatkan sebanyak 50% (Burrows, 1965; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994).

Untuk pembuatan preparat, cukup teteskan setetes lapisan spesimen pada permukaan kaca obyek, yang paling besar kemungkinannya terdapat banyak parasit protozoa adalah pada bagian antara endapan dan supernatan, aduk dengan aplikator lalu ditutup dengan kaca penutup, dan dilakukan pengamatan mikroskopis mula-mula menggunakan lensa obyektif dengan pembesaran 10 kali, kemudian digunakan lensa obyektif dengan pembesaran 40 kali bila telah ditemukan masa yang secara morfologi diduga sebagai trofozoit *Entamoeba histolytica* (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994).

### 2.3.3. Beberapa Metode Pemeriksaan Mikroskopis Tinja yang Lain

Pemeriksaan mikroskopis tinja yang dilakukan setelah pemeriksaan rutin tinja tinja yang direkomendasikan oleh WHO (1991), dengan larutan garam fisiologis adalah dengan melakukan pemeriksaan mikroskopis dengan pengecatan sementara maupun pengecatan permanen (WHO, 1991).

Pengecatan sementara antara lain menggunakan bahan pengecatan supravital untuk trofozoit *Entamoeba histolytica* yaitu *Buffered Methylene Blue (BMB)*, untuk melihat lebih jelas secara morfologi jika pada pemeriksaan rutin tinja dinyatakan positif, dan pemeriksaan ini sama dengan pemeriksaan rutin tinja menggunakan larutan garam fisiologis, bahan yang diperiksa adalah tinja cair yang baru (WHO, 1991).

WHO (1991) merekomendasikan pengecatan permanen *Entamoeba histolytica* dengan *trichrome*, sedangkan Neva dan Brown (1994) merekomendasikan pembuatan sediaan dengan pengecatan permanen menggunakan *trichrome* atau *iron-hematoxylin*. jika diperlukan pengamatan yang lebih teliti dengan menggunakan minyak imersi.

Kultur tinja dapat saja dilakukan jika hasil pemeriksaan mikroskopis tinja negatif dengan berbagai metode tersebut di atas, namun metode ini bukan merupakan metode yang direkomendasikan untuk dilakukan secara rutin di laboratorium. Metode kultur tinja lebih direkomendasikan untuk memproduksi trofozoit *Entamoeba histolytica*, guna keperluan analisis antigen dan analisis enzim (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994).

Sigmoskopi dilakukan untuk mengambil bahan-bahan tinja secara aspirasi untuk diperiksa ada tidaknya trofozoit atau digunakan sebagai bahan kultur, dan biopsi dari mukosa regio *sigmoidorectal* yang terdapat lesi (Neva dan Brown, 1994), dan untuk memastikan ada tidaknya lesi pada regio *sigmoidorectal*, sekitar 50% individu yang terinfeksi *Entamoeba histolytica* mempunyai lesi yang khas pada regio tersebut (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Neva dan Brown, 1994).

## 2.4. Pemeriksaan Lain

Selain melakukan pemeriksaan laboratoris tinja secara mikroskopis, untuk deteksi infeksi *Entamoeba histolytica* dapat dilakukan pemeriksaan radiologis dan imunodiagnosis (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994).

Pemeriksaan radiologis dikatakan tidak begitu membantu jika dilakukan pada kasus-kasus infeksi *Entamoeba histolytica* yang belum mengalami komplikasi, terutama striktura, *amoeboma*, dan intusussepsi (Manson-Bahr dan Bell, 1986).

Pemeriksaan imunologis yang dilakukan untuk deteksi infeksi *Entamoeba histolytica* antara lain adalah *Fluorescent antibody test (FAT)*, *Gel diffusion (GD) test*, *Cellulose acetate membrane precipitin (CAP) test*, *Counterimmunoelectrophoresis (CIE)*, *Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)*, *Latex agglutination test*, *Indirect haemagglutination (IHA)*, *Complement fixation test* (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan brown, 1994).

Dari pemeriksaan-pemeriksaan serologi tersebut di atas, menurut Manson-Bahr dan Bell (1986), yang terbaik digunakan untuk membantu diagnosis klinis adalah mula-mula dilakukan pemeriksaan *FAT*, karena pemeriksaan ini paling sensitif untuk infeksi *Entamoeba histolytica*, tetapi masih terdapat *false positive* sebesar 20%, atau spesifitasnya rendah, sehingga hasil-hasil yang positif pada pemeriksaan ini kemudian diperiksa lagi dengan metode *GD* atau *CAP*, yang lebih spesifik, terutama disarankan menggunakan metode *CAP* karena lebih sensitif daripada metode *GD*, dan tidak ada *false positif*.

Menurut Markell, Voge dan John (1992) yang paling baik digunakan adalah metode *IHA*, metode ini dikatakan lebih sensitif dari metode pemeriksaan serologi yang

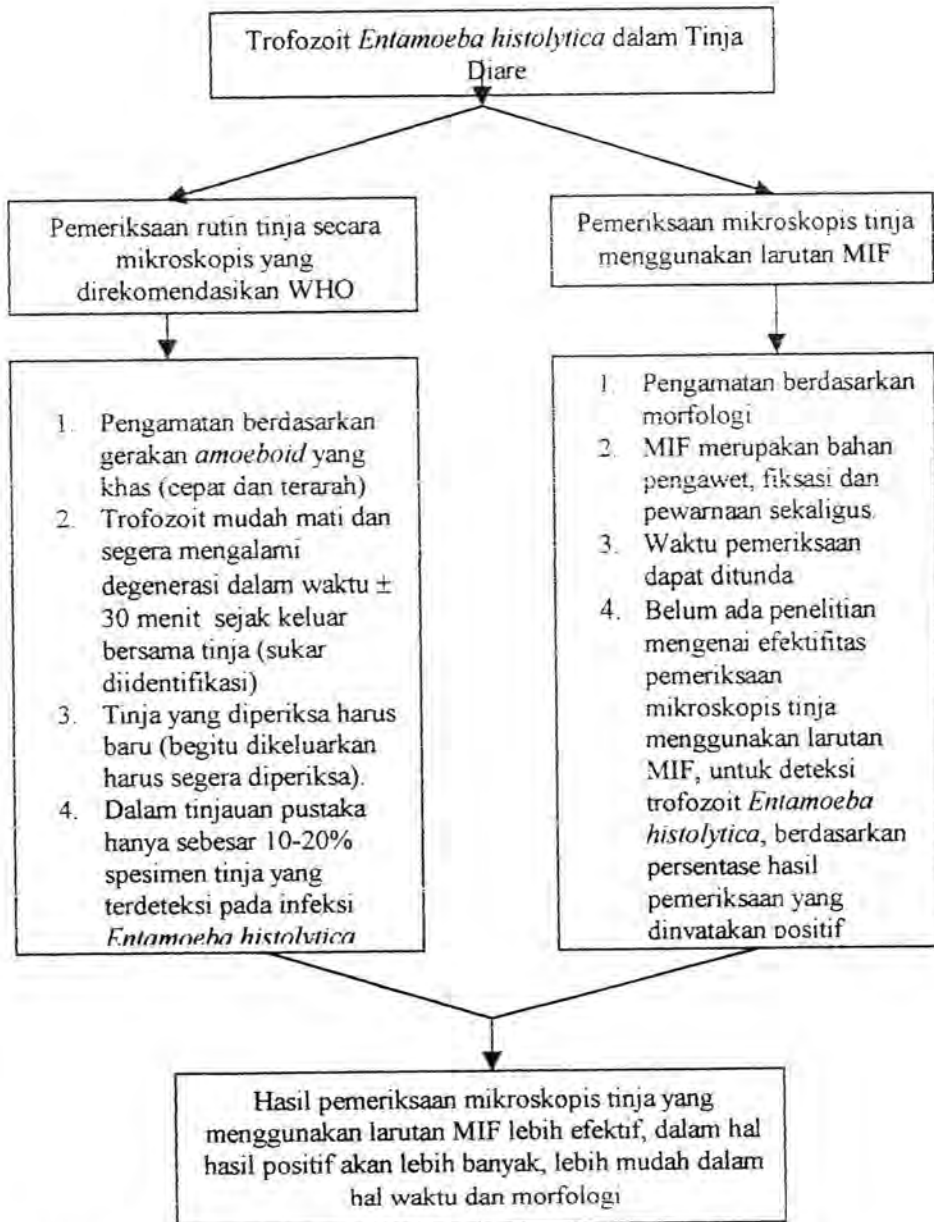
lain, namun dalam hal penggunaan bahan untuk diperiksa, metode *ELISA* lebih disarankan, karena tidak hanya serum yang dapat diperiksa untuk deteksi infeksi *Entamoeba histolytica*, tetapi juga tinja dan cairan serebrospinalis dapat diperiksa dengan metode ini. Metode *ELISA* juga sensitif dan mudah untuk diinterpretasikan.

Neva dan Brown (1994) menyebutkan bahwa di masa yang akan datang metode pemeriksaan biologi molekuler, yaitu *Polymerase chain reaction (PCR)* merupakan metode pemeriksaan yang terbaik untuk deteksi infeksi *Entamoeba histolytica* dengan menggunakan tinja penderita sebagai bahan yang diperiksa.

## Bab 3

### Kerangka Konseptual dan Hipotesis Penelitian

#### 3.1. Kerangka Konseptual



Gambar 3.1. Skema Kerangka Konseptual Penelitian



Bersama tinja diare penderita gastroenteritis dapat keluar trofozoit *Entamoeba histolytica*, dan untuk mendeteksi trofozoit tersebut harus dilakukan pemeriksaan tinja secara mikroskopis (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Markell, Voge dan John, 1992).

Pemeriksaan mikroskopis tinja yang selama ini dipakai sebagai indikator adalah pemeriksaan rutin tinja menggunakan larutan garam fisiologis. Pengamatan berpedoman pada adanya gerak *amoeboid* yang khas trofozoit hidup, sedangkan trofozoit *Entamoeba histolytica* mudah mati dan segera mengalami degenerasi dalam waktu sekitar 30 menit setelah keluar dari tubuh manusia (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994). Dengan demikian yang diperiksa harus tinja diare yang baru (sesaat setelah dikeluarkan harus sudah diperiksa), sedangkan hal ini sulit dipenuhi dalam pelaksanaan di rumah sakit maupun pusat kesehatan yang lain. Oleh karena itu hanya 10-20% infeksi *Entamoeba histolytica* yang terdeteksi dengan pemeriksaan rutin tinja pada prakteknya (Markell, Voge dan John, 1992).

Berdasarkan kondisi tersebut di atas, maka diperlukan suatu metode pemeriksaan mikroskopis tinja yang dapat menjadi alternatif pemeriksaan rutin tinja.

Metode pemeriksaan mikroskopis tinja yang sesuai dengan keperluan tersebut adalah suatu metode pemeriksaan dengan pengamatan yang berpedoman pada morfologi trofozoit *Entamoeba histolytica*, bukan pada gerak trofozoit, dan pemeriksaan tersebut harus tetap dapat dilakukan di rumah sakit, pusat kesehatan yang lain, juga laboratorium rujukan pada waktu yang tertunda. Metode alternatif ini dengan demikian harus menggunakan bahan yang merupakan bahan pengawet, bahan fiksasi, serta bahan pengecatan bagi trofozoit *Entamoeba histolytica* sekaligus.

Bahan yang dimaksud adalah larutan Mertiolat-Iodium-Formaldehida (MIF), yang telah lama dikenal, tetapi belum pernah diteliti efektifitas metode pemeriksaan mikroskopis tinja diare yang menggunakan larutan tersebut, untuk deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica*, berdasarkan persentase hasil pemeriksaan yang dinyatakan positif. Karena itu akan diteliti dan dibuktikan dalam penelitian ini, bahwa pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF lebih efektif daripada pemeriksaan rutin tinja, untuk deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica* dalam tinja diare, berdasarkan persentase hasil yang dinyatakan positif, dan lebih mudah dalam hal waktu pemeriksaan, serta pengamatan yang berpedoman pada morfologi.

### 3.2. Hipotesis Penelitian

Hipotesis dalam penelitian ini adalah:

1. Pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF yang dilakukan segera setelah tinja dikeluarkan penderita, lebih efektif daripada pemeriksaan rutin tinja, untuk deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica* dalam tinja diare, berdasarkan persentase hasil pemeriksaan yang dinyatakan positif.
2. Pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF, yang dilakukan:
  - a. Pada waktu yang ditunda dua jam setelah tinja dikeluarkan penderita
  - b. Pada waktu yang ditunda 24 jam setelah tinja dikeluarkan penderitalebih efektif daripada pemeriksaan rutin tinja, untuk deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica* dalam tinja diare, berdasarkan persentase hasil pemeriksaan yang dinyatakan positif.

## **Bab 4**

### **Metode Penelitian**

#### **4.1. Rancangan Penelitian yang Digunakan**

Penelitian ini merupakan rancangan eksperimental laboratorium, menggunakan disain faktorial sama subyek.

#### **4.2. Populasi, Sampel, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel**

##### **4.2.1. Populasi**

Populasi dalam penelitian ini adalah tinja diare baru dari penderita-penderita gastroenteritis akut maupun kronis.

Tinja diare sesuai definisi adalah tinja berkonsistensi cair dari penderita yang buang air besar sebanyak tiga kali atau lebih dalam 24 jam (Manson-Bahr dan Bell, 1986).

##### **4.2.2. Sampel**

Sampel penelitian ini adalah anggota dari populasi tersebut di atas dengan kriteria sebagai berikut:

- 4.2.2.1. Tinja diare baru: diperiksa dengan pemeriksaan rutin tinja segera\*) setelah dikeluarkan oleh penderita. Tinja tersebut tidak tercemar, tidak tercampur urine, air, bahan kimia, termasuk antiseptik atau desinfektan, misalnya lisol atau sabun.

4.2.2.2. Tinja harus dari penderita yang belum mendapatkan terapi selama dua minggu, yaitu penderita yang sama sekali tidak mengkonsumsi obat selama dua minggu (Reynolds, 1993). Untuk itu diajukan pertanyaan-pertanyaan sebagai berikut:

4.2.2.2.1. Selama dua minggu terakhir apakah penderita pernah MRS (masuk rumah sakit) atau berobat ke dokter, mantri, bidan, atau tenaga kesehatan yang lain)?

4.2.2.2.2. Selama dua minggu terakhir apakah penderita pernah mengkonsumsi obat atau jamu yang dibeli bebas (tanpa resep) atau dibuat sendiri, karena sebab apapun?

\*)= toleransi waktu pemeriksaan rutin tinja untuk tinja diare baru, selambat-lambatnya dilakukan 30 menit setelah tinja dikeluarkan penderita (WHO, 1991; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994).

### 4.2.3. Besar Sampel

Besar sampel dalam penelitian ini adalah didapatkan 27 untuk setiap kelompok, jumlah sampel minimal setiap kelompok diperoleh dengan rumus dari Stell dan Torrie (1991):

$$n = (t-1)(n-1) \geq 20$$

keterangan:

n : besar sampel minimal untuk setiap kelompok

t : jumlah kelompok, dalam penelitian ini terdiri dari dua kelompok, yaitu:

- Kelompok tinja yang diperiksa dengan pemeriksaan rutin tinja

- Kelompok tinja yang telah dicampur larutan MIF, dan diperiksa dalam tiga waktu yang berbeda

#### **4.2.4. Teknik Pengambilan Sampel**

Sampel penelitian diambil, sesuai kriteria sampel penelitian dan besar sampel yang telah ditentukan. Tinja diare dari setiap penderita yang telah dicampur rata, diambil:

- 4.2.4.1. Sebanyak 0,5 ml digunakan untuk pemeriksaan rutin tinja disimpan dalam wadah kosong.
- 4.2.4.2. Sebanyak 0,5 ml disimpan dalam wadah yang telah diberi larutan MIF dan diaduk hingga tampak homogen.

### **4.3. Variabel Penelitian**

#### **4.3.1. Klasifikasi Variabel Penelitian**

##### 4.3.1.1. Variabel bebas:

- 4.3.1.1.1. Pemeriksaan rutin tinja
- 4.3.1.1.2. Pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF

##### 4.3.1.2. Variabel terikat:

- 4.3.1.2.1. Hasil pemeriksaan rutin tinja yang dinyatakan positif atau negatif
- 4.3.1.2.2. Hasil pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF yang dinyatakan positif atau negatif

### 4.3.2. Definisi Operasional Variabel

#### 4.3.2.1. Pemeriksaan rutin tinja:

4.3.2.1.1. Pemeriksaan rutin tinja adalah pemeriksaan indikator yang direkomendasikan oleh WHO, yaitu pemeriksaan mikroskopis tinja yang baru dikeluarkan (dilakukan dalam kurun waktu 30 menit setelah tinja dikeluarkan oleh penderita) yang dibuat sediaan, dengan langsung dibubuhi larutan garam fisiologis pada permukaan kaca obyektif (WHO, 1991). dalam penelitian ini dilakukan pada suhu kamar 21-32°C, dan kelembaban sekitar 52-84%.

4.3.2.1.2. Pada pemeriksaan rutin tinja yang dimaksud deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica* adalah penemuan trofozoit yang hidup dan menampilkan pergerakan khas, yaitu cepat dan terarah.

4.3.2.1.3. Hasil pemeriksaan rutin tinja dinyatakan positif bila ditemukan masa jernih atau sedikit kehijauan yang bergerak dengan menjulurkan pseudopodia langsing berujung tumpul (seperti jari-jari tangan) dari ektoplasmanya, cepat, ke satu arah, mungkin dapat terlihat perbedaan antara ektoplasma yang lebar, jernih, refraktil, dengan endoplasmanya yang kental (*viscous*) dan bergranula halus, mungkin dapat ditemukan pula inklusi sel-sel darah merah (*hematophagous*) (Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994).

- 4.3.2.1.4. Hasil pemeriksaan rutin tinja dinyatakan negatif bila tidak ditemukan masa yang bergerak sesuai kriteria hasil pemeriksaan rutin tinja yang dinyatakan positif.
- 4.3.2.1.5. Efektifitas pemeriksaan rutin tinja adalah keberhasilan deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica*, berdasarkan persentase hasil pemeriksaan rutin tinja yang dinyatakan positif.

#### 4.3.2.2. Pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF:

- 4.3.2.2.1. Pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF, adalah pemeriksaan sediaan dari sampel tinja yang telah disimpan dalam larutan MIF (dengan dicampur hingga homogen dalam suatu wadah, selambat-lambatnya dalam kurun waktu lima menit sejak tinja dikeluarkan penderita), dalam kurun waktu 30 menit setelah tinja dikeluarkan penderita diare, dalam penelitian ini dilakukan setelah pemeriksaan rutin tinja (disebut pemeriksaan MIF pertama), ditunda dua jam setelah tinja dikeluarkan penderita (disebut pemeriksaan MIF kedua), dan 24 jam setelah tinja dikeluarkan penderita (disebut pemeriksaan MIF ketiga).
- 4.3.2.2.2. Pada pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF, yang dimaksud deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica* adalah penemuan trofozoit berdasarkan morfologi yang khas.
- 4.3.2.2.3. Hasil pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF dinyatakan positif, bila ditemukan morfologi yang khas,



yaitu adanya masa bulat atau oval, berukuran 10 sampai dengan 60 $\mu$ m. Ektoplasma lebar, jernih, terpisah dengan jelas dari endoplasmanya yang bergranula halus, terdapat satu buah inti dengan kariosom terletak sentrik, serta tampak granula-granula kromatin perifer pada membran inti. Mungkin dapat mengandung inklusi sel-sel darah merah (*hematophagous*) (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994).

- 4.3.2.2.4. Hasil pemeriksaan tinja menggunakan larutan MIF dinyatakan negatif bila tidak ditemukan masa dengan morfologi khas seperti pada kriteria hasil pemeriksaan ini yang dinyatakan positif.
- 4.3.2.2.5. Efektifitas pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF, adalah keberhasilan deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica* berdasarkan persentase hasil pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF yang dinyatakan positif (pada masing-masing waktu pemeriksaan).

## **4.4. Bahan Penelitian**

### **4.4.1. Macam Bahan**

- 4.4.1.1. Tinja diare baru dan tidak tercemar dari penderita gastroenteritis
- 4.4.1.2. Larutan Mertiolat-Iodium-Formaldehida
- 4.4.1.3. Larutan garam fisiologis (normal salin)

#### 4.4.2. Spesifikasi Bahan

##### 4.4.2.1. Bahan yang Diperiksa

Bahan yang diperiksa adalah tinja diare baru dan tidak tercemar, yaitu tinja cair yang terdiri dari cairan serta masa tinja, mungkin mengandung lendir dan atau darah, dan telah diaduk merata (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Sodeman, 2003).

##### 4.4.2.2. Bahan Pemeriksaan

Bahan pemeriksaan pada setiap spesimen tinja adalah larutan garam fisiologis untuk pemeriksaan rutin tinja, dan larutan MIF untuk pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF.

###### 4.4.2.2.1. Larutan garam fisiologis:

Larutan garam fisiologis yang dimaksud adalah larutan salin yang bersifat isotonik yang dibuat dari Natrium klorida (NaCl) sebanyak 8,5 gram dengan air yang telah didistilasi sebanyak 1000 ml (WHO, 1991).

###### 4.4.2.2.2. Larutan MIF:

Larutan yang terdiri dari campuran larutan Mertiolat-Formaldehida dengan larutan *Lugol's Iodine*, yang masing-masing komposisinya sebagai berikut:

###### A. Larutan Mertiolat-Formaldehida

Tingtura dari Mertiolat (*Merthiolate*) (1:1000) 200 ml

(dibuat dari 0,2 gram mertiolat yang dilarutkan dalam 200 ml etanol)

Formaldehida ( <i>formaldehyde</i> USP)	25 ml
Gliserol	5 ml
Air yang didistilasi ( <i>aquadestilata</i> )	250 ml

B. Larutan *Lugol's iodine*

Iodium	5 gram
Kalium iodida	10 gram
Air yang didistilasi	100 ml

(Neva dan Brown, 1994).

Kedua macam larutan tersebut dicampur sesaat sebelum digunakan untuk menyimpan tinja (Neva dan Brown, 1994), dengan komposisi 2,35 ml larutan Mertiolat-Formaldehida dan 0,15 ml larutan Iodium dalam lugol (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Markell, Voge dan John, 1992), dicampurkan dengan tinja paling lambat dalam waktu lima menit setelah tinja dikeluarkan (Markell, Voge dan John, 1992).

Bahan larutan yang disebut *Lugol's iodine* atau larutan Iodium dalam lugol hanya dapat dipakai paling lama tiga minggu sejak pembuatan awal; dan bila larutan itu telah berumur seminggu maka dalam volume yang digunakan harus ditingkatkan sebesar 25%, dan bila telah lebih dari dua minggu, maka volume yang digunakan harus ditingkatkan sebesar 50% (Neva dan Brown, 1994), tetapi untuk

validitas hasil dalam penelitian ini, maka larutan ini dibuat baru dalam waktu setiap satu minggu.

## **4.5. Instrumen Penelitian**

### **4.5.1. Instrumen Pembuatan dan Penyimpanan Larutan MIF**

4.5.1.1. neraca

4.5.1.2. gelas ukur berukuran 100 ml dan 500 ml

4.5.1.3. corong

4.5.1.4. kertas saring

4.5.1.5. pengaduk

4.5.1.6. tabung reaksi serta rak tabung reaksi

4.5.1.7. botol berwarna coklat berukuran volume 500 ml dan 100 ml

4.5.1.8. masker hidung dan mulut

4.5.1.9. sarung tangan karet

4.5.1.10. jas laboratorium

### **4.5.2. Instrumen Pengambilan dan Penyimpanan Sampel Tinja Diare**

4.5.2.1. spatula untuk mengambil tinja diare sebanyak 0,5 ml, dibantu dengan pipet bertanda volume

4.5.2.2. wadah plastik bertutup gulir berukuran volume 30 ml

4.5.2.3. spuit 1 ml untuk mengambil 0,15 ml larutan Iodium dalam Lugol

4.5.2.4. spuit 3 ml untuk mengambil 2,35 ml larutan MF

4.5.2.5. masker hidung-mulut

4.5.2.6. sarung tangan karet

4.5.2.7. jas laboratorium

### **4.5.3. Instrumen Pembuatan Sediaan Tinja untuk Pemeriksaan Rutin Tinja dan Pemeriksaan Tinja Menggunakan Larutan MIF**

4.5.3.1. pipet *pasteur* atau pipet tetesan dengan kalibrasi 1 ml = 15 tetes dan 1 ml = 30 tetes *aquadesilata*

4.5.3.2. kaca obyek

4.5.3.3. *cover glass* (kaca penutup)

4.5.3.4. mikroskop dengan lensa obyektif berukuran pembesaran 10 kali dan 40 kali, dan lensa okuler berukuran pembesaran 10 kali

4.5.3.5. *eye-piece* mikrometer yang telah dikalibrasi

## **4.6. Lokasi Penelitian**

Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya, *Tropical Disease Centre* Universitas Airlangga Surabaya, untuk pengumpulan tinja diare dari penderita serta pemeriksaan rutin dan pemeriksaan MIF pertama dilakukan secara bekerjasama dengan beberapa pusat kesehatan (poliklinik, rumah sakit, dan laboratorium kesehatan) dalam wilayah Kotamadya Surabaya.

## **4.7. Cara Kerja**

### **4.7.1. Cara Pembuatan Larutan MIF**

Bahan-bahan pembuatan disiapkan sesuai yang dicantumkan dalam spesifikasi bahan pemeriksaan, dan alat-alat yang diperlukan disiapkan sesuai dengan yang tercantum dalam instrumen penelitian.

#### 4.7.1.1. Cara Pembuatan Larutan Mertiolat-Formaldehida

Pertama dibuat tingtura mertiolat, dengan melarutkan kristal mertiolat dalam etanol yang telah disiapkan dalam gelas ukur bervolume 500 ml. Kemudian tambahkan berturut-turut air yang didistilasi (*aquadestilata*), formaldehida, dan gliserin aduk hingga bercampur rata.

Larutan tersebut kemudian dituang ke dalam botol coklat bervolume 500 ml, melalui corong kaca yang dilapisi kertas saring, dan ditutup rapat. Botol diberi label "Larutan MF", disimpan pada suhu kamar, di tempat yang tidak terkena sinar matahari.

#### 4.7.1.2. Cara Pembuatan Larutan *Lugol's iodine*

Pertama dilarutkan 10 gram Kalium iodida dengan 30 ml air yang didistilasi yang telah disiapkan dalam gelas ukur bervolume 100 ml, kemudian sebanyak 5 gram kristal iodium dilarutkan dengan cara ditambahkan sedikit demi sedikit ke dalam larutan Kalium iodida, sambil diaduk terus hingga benar-benar larut, dan terakhir tambahkan air yang didistilasi sebanyak 70 ml.

Larutan tersebut kemudian dituang ke dalam botol coklat bervolume 100 ml, melalui corong kaca yang dilapisi kertas saring, dan ditutup rapat. Botol diberi label "*Lugol's iodine*", disimpan pada suhu kamar, di tempat yang tidak terkena sinar matahari.

#### 4.7.2. Cara Pengambilan Tinja sebagai Sampel Penelitian

Pengambilan tinja diare sampel penelitian diambil sebanyak 0,5 ml, untuk setiap metode pemeriksaan, menggunakan spatula dan dibantu dengan pipet bertanda volume. Tinja yang diambil harus terdiri atas masa tinja, darah (bila ada) dan lendir (bila ada)

dan telah diaduk merata begitu dikeluarkan oleh penderita. Untuk pemeriksaan rutin tinja tinja diare sebanyak 0,5 ml dimasukkan ke dalam sebuah wadah kosong bertutup gulir. Satu buah lagi wadah kosong bertutup gulir diisi larutan MIF sebanyak 2,5 ml (2,35 ml larutan MF ditambah dengan 0,15 ml larutan Iodium dalam Lugol). Ke dalam wadah tersebut segera ditambahkan juga tinja diare sebanyak 0,5 ml (Manson-Bahr dan Bell, 1986), dan diaduk hingga homogen, sehingga konsentrasi tinja dalam larutan adalah satu volume tinja berbanding lima volume larutan MIF (Anonim, 1953; Burrows, 1965; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994). Masing-masing wadah kemudian ditutup rapat, dan diletakkan dalam suhu kamar hingga diperiksa.

#### **4.7.3. Cara Pembuatan Sediaan**

##### **4.7.3.1. Pembuatan Sediaan dari Tinja untuk Pemeriksaan rutin tinja**

Prosedur pembuatan sediaan tersebut di atas adalah sebagai berikut (WHO, 1991):

Pertama adalah dengan menyiapkan kaca obyek dengan dilengkapi nomor sampel serta tanggal saat pembuatan tersebut pada sisi kaca obyek yang searah dengan tangan kiri. Kemudian teteskan setetes larutan garam fisiologis pada permukaan kaca obyek, menggunakan pipet. Setelah itu dengan menggunakan pipet, ambil tinja diare yang telah diaduk rata, teteskan satu tetes dan campur merata dengan larutan garam fisiologis pada permukaan kaca obyek. Dengan demikian konsentrasi tinja dalam satu sediaan adalah satu volume tinja dalam satu volume larutan garam fisiologis. Kemudian ditutup dengan kaca penutup sedemikian rupa sehingga tidak terdapat gelembung-gelembung udara. Selanjutnya sediaan tersebut siap diamati secara mikroskopis.



#### 4.7.3.2. Pembuatan Sediaan dari Tinja yang Disimpan Dalam Larutan MIF

Pemberian identitas sampel dilakukan sama seperti yang dilakukan pada pembuatan sediaan tinja untuk pemeriksaan rutin tinja tersebut di atas.

Untuk pembuatan sediaan, cukup teteskan satu tetes dari sampel tinja yang telah disimpan dalam larutan MIF pada permukaan kaca obyek, menggunakan pipet. Aduk dengan aplikator, lalu ditutup dengan kaca penutup sedemikian rupa sehingga tidak menimbulkan gelembung-gelembung udara, dan sediaan ini siap diamati secara mikroskopis (Neva dan Brown, 1994).

#### 4.7.4. Cara Pemeriksaan Mikroskopis

Pemeriksaan mikroskopis dilakukan oleh peneliti pada setiap sediaan baik pada pemeriksaan rutin tinja, maupun pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF (pada masing-masing waktu pemeriksaan), dalam suhu kamar, dan dilakukan identifikasi trofozoit *Entamoeba histolytica* sesuai dengan indikator dalam definisi operasional untuk masing-masing metode pemeriksaan.

##### 4.7.4.1. Pengamatan Sediaan Langsung dengan Larutan Garam Fisiologis:

Pemeriksaan rutin tinja dilakukan di pusat kesehatan yang bekerja sama.

Pertama sediaan diamati menggunakan lensa obyektif dengan pembesaran 10 kali, bila ditemukan gerakan yang diduga gerakan trofozoit *Entamoeba histolytica*, maka digunakan lensa obyektif dengan pembesaran 40 kali (Burrows, 1965; WHO, 1991; Markell, Voge dan John, 1992).

#### 4.7.4.2. Pengamatan Sediaan dari Tinja yang telah Dicampur dengan Larutan MIF:

Pemeriksaan MIF pertama dilakukan di pusat kesehatan yang bekerjasama. setelah pemeriksaan rutin tinja selesai dilakukan.

Pertama sediaan diamati menggunakan lensa obyektif dengan pembesaran 10 kali, bila ditemukan masa dengan morfologi yang diduga sebagai trofozoit *Entamoeba histolytica*, maka digunakan lensa obyektif dengan pembesaran 40 kali untuk pengamatan morfologi yang lebih jelas (Burrows, 1965; Markell, Voge dan John, 1992).

Pada pemeriksaan rutin tinja tinja secara mikroskopis maupun pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF untuk setiap sampel pada penelitian ini, jika sediaan pertama dinyatakan negatif maka dilakukan dengan membuat dan memeriksa sediaan berikutnya. Untuk menyatakan hasil pemeriksaan tersebut negatif, harus diperiksa sampai 11 sediaan. Ketentuan pemeriksaan ini berdasarkan rumus:

$$\begin{aligned}n &= (z\alpha + z\beta)^2 \\ &= (1,96 + 1,28)^2 \\ &= 3,24^2 \\ &= 10,49 \approx 11\end{aligned}$$

keterangan:

- $n$  : banyaknya jumlah sediaan yang diperiksa untuk menyatakan negatif pada suatu sampel tinja, baik pada pemeriksaan rutin tinja, maupun pada pemeriksaan mikroskopis tinja diare menggunakan larutan MIF.
- $z\alpha$  : nilai standar normal pada taraf kepercayaan 95% ( $\alpha = 0,05$ )
- $z\beta$  : nilai standar normal pada kemungkinan kesalahan pemeriksaan yang dapat ditolerir 10% ( $\beta = 0,10$ )

Pengulangan dan penentuan negatif ini, dilakukan dengan memperhatikan dalam tinjauan pustaka bahwa pemeriksaan rutin tinja memberikan hasil yang masih dapat dipercaya dalam identifikasi *Entamoeba histolytica* bila dilakukan dalam kurun waktu 30 menit setelah tinja diare dikeluarkan oleh penderita (Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994), maka pemeriksaan ulangan hingga sediaan ke-11 dilakukan untuk pemeriksaan ini terlebih dahulu, baru kemudian dilakukan pemeriksaan ulangan dari tinja diare yang telah dicampur larutan MIF.

Hasil pemeriksaan dan pengamatan mikroskopis tinja, baik untuk pemeriksaan rutin tinja maupun pemeriksaan tinja menggunakan larutan MIF dikonfirmasi kepada ahli protozoologi di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.

#### 4.7.5. Cara Pencatatan Hasil Pengamatan

Pengamatan mikroskopis untuk masing-masing metode dilakukan oleh peneliti, dan pencatatan hasil pemeriksaan mikroskopis tinja diare, pada masing-masing metode

pemeriksaan, dan pada setiap waktu yang telah ditentukan, dilakukan secara langsung setelah pemeriksaan mikroskopis tinja oleh peneliti.

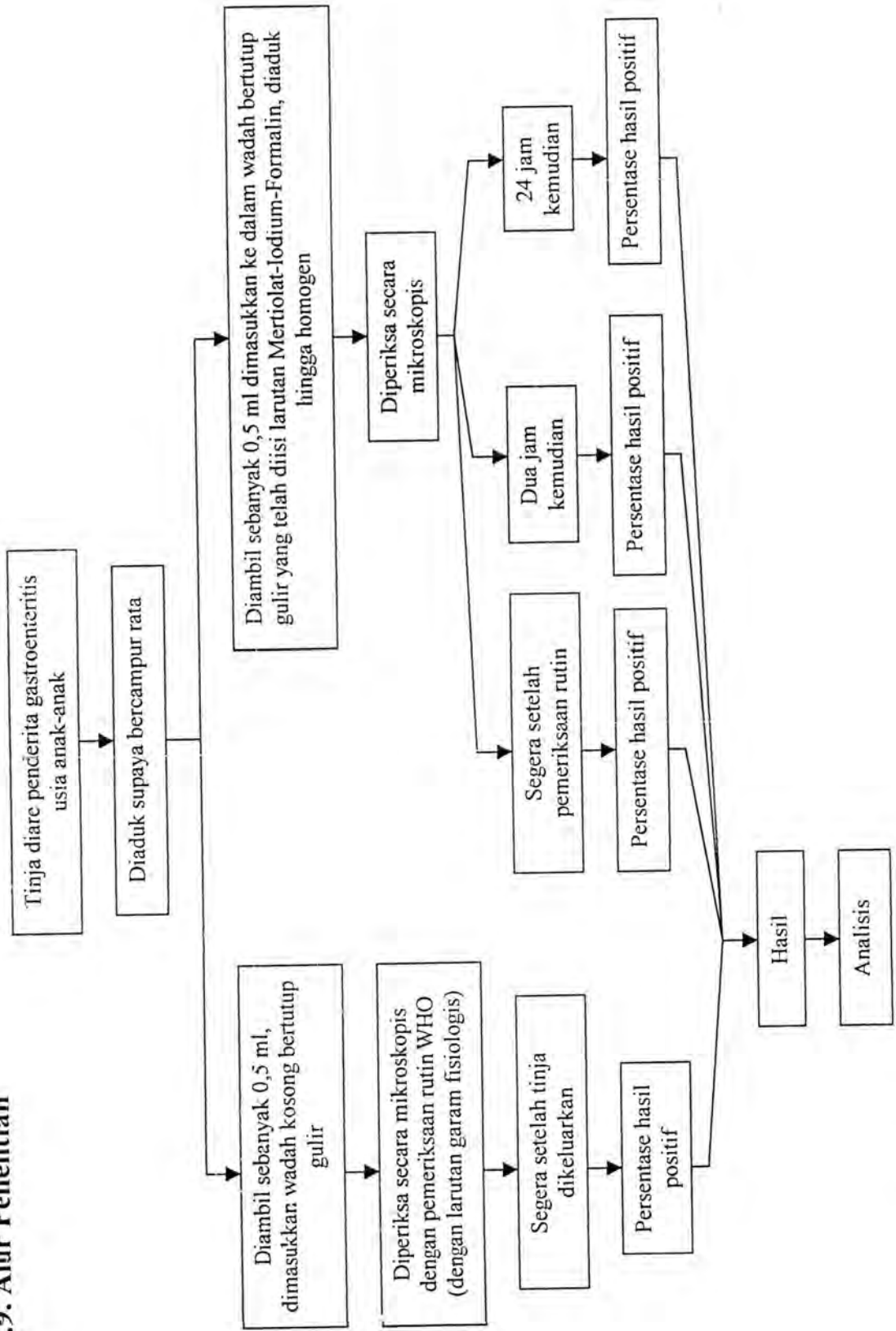
Hasil-hasil pencatatan pemeriksaan mikroskopis tinja, baik secara rutin maupun pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF disusun secara sistematis dalam tabel-tabel.

#### **4.8. Cara Analisis Data**

Analisis data yang diperoleh dalam penelitian ini dilakukan dengan analisis statistik menggunakan uji statistik Mc Nemar, karena sampel yang diperoleh kurang dari 30 untuk setiap kelompok.

#### **4.9. Alur Penelitian** lihat halaman 60

4.9. Alur Penelitian



Gambar 4.1. Skema Alur Penelitian

## Bab 5

### Analisis Hasil Penelitian

#### 5.1. Data Penelitian

Sampel tinja diare penderita gastroenteritis yang berhasil dikumpulkan dan memenuhi kriteria serta asumsi-asumsi dalam penelitian ini sebanyak 27 sampel.

Dari ke-27 sampel tersebut di atas, hasil pemeriksaan rutin tinja adalah sebanyak 3 (11,1%) sampel saja yang dinyatakan positif terdeteksi trofozoit *Entamoeba histolytica*.

Hasil pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF yang dilakukan segera setelah tinja dikeluarkan penderita (pemeriksaan MIF pertama), memberikan hasil sebanyak 14 dari 27 sampel (51,9%) dinyatakan positif.

Hasil keseluruhan pemeriksaan rutin tinja maupun pemeriksaan mikroskopis menggunakan larutan MIF dicantumkan dalam tabel 5.1.

Jumlah hasil-hasil pemeriksaan positif dan negatif dari pemeriksaan-pemeriksaan tersebut dicantumkan dalam tabel 5.2.

Tabel 5.1. Tabel hasil keseluruhan pemeriksaan rutin tinja dan pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan Mertiolat-Iodium-Formaldehida (MIF)

Nomor urut	Hasil pemeriksaan rutin tinja	Hasil pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF		
		Pemeriksaan MIF pertama (segera)	Pemeriksaan MIF kedua (ditunda dua jam)	Pemeriksaan MIF ketiga (ditunda 24 jam)
	+/-	+/-	+/-	+/-
1	-	+	+	-
2	-	-	-	-
3	-	-	-	-
4	-	+	-	-
5	+	+	-	-
6	-	-	-	-
7	-	-	-	-
8	-	+	+	-
9	-	-	-	-
10	-	+	+	+
11	-	+	+	-
12	-	-	-	-
13	-	-	-	-
14	+	+	-	-
15	-	-	-	-
16	-	+	+	-
17	+	+	+	+
18	-	-	-	-
19	-	+	+	+
20	-	-	-	-
21	-	-	-	-
22	-	+	+	+
23	-	+	+	+
24	-	-	-	-
25	-	+	+	+
26	-	-	-	-
27	-	+	+	+
Jumlah	Positif = 3 Negatif = 24	Positif = 14 Negatif = 13	Positif = 14 Negatif = 13	Positif = 14 Negatif = 13



Tabel 5.2. Tabel jumlah hasil pemeriksaan positif dan negatif pemeriksaan rutin tinja dan pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF

		Pemeriksaan mikroskopis tinja							
		Rutin		Menggunakan larutan MIF					
		Langsung		Pemeriksaan MIF pertama (segera)		Pemeriksaan MIF kedua (ditunda dua jam)		Pemeriksaan MIF ketiga (ditunda 24 jam)	
		N	%	N	%	N	%	N	%
Hasil	Positif	3	11,1	14	51,9	14	51,9	14	51,9
	Negatif	24	88,9	13	48,1	13	48,1	13	48,1
	Jumlah	27	100,0	27	100,0	27	100,0	27	100,0

Dalam tabel 5.1 dan tabel 5.2. di atas tercantum bahwa dari pemeriksaan rutin tinja, sebanyak 3 (11,1%) sampel dinyatakan positif terdeteksi trofozoit *Entamoeba histolytica*, dan sebanyak 24 (88,9%) dinyatakan negatif. Pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF pada pemeriksaan MIF pertama terdapat 14 (51,9%) sampel dinyatakan positif terdeteksi trofozoit *Entamoeba histolytica*, dan sebanyak 13 (48,1%) sampel dinyatakan negatif. Pada pemeriksaan MIF kedua dan ketiga, masing-masing didapatkan hasil-hasil positif dan negatif yang sama banyak dengan hasil pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF pada pemeriksaan MIF pertama.

## 5.2. Analisis dan Hasil Penelitian

Hasil pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF, yang dinyatakan positif berdasarkan tabel 5.1 dan tabel 5.2 adalah sebanyak 14 dari 27 sampel (51,9%), sedangkan hasil yang dinyatakan positif pada pemeriksaan rutin tinja hanya sebanyak 3

dari 27 sampel (11,1%). Hal ini merupakan jawaban dari tujuan khusus pertama dan hipotesis pertama dalam penelitian ini, yaitu untuk membuktikan bahwa pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF lebih efektif daripada pemeriksaan rutin tinja untuk deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica* dalam tinja diare, jika dilakukan segera setelah tinja dikeluarkan penderita, berdasarkan persentase hasil yang dinyatakan positif dari masing-masing pemeriksaan.

Selanjutnya untuk membuktikan kemaknaan perbedaan efektifitas pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF tersebut di atas, dengan efektifitas pemeriksaan rutin tinja untuk deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica* dalam tinja diare, maka dilakukan uji statistik Mc Nemar.

Tabel 5.3 untuk analisis uji statistik Mc Nemar menunjukkan bahwa sebanyak 3 dari 27 sampel (11,1%) atau semua sampel yang dinyatakan positif terdeteksi trofozoit *Entamoeba histolytica* pada pemeriksaan rutin tinja, juga terdeteksi positif pada pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF, baik pada pemeriksaan MIF pertama, kedua dan juga ketiga. Tidak ada sampel yang dinyatakan positif pada pemeriksaan rutin tinja, menunjukkan hasil yang dinyatakan negatif pada pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF. Sebanyak 24 dari 27 sampel (88,9%) yang dinyatakan negatif pada pemeriksaan rutin tinja, ternyata sebanyak 11 di antaranya dinyatakan positif pada pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF, baik pada pemeriksaan MIF pertama, kedua, maupun ketiga. Hasil yang dinyatakan negatif pada pemeriksaan tinja menggunakan larutan MIF, baik pada pemeriksaan MIF pertama, kedua, maupun ketiga adalah sebanyak 13 dari 27 sampel (48,1%).

Tabel 5.3. Tabel analisis untuk uji statistik Mc Nemar antara hasil pemeriksaan rutin tinja dengan hasil pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF pada pemeriksaan MIF pertama, kedua atau ketiga

		Pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF pada pemeriksaan ke-n*)		
		Hasil positif	Hasil negatif	Total
Pemeriksaan rutin tinja	Hasil positif	3 (11,1%)	0 (0,0%)	3 (11,1%)
	Hasil negatif	11 (40,8%)	13 (48,1%)	24 (88,9%)
	Total	14 (51,9%)	13 (48,1%)	27 (100,0%)

Keterangan:

\*) = pemeriksaan MIF pertama atau pemeriksaan MIF kedua atau pemeriksaan MIF ketiga

Hasil uji statistik Mc Nemar dari tabel 5.3 untuk menjawab hipotesis pertama, yang menyatakan bahwa pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF, yang dilakukan segera setelah pemeriksaan rutin tinja, lebih efektif daripada pemeriksaan rutin tinja untuk deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica*, berdasarkan persentase hasil pemeriksaan yang dinyatakan positif, menunjukkan bahwa hipotesis pertama tersebut diterima secara statistik, dengan probabilitas hitung ( $p=0,001$  untuk uji dua arah) lebih kecil dari probabilitas yang telah ditentukan dalam penelitian ini ( $\alpha=0,05$ ), artinya terdapat perbedaan efektifitas yang bermakna secara statistik.

Berdasarkan tabel 5.1 dan tabel 5.2 ternyata jumlah hasil-hasil pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF pada pemeriksaan MIF pertama, kedua dan ketiga adalah sama, baik untuk hasil-hasil yang dinyatakan positif maupun negatif. Hasil ini menjawab tujuan khusus kedua dan hipotesis kedua dalam penelitian ini, yang menyatakan bahwa pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF jika dilakukan pada waktu yang ditunda dua jam setelah tinja dikeluarkan (pemeriksaan MIF kedua), maupun 24 jam setelah tinja dikeluarkan (pemeriksaan MIF ketiga), juga lebih

efektif daripada pemeriksaan rutin tinja. Hasil ini diuji pula kemaknaannya dengan uji statistik Mc Nemar untuk menjawab hipotesis kedua penelitian ini.

Tabel 5.3 untuk analisis uji statistik Mc Nemar hipotesis kedua dapat diuraikan sebagai berikut:

1. Pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF pada pemeriksaan MIF kedua (ditunda dua jam setelah tinja dikeluarkan penderita), lebih efektif daripada pemeriksaan rutin tinja.
2. Pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF pada pemeriksaan MIF ketiga (ditunda 24 jam setelah tinja dikeluarkan penderita), lebih efektif daripada pemeriksaan rutin tinja.

Hasil uji menunjukkan probabilitas hitung lebih kecil ( $p=0,001$  untuk uji dua arah) dari probabilitas yang telah ditentukan dalam penelitian ini ( $\alpha=0,05$ ), sehingga hipotesis kedua diterima secara statistik, artinya perbedaan efektifitas tersebut, baik antara pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF pada pemeriksaan MIF kedua dengan pemeriksaan rutin tinja, maupun antara pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF pada pemeriksaan MIF ketiga dengan pemeriksaan rutin tinja, bermakna secara statistik.

Hasil-hasil pemeriksaan positif maupun negatif pemeriksaan tinja menggunakan larutan MIF yang ternyata sama pada pemeriksaan MIF pertama, pemeriksaan MIF kedua dan pemeriksaan MIF ketiga, diuji pula dengan uji statistik Mc Nemar untuk membuktikan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna secara statistik dalam efektifitas, untuk pemeriksaan tinja menggunakan larutan MIF yang dilakukan segera setelah pemeriksaan rutin tinja, dengan pemeriksaan MIF yang ditunda tersebut di atas.

Tabel 5.4. Tabel analisis uji statistik Mc Nemar untuk hasil pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF antara pemeriksaan MIF pertama, kedua, dan ketiga

		Pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF pada pemeriksaan ke-n <sup>a)b)c)**</sup>		
		Hasil positif	Hasil negatif	Total
Pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF pada pemeriksaan ke-n <sup>a)b)c)**</sup>	Hasil positif	14 (51,9%)	0 (0,0%)	14 (51,9%)
	Hasil negatif	0 (0,0%)	13 (48,2%)	13 (48,2%)
	Total	14 (51,8%)	13 (48,2%)	27 (100,0%)

Keterangan:

- a) = pemeriksaan MIF pertama (pada \*) dengan pemeriksaan MIF kedua (pada \*\*)
- b) = pemeriksaan MIF pertama (pada \*) dengan pemeriksaan MIF ketiga (pada \*\*)
- c) = pemeriksaan MIF kedua (pada \*) dengan pemeriksaan MIF ketiga (pada \*\*)

Hasil uji statistik Mc Nemar untuk tabel 5.4. ternyata efektifitas pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF, baik untuk uji antara efektifitas pemeriksaan MIF pertama dengan pemeriksaan MIF kedua, pemeriksaan MIF pertama dengan pemeriksaan MIF ketiga maupun pemeriksaan MIF kedua dengan pemeriksaan MIF ketiga, ternyata tidak ada perbedaan bermakna, dengan probabilitas hitung masing-masing ( $p=1,000$  untuk uji dua arah) lebih besar dari probabilitas yang telah ditentukan dalam penelitian ini ( $\alpha=0,05$ ).

## Bab 6

### Pembahasan

#### 6.1. Efektifitas Pemeriksaan Mikroskopis Tinja Menggunakan Larutan Mertiolat-Iodium-Formaldehida (MIF) Segera setelah Tinja Dikeluarkan Penderita Diare

Tujuan khusus pertama dari penelitian ini untuk membuktikan bahwa pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF, yang dilakukan segera setelah tinja dikeluarkan, lebih efektif daripada pemeriksaan rutin tinja, untuk deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica* dalam tinja diare, berdasarkan persentase hasil pemeriksaan yang dinyatakan positif, telah terjawab. Seperti tercantum dalam tabel 5.1 dan tabel 5.2, ternyata pada pemeriksaan rutin tinja hanya sebanyak 3 (11,1%) sampel yang dinyatakan positif terdeteksi trofozoit *Entamoeba histolytica*, hal ini sesuai dengan teori bahwa hanya sekitar 10 sampai dengan 20% sampel tinja yang mengandung trofozoit *Entamoeba histolytica* yang dapat terdeteksi dengan pemeriksaan rutin tinja (Markell, Voge dan John, 1992). Hasil pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF ternyata sebanyak 14 (51,9%) dinyatakan positif. Belum ada rujukan ataupun pengalaman yang menyebutkan mengenai efektifitas metode ini, untuk deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica*, dengan berpedoman pada kriteria morfologi sebagaimana ditetapkan antara lain oleh Markell, Voge dan John (1992) serta Neva dan Brown (1994).

Hal tersebut di atas didukung oleh uji statistik sebagaimana tercantum dalam tabel 5.3, yang membuktikan bahwa hipotesis pertama penelitian ini dapat diterima, atau



dengan kata lain pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF, yang dilakukan segera setelah tinja dikeluarkan, lebih efektif secara bermakna daripada pemeriksaan rutin tinja, berdasarkan persentase hasil pemeriksaan yang dinyatakan positif.

Larutan MIF mengakibatkan trofozoit *Entamoeba histolytica* mati karena kandungannya memang merupakan bahan-bahan kimia yang bersifat antiseptik ataupun desinfektan (Lillie, 1954; Reynolds, 1993; Murray, 2002; Engley, 2003), oleh karena itu deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica* tidak berdasarkan gerakan yang khas, tetapi berdasarkan morfologi yang khas.

Walaupun trofozoit tersebut mati, struktur-struktur selnya tidak mengalami degenerasi seperti kematian yang spontan bila berada di luar tubuh manusia (Markell, Voge dan John; Neva dan Brown, 1994), tetapi struktur-struktur selnya itu tetap pada bentuk yang utuh, karena sekaligus terfiksasi oleh bahan formaldehida, sebagai salah satu komponen utama dalam larutan MIF (Anonim, 1953; Burrows, 1965; Manson-Bahr dan Bell, 1986; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994). Dengan demikian efek pertama dari larutan MIF ini adalah menyebabkan trofozoit *Entamoeba histolytica* mati namun tidak rusak struktur-struktur selnya, mulai dari membran sel hingga kariosom.

Komponen utama dalam larutan MIF yang berikutnya adalah mertiolat, sesuai dengan pernyataan dari Lillie (1954) dan Engley (2003), bahan tersebut adalah derivat merkuri, yang mempunyai tendensi atau kecenderungan untuk diikat secara kimiawi oleh sitoplasma dan struktur-struktur dalam sitoplasma sel pada suatu proses pengecatan yang bersifat sementara, artinya setelah dibuat sediaan pada kaca obyek, sediaan pada kaca obyek tersebut tidak dapat disimpan seperti sediaan dengan pewarnaan permanen.



Selain itu juga mertiolat merupakan bahan kimia yang memfiksasi struktur-struktur sel dengan kecenderungan yang berlawanan dengan formaldehida, yaitu menyebabkan sel dan struktur-struktur sel menggelembung. Mungkin komposisi mertiolat dan formaldehida dalam larutan MIF yang digunakan itu, menjadikan efek fiksasi dari formaldehida dan mertiolat menjadi tidak lagi menyebabkan pengerutan maupun penggelembungan badan serta struktur-struktur sel, termasuk sel trofozoit *Entamoeba histolytica*. Efek mertiolat pada sel trofozoit *Entamoeba histolytica* dengan demikian adalah memberikan warna pada sitoplasmanya, baik ektoplasma maupun endoplasma (Markell, Voge dan John, 1992), dan bersama-sama formaldehida memfiksasi badan serta struktur-struktur sel trofozoit *Entamoeba histolytica*.

Sedangkan Iodium dalam Lugol yang juga merupakan komponen utama dalam larutan MIF berguna memberikan warna pada inti sel dan struktur-struktur inti sel, karena memang bahan ini mempunyai tendensi paling tinggi untuk bereaksi secara kimia dan enzimatis dengan inti sel dan struktur-struktur lainnya (Lillie, 1954; Murray, 2002).

Ketiga bahan utama larutan MIF tersebut bekerja bersama, sehingga dapat dilakukan pengamatan morfologi trofozoit *Entamoeba histolytica* dalam tinja, secara mikroskopis sesuai dengan tinjauan pustaka serta dalam definisi operasional, sebab walaupun trofozoit tersebut telah mati dan tidak dapat lagi menampilkan gerakan *amoeboid* yang khas, tetapi sel beserta struktur-struktur yang khas tidak mengalami deteriorasi. Larutan MIF juga menyebabkan pengecatan protozoa yang bersifat sementara (Burrows, 1965; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994), artinya setelah dibuat sediaan pada kaca obyek, sediaan pada kaca obyek tersebut tidak dapat disimpan seperti sediaan dengan pewarnaan permanen. Dari tinja yang telah

dicampur dengan larutan MIF ini juga tidak dapat dilakukan pengecatan permanen (Scholten dan Yang, 1974; Markell, Voge dan John, 1992), karena sudah tidak dapat terjadi reaksi pewarnaan secara kimia dengan antara trofozoit *Entamoeba histolytica* dengan bahan lain, dengan kata lain telah jenuh.

Untuk deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica*, maupun bentuk trofozoit dari spesies-spesies protozoa yang lain, tidak dapat dilakukan metode konsentrasi walaupun tinja telah dicampur dan disimpan dalam larutan MIF, karena daya fiksasi bahan ini untuk membran sel organisme kurang kuat, tetapi teknik konsentrasi dapat dilakukan pada sampel tinja yang mengandung kista *Entamoeba histolytica* maupun kista protozoa lain, karena dinding sel kista sudah merupakan struktur yang kuat (Burrows, 1965; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994).

Hasil pemeriksaan yang dinyatakan positif pada pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF yang dilakukan segera setelah tinja dikeluarkan pada penelitian ini mencapai sebesar 51,9% untuk deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica* dalam tinja diare penderita gastroenteritis, tetapi hasil ini tidak menggambarkan kondisi epidemiologi. Hal ini karena hanya sampel-sampel tinja diare penderita gastroenteritis yang memenuhi syarat-syarat untuk dilakukan pemeriksaan rutin tinja dan menggunakan larutan MIF, yang diperiksa dan dicatat hasilnya dalam penelitian ini.

Tinja yang diperiksa dengan pemeriksaan rutin tinja dalam penelitian ini, walaupun semua diambil dan diperiksa dalam kondisi yang benar-benar baru dikeluarkan, sesuai dengan syarat dan kondisi untuk keberhasilan suatu pemeriksaan rutin tinja dengan larutan garam fisiologis (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994), ternyata hasil pemeriksaan yang dinyatakan positif dengan pemeriksaan rutin tinja untuk deteksi trofozoit *Entamoeba*

*histolytica*, seperti yang tercantum dalam awal bab ini, hanya sebesar 11,1% atau hanya 3 dari 27 tinja diare penderita gastroenteritis yang hasil pemeriksaannya dinyatakan positif.

Hal ini disebabkan karena kesulitan-kesulitan dalam pemeriksaan rutin tinja untuk deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica*. Kesulitan yang pertama dari metode ini adalah saat menempatkan lapangan pandang yang tepat melalui lensa obyektif untuk teramatinya suatu gerakan *amoeboid* yang khas, yaitu progresif atau cepat dan mempunyai atau menuju ke suatu arah tertentu (Burrows, 1965; Manson-Bahr dan Bell, 1986; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994). Pada tinja yang benar-benar baru tersebut untuk menemukan dan mengikuti suatu gerak yang diduga merupakan gerakan dari trofozoit *Entamoeba histolytica* sangat sulit (Burrows, 1965; Markell, Voge dan John, 1992), perpindahan dari satu lapangan pandang ke lapangan pandang yang lain menyulitkan dalam mengikuti suatu pergerakan yang dicurigai secara berkelanjutan, apalagi jika digunakan lensa obyektif dengan pembesaran 40 kali karena pergerakan trofozoit *Entamoeba histolytica* meskipun menuju ke suatu arah, tetapi cukup cepat (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994).

Pada pemeriksaan rutin tinja, trofozoit *Entamoeba histolytica* tidak berwarna, struktur inti dan kariosom tidak terlihat, sehingga pergerakan khas dari trofozoit tersebut merupakan satu-satunya indikator yang membedakan organisme tersebut dari komponen tinja yang lain.

Sediaan untuk pemeriksaan rutin tinja maupun sediaan tinja yang menggunakan larutan MIF merupakan sediaan yang basah (mengandung zat cair), hal ini menyukarkan dalam penggunaan lensa obyektif mikroskop dengan pembesaran tinggi

yang menggunakan minyak imersi. Karena dapat terjadi aliran keluar dari cairan sediaan akibat tekanan bagian lensa tersebut pada kaca penutup (*cover glass*), walaupun di atas kaca pelindung terdapat minyak imersi, sehingga trofozoit mungkin ada yang terdorong keluar pula dari bagian sediaan yang terlindung.

Pergeseran lensa obyektif dengan minyak imersi untuk berpindah dari satu lapangan pandang ke lapangan pandang yang lain juga menimbulkan kemungkinan aliran minyak imersi ke dalam cairan sediaan di bawah kaca pelindung. Pada sediaan untuk pemeriksaan rutin tinja, hal ini dapat menyebabkan gangguan bagi trofozoit *Entamoeba histolytica* untuk bertahan hidup, sehingga mengalami deteriorasi lebih cepat, dan tidak dapat lagi menampilkan pergerakan yang khas. Sedangkan pada sediaan yang menggunakan larutan MIF, hal ini mungkin berpengaruh pada warna yang ditimbulkan oleh larutan MIF, mungkin menjadi lebih buram, atau timbul artefak-artefak dari minyak imersi. Walaupun demikian pengamatan dengan lensa obyektif yang menggunakan minyak imersi tidak perlu dilakukan untuk kedua metode pemeriksaan tersebut di atas, karena WHO (1991) menyatakan bahwa untuk pengamatan protozoa pada pemeriksaan rutin tinja maupun pemeriksaan mikroskopis sediaan dengan pengecatan permanen, cukup menggunakan lensa obyektif dengan pembesaran 10 kali dan 40 kali.

Pemeriksaan rutin tinja dalam penelitian ini, menggunakan perbandingan volume tinja dengan volume larutan garam fisiologis pada setiap sediaan yang dibuat sesuai dengan yang direkomendasikan oleh WHO (1991), yaitu satu volume tinja dengan satu volume larutan garam fisiologis. Caranya adalah dengan meneteskan setetes larutan garam fisiologis pada permukaan kaca obyek, menggunakan pipet yang berukuran 1 ml = 30 tetes *aquadestilata*, dan dengan menggunakan pipet berukuran

sama, diambil tinja diare sebanyak satu tetes, kemudian dicampur rata, dan bagian-bagian yang tampak kasar disingkirkan.

Pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan dengan larutan MIF, dalam penelitian ini menggunakan perbandingan satu volume tinja dengan lima volume larutan MIF (Anonim, 1953; Burrows, 1965; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994).

Perbandingan konsentrasi tinja dalam kedua metode pemeriksaan mikroskopis tinja tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi tinja pada metode pemeriksaan rutin tinja yang direkomendasikan WHO lebih besar daripada konsentrasi tinja pada metode pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF. Hasil pemeriksaan walaupun demikian, menunjukkan bahwa dengan konsentrasi tinja yang lebih kecil pada pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF, justru lebih efektif untuk deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica*.

## **6.2. Efektifitas Pemeriksaan Mikroskopis Tinja Menggunakan Larutan Mertiolat-Iodium-Formaldehida (MIF) pada Waktu Pemeriksaan yang Ditunda**

Hasil pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF yang dinyatakan positif seperti yang terdapat dalam bab lima (tabel 5.1 dan tabel 5.2), yang dilakukan dalam waktu yang ditunda, yaitu pada pemeriksaan MIF kedua (dua jam setelah tinja dikeluarkan) maupun pemeriksaan MIF ketiga (24 jam setelah tinja dikeluarkan), sama banyak dengan hasil yang dinyatakan positif pada pemeriksaan MIF pertama. Ini berarti bahwa pemeriksaan MIF kedua maupun ketiga tersebut juga lebih efektif daripada pemeriksaan rutin tinja, untuk deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica* dalam tinja diare.



berdasarkan persentase hasil pemeriksaan yang dinyatakan positif, dengan demikian analisis statistik juga menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan efektifitas pemeriksaan rutin tinja.

Hasil-hasil tersebut di atas berarti telah menjawab tujuan khusus kedua dan hipotesis kedua penelitian ini, yaitu bahwa pemeriksaan tinja menggunakan larutan MIF, lebih efektif daripada pemeriksaan rutin tinja, untuk deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica* dalam tinja diare, berdasarkan persentase hasil pemeriksaan yang dinyatakan positif.

Dalam analisis hasil, diuji pula kemaknaan perbedaan efektifitas pemeriksaan tinja menggunakan larutan MIF pada pemeriksaan MIF pertama, pemeriksaan MIF kedua dan pemeriksaan MIF ketiga, dan ternyata hasil uji menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna.

Efektifitas pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF pada waktu-waktu yang ditunda tersebut, menunjukkan bahwa dengan pemeriksaan ini masalah waktu yang tertunda dalam melakukan pemeriksaan rutin tinja, untuk deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica* dalam tinja diare, yang sering terjadi di laboratorium-laboratorium pusat kesehatan (rumah sakit, puskesmas, poliklinik) dan laboratorium rujukan dan laboratorium-laboratorium umum sebagaimana disebutkan dalam latar belakang penelitian ini, dapat diatasi dengan pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF.

Di ruangan-ruangan rawat inap dan rawat jalan suatu pusat kesehatan serta di laboratorium-laboratorium umum, dapat disediakan larutan ini. Sewaktu-waktu diperlukan pemeriksaan mikroskopis tinja dari penderita, dapat disiapkan larutan ini dan

selanjutnya diikuti prosedur-prosedur penggunaan dengan benar, sebagaimana yang telah disebutkan dalam tinjauan pustaka metode penelitian.

Metode pemeriksaan rutin tinja dengan membuat sediaan langsung yang dibubuhi larutan garam fisiologis tidak perlu lagi dilakukan, bila telah disiapkan tinja diare penderita yang telah dicampur dan disimpan dengan larutan MIF. Artinya, suatu pusat kesehatan ataupun laboratorium umum, tidak perlu lagi mengawali suatu pemeriksaan mikroskopis tinja untuk deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica*, dengan pemeriksaan rutin tinja yang direkomendasikan oleh WHO sebagai pemeriksaan indikator. Cukup dengan melakukan pemeriksaan mikroskopis pada tinja yang telah dicampur dan disimpan dalam larutan MIF saja, lebih-lebih bila saat pengambilan tinja tersebut tidak pada saat jam kerja laboratorium atau pada saat tidak ada atau masih harus menunggu petugas laboratorium yang kompeten dalam pemeriksaan mikroskopis tinja.

### **6.3. Kelebihan dan Kekurangan Pemeriksaan Mikroskopis Tinja Menggunakan Larutan Mertiolat-Iodium-Formaldehida (MIF)**

Berdasarkan hasil pemeriksaan yang dinyatakan positif dari pemeriksaan rutin tinja dan pemeriksaan tinja menggunakan larutan MIF yang telah dibahas di atas, jelas bahwa pemeriksaan tinja menggunakan larutan MIF mempunyai efektifitas yang lebih baik daripada pemeriksaan rutin tinja. Efektifitas ini merupakan kelebihan yang pertama dari larutan MIF.

Penyediaan dan pembuatan larutan MIF yang terdiri dari dua macam larutan, yaitu larutan Mertiolat-Formaldehida dan larutan Iodium dalam Lugol, dapat dilakukan langsung dalam laboratorium yang digunakan untuk pemeriksaan mikroskopis tinja penderita sehari-hari, maupun untuk rujukan. Penyediaan dan pembuatan hanya



memerlukan peralatan-peralatan yang sudah biasa terdapat dalam suatu laboratorium, yang terdiri dari alat-alat perlengkapan untuk petugas yang melaksanakan pembuatan (jas laboratorium, sarung tangan karet, masker hidung-mulut dan kaca mata laboratorium), alat-alat pembuatan atau pengolahan bahan (neraca dan kelengkapannya, gelas ukur atau labu ukur, tabung reaksi, pengaduk dari kaca, botol berwarna coklat, corong dan pipet), dan alat-alat untuk memelihara kebersihan laboratorium beserta isinya (antara lain kertas tisu, sapu, ember, sabun, bahan antiseptik).

Bahan pemeriksaan rutin tinja tinja secara mikroskopis yang hanya perlu menyediakan larutan garam fisiologis, dapat dibeli di apotik seharga Rp. 8500, untuk setiap wadah standar yang bervolume 500 mililiter, dan sudah dapat langsung digunakan. Setiap pemeriksaan rutin tinja tinja secara mikroskopis memerlukan larutan tersebut sebanyak 0,03-0,06 mililiter, maka dari satu wadah dapat digunakan untuk memeriksa sedikitnya 208 sediaan (sediaan pada kaca obyek) tinja, dan sebanyak-banyaknya 416 sediaan tinja. Biaya yang dikeluarkan laboratorium untuk setiap sediaan yang dilakukan pemeriksaan rutin tinja berkisar antara Rp. 5 sampai dengan Rp. 10.

Sementara ini untuk pembelian larutan MF siap pakai harus dilakukan pemesanan keluar negeri, dengan hanya sedikit penyalur di Indonesia, dan harus menunggu pengiriman dalam waktu sekitar tiga sampai enam bulan setelah pemesanan.

Penyediaan dan pembuatan sendiri larutan MIF, sebagaimana yang telah dilakukan dalam penelitian ini tidak sukar. Baik larutan MF maupun larutan Iodium dalam Lugol, dapat dibuat sendiri dengan membeli bahan-bahan dasarnya di penyalur atau toko bahan-bahan kimia laboratorium.

Pembuatan larutan MF dengan volume standar untuk disediakan di suatu laboratorium adalah sebesar 480 mililiter (Anonim, 1953; Burrows, 1965; Markell,

Voge dan John, 1992; Neva dan brown, 1994), memerlukan bahan-bahan dasar sebagai berikut:

Tingtura dari Mertiolat ( <i>Merthiolate</i> ) (1:1000)	200 ml, terdiri dari:
Mertiolat	0,2 gram (Rp. 25.000)
Etanol	200 ml (Rp. 150.000)
Formaldehida ( <i>formaldehyde</i> USP)	25 ml (Rp. 40.000)
Gliserol	5 ml (Rp. 20.000)
Air yang didistilasi	250 ml (Rp. 50.000)
<b>TOTAL BIAYA</b>	<b>Rp. 285.000</b>

Larutan MF sebanyak itu dapat digunakan untuk penyimpanan serta pemeriksaan sebanyak 202 sampel tinja, dan biaya yang dikeluarkan laboratorium dalam penyediaan larutan ini untuk setiap sediaan tinja hanya sebesar lebih kurang Rp. 1500.

Pembelian larutan Iodium dalam Lugol tidak sukar, dapat dibeli di apotik atau di penyalur bahan-bahan pemeriksaan laboratorium dengan harga dua ratus ribu rupiah setiap kemasan bervolume 250 mililiter. Bila penggunaan larutan ini seperti yang dilakukan dalam penelitian ini, yaitu 0,15 mililiter untuk setiap 0,25 gram atau 0,5 ml sampel tinja dalam wadah, maka setiap satu kemasan larutan Iodium dalam Lugol dapat digunakan untuk menyimpan sebanyak 1666 sampel tinja seberat 0,25 gram. Biaya yang dikeluarkan laboratorium untuk larutan Iodium dalam Lugol pada setiap sampel tinja hanya sebesar lebih kurang Rp. 120. Mungkin penyediaan larutan ini dalam kemasan besar yang biasa dijual di apotik atau di penyalur bahan-bahan pemeriksaan laboratorium tidak sesuai dengan teknik penggunaan larutan ini untuk membuat larutan MIF, karena paling lama setiap tiga minggu sejak tanggal pembuatan, larutan Iodium

dalam Lugol harus diganti dengan yang baru (Anonim, 1953; Burrows, 1965; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994).

Pembuatan sendiri larutan Iodium dalam Lugol dengan standar penyediaan dalam suatu laboratorium adalah sebanyak 100 mililiter (Anonim, 1953; Burrows, 1965; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994), dan memerlukan bahan-bahan sebagai berikut:

Kristal Iodium	5 gram	(Rp. 25.000)
Kalium iodida	10 gram	(Rp. 20.000)
Air yang didistilasi	100 ml	(Rp. 20.000)
TOTAL BIAYA		Rp. 65.000

Penggunaan larutan Iodium dalam Lugol seperti dalam penelitian ini adalah sebanyak 0,15 mililiter untuk setiap sampel tinja, sehingga 100 mililiter larutan tersebut yang disediakan dapat digunakan untuk menyimpan sebanyak-banyaknya 666 sampel tinja. Biaya yang dikeluarkan laboratorium untuk larutan ini pada setiap 0,25 gram atau 0,5 ml sampel tinja, hanya sebesar lebih kurang Rp. 98.

Total biaya yang dikeluarkan oleh suatu laboratorium yang menggunakan larutan MIF yang dibuat sendiri, dengan komposisi 2,35 mililiter larutan MF dicampur dengan 0,15 mililiter larutan Iodium dalam Lugol, untuk setiap 0,25 gram atau 0,5 ml sampel tinja adalah sebesar lebih kurang Rp. 1598. Dibandingkan dengan biaya yang harus dikeluarkan oleh suatu laboratorium untuk setiap satu sediaan pada pemeriksaan rutin tinja menggunakan larutan garam fisiologis, menimbulkan kesan harga tersebut mencapai sekitar 160 sampai dengan 320 kalinya, tetapi mungkin kesan ini menjadi sebaliknya, yaitu justru pemeriksaan menggunakan larutan MIF lebih murah, karena

dapat dibuat lebih dari satu sediaan tanpa menambah biaya untuk penggunaan larutan MIF.

Perbandingan biaya bagaimanapun juga bukan merupakan ukuran untuk memilih suatu metode pemeriksaan, lagipula ternyata harga penggunaan larutan MIF tersebut masih terjangkau oleh laboratorium-laboratorium yang melayani pemeriksaan mikroskopis tinja secara mikroskopis.

Ukuran pemilihan penggunaan suatu metode pemeriksaan mikroskopis tinja secara mikroskopis tentu lebih berdasarkan efektifitas metode yang akan dipilih. Efektifitas dalam hal ini selain berdasarkan besarnya persentase hasil positif yang dapat dicapai, juga mencakup efek penggunaan bahan tersebut terhadap tinja dan organisme yang menjadi tujuan pemeriksaan.

Efek tersebut dapat diketahui dengan melihat bagaimana keadaan tinja dan organisme yang bercampur dengan larutan garam fisiologis pada saat dibuat sediaan dan diperiksa secara mikroskopis, dan bagaimana keadaan tinja dan organisme yang telah disimpan dengan larutan MIF pada saat diperiksa secara mikroskopis.

Dalam hal ini kemudahan pemeriksaan secara mikroskopis lebih dapat diharapkan pada tinja yang telah disimpan dalam larutan MIF, karena organisme dalam tinja (dalam penelitian ini yang dimaksud adalah trofozoit *Entamoeba histolytica*), terawetkan, terfiksasi secara morfologi dan berwarna, sehingga lebih mudah diidentifikasi secara morfologi.

Dalam hal waktu, pemeriksaan tinja menggunakan larutan MIF ini juga lebih menguntungkan, karena dapat tetap dilakukan pada waktu yang tertunda.

Kekurangan pemeriksaan tinja menggunakan larutan MIF adalah bahwa pencampuran larutan ini dengan tinja yang mengandung trofozoit *Entamoeba*

*histolytica* ataupun protozoa lain, menyebabkan pengenceran. Pengenceran ini tentunya menyebabkan densitas trofozoit *Entamoeba histolytica* dalam tinja semakin berkurang. Dalam penelitian ini hal tersebut diatasi dengan pembuatan dan pemeriksaan sediaan selanjutnya, bila sediaan terdahulu dinyatakan negatif, tetapi bila sudah diaplikasikan di suatu laboratorium pelayanan, sukar untuk melakukan teknik pemeriksaan sediaan seperti dalam penelitian ini.

Tinjauan pustaka menyebutkan bahwa teknik untuk pencampuran kedua komponen larutan MIF, yaitu larutan MF dan larutan Iodium dalam Lugol adalah segera atau sesaat (Knight, 1985; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994), atau sekitar dua sampai dengan lima detik sebelum dicampurkan pada sampel tinja (Anonim, 1953), karena akan terjadi presipitasi jika campuran larutan MF dan larutan Iodium Lugol tersebut didiamkan lama sebelum dicampur dengan tinja (Anonim, 1953; Neva dan Brown, 1994).

Peristiwa presipitasi adalah peristiwa timbulnya bentukan seperti kabut atau asap, sampai dengan tampak partikel-partikel kecil padat berwarna putih dalam campuran kedua larutan tersebut di atas, sehingga bila dicampur dengan tinja pada kondisi seperti itu, reaksi kimiawi dan enzimatis dengan parasit-parasit protozoa yang terdapat dalam tinja tidak berlangsung sempurna.

Kondisi tersebut di atas bila dibandingkan dengan syarat-syarat dalam metode pemeriksaan rutin tinja yang direkomendasikan oleh WHO, pada pelaksanaan tidak sukar, seperti yang dialami sendiri oleh peneliti, sehingga masalah ini dapat merupakan kekurangan dalam penggunaan larutan MIF, atau juga bisa bukan merupakan masalah yang berarti.



Hal lain yang perlu diperhatikan pada penggunaan larutan MIF ini adalah pengambilan sampel tidak harus dengan berat atau volume seperti yang dilakukan dalam penelitian ini. Berdasarkan tinjauan pustaka dan aplikasi di laboratorium luar negeri, untuk pemeriksaan harian di laboratorium rumah sakit ataupun laboratorium umum dan rujukan dapat dipilih salah satu alternatif sebagai berikut; sampel tinja seberat 0,25 gram disimpan dalam 2,5 ml larutan MIF (terdiri dari 2,35 ml larutan MF dan 0,15 ml larutan Iodium dalam Lugol) (Faust, Russell dan Jung, 1974; Manson-Bahr dan Bell, 1986; Markell, Voge dan John, 1992), atau bila diukur berdasarkan volume maka untuk keperluan tersebut, satu volume tinja disimpan dalam tiga sampai dengan lima volume larutan MIF (Anonim, 1953).

Tinjauan pustaka menyatakan bahwa untuk diagnosis pasti amubiasis, apakah amubiasis usus ataupun amubiasis ekstraintestinal, diperlukan berbagai metode pemeriksaan secara kombinasi, karena tidak ada satu pemeriksaan pun hingga saat ini yang dapat digunakan secara sendiri untuk kepentingan diagnosis pasti suatu kasus yang dicurigai sebagai kasus amubiasis usus (Manson-Bahr dan Bell, 1986; Neva dan Brown, 1994; Roberts dan Janovy, 2000), walaupun demikian setidaknya pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF ini dapat mengatasi beberapa kekurangan dalam pemeriksaan rutin tinja yang direkomendasikan oleh WHO dalam deteksi infeksi *Entamoeba histolytica*, yang selama ini menjadi pemeriksaan laboratorium yang paling direkomendasikan sebagai pemeriksaan indikator pada infeksi protozoa, termasuk *Entamoeba histolytica* (Burrows, 1965; Manson-Bahr dan Bell, 1986; WHO, 1991; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994), terutama untuk mengatasi masalah, bahwa suatu sampel tinja dari seorang penderita yang diduga terdapat trofozoit *Entamoeba histolytica*, harus diperiksa dalam keadaan baru dikeluarkan, agar trofozoit

*Entamoeba histolytica* yang hidup dengan menampilkan pergerakan yang khas dapat teramati (Manson-Bahr dan Beli, 1986; Markell, Voge dan John, 1992; Neva dan Brown, 1994).

#### 6.4. Masalah serta Keterbatasan dalam Penelitian

Masalah-masalah yang terjadi selama persiapan dan pelaksanaan penelitian ini menyangkut pencarian tinja dari penderita yang dapat memenuhi kriteria yang telah ditetapkan dalam metodologi penelitian. Hal ini karena saat ini pencatatan kasus-kasus terdapatnya trofozoit *Entamoeba histolytica* dalam tinja diare penderita gastroenteritis jarang ditemukan.

Jarangnya pencatatan bukan berarti pada kenyataan memang sudah tidak ada lagi infeksi *Entamoeba histolytica*, namun hal ini mungkin justru merupakan suatu cermin bahwa memang diperlukan suatu metode pemeriksaan mikroskopis sebagai alternatif pemeriksaan rutin tinja yang selama ini menjadi pemeriksaan indikator, seperti metode pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF yang telah dilakukan dalam penelitian ini untuk deteksi trofozoit parasit tersebut, sehingga pencatatan kejadian diare pada penderita gastroenteritis yang disebabkan oleh infeksi *Entamoeba histolytica* terdokumentasi dengan jelas.

Masalah lain dalam penelitian ini adalah adanya presipitasi bila larutan MF dan larutan Iodium dalam Lugol dibiarkan bercampur lebih dari lima detik, sebelum dicampurkan dengan tinja, sehingga larutan MIF yang telah mengalami presipitasi tidak bereaksi dengan sempurna dengan protein dan enzim organisme yang terdapat pada tinja, termasuk protein-protein sel dan enzim trofozoit *Entamoeba histolytica*. Kondisi



ini merupakan tantangan untuk penemuan atau penggunaan bahan tambahan sebagai komponen larutan MIF, yang bersifat dapat mencegah terjadinya presipitasi tersebut.

Perlu juga untuk mengadakan eksperimentasi yang dapat menggabungkan metode pemeriksaan mikroskopis tinja diare menggunakan larutan MIF dengan metode konsentrasi tinja tersebut, sehingga deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica* dapat lebih dipermudah lagi. Dan ini mungkin nanti akan dapat menjadi solusi yang baik untuk mengaplikasikan pemeriksaan ini di laboratorium pelayanan (laboratorium dalam rumah sakit atau pusat kesehatan yang lain, laboratorium umum dan laboraorium rujukan).

Keterbatasan dalam penelitian ini adalah kesukaran dalam mengkonfirmasi hasil pemeriksaan rutin tinja tinja secara mikroskopis kepada ahli, karena waktu serta jarak tempat penelitian dengan waktu dan tempat rujukan yang tidak selalu sesuai. Hal ini berarti juga menunjukkan kelemahan dari metode pemeriksaa tinja secara rutin itu sendiri.

Keterbatasan berikutnya dalam penelitian ini adalah jumlah sampel yang menggunakan sampel berukuran kecil, walaupun berdasarkan rumus yang digunakan, ukuran sampel tersebut sudah cukup untuk diuji secara statistik untuk membuktikan kemaknaan hasil yang didapatkan dalam penelitian ini.

Keterbatasan yang lain dalam penelitian ini adalah bahwa semua sampel penelitian adalah berasal dari penderita anak-anak. Hal ini karena pada usaha untuk mengumpulkan sampel penelitian, ternyata sukar untuk memperoleh tinja diare dari penderita gastroenteritis dewasa, karena di ruangan rawat jalan penderita yang ditangani adalah penderita-penderita yang telah keluar dari rumah sakit, dan hanya perlu dilakukan kontrol saja, sehingga tidak dapat memenuhi persyaratan bahwa penderita harus bebas terapi selama dua minggu terakhir, dan gejala diare telah ringan atau

bahkan sudah tidak diare, secara teknis sukar ditunggu keluarnya tinja yang baru untuk diperiksa. Di ruang rawat inap serta instalasi rawat darurat, kesulitan pengambilan tinja disebabkan karena kesukaran teknis, terutama pada saat ditampung, tinja yang baru dikeluarkan bercampur dengan tinja yang dikeluarkan sebelumnya atau dengan urine penderita.

Terakhir adalah mengenai keterbatasan dalam hal tidak dilakukan uji sensitifitas dan spesifisitas untuk pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF pada penelitian ini, hal ini karena syarat-syarat untuk melakukan kedua uji tersebut belum dapat dipenuhi dalam penelitian ini. Syarat-syarat yang diperlukan untuk melakukan kedua uji tersebut adalah jumlah sampel yang besar untuk menghindari bias, dan sampel harus sudah didiagnosis pasti dengan pemeriksaan lain (Sutrisna, 1986), dapat dengan pemeriksaan klinis atau dalam hal infeksi *Entamoeba histolytica* yang memberikan gejala diare, dapat dilakukan pemeriksaan lain secara sendiri atau kombinasi yang telah jelas dan cukup baik sensitifitas serta spesifisitasnya untuk deteksi kasus tersebut (Sutrisna, 1986). Dalam hal ini pada penelitian yang akan datang dapat dilakukan dulu pemeriksaan tinja dengan metode kombinasi *ELISA* dan *PCR*, baru kemudian hasil yang sudah tidak mengandung *false positif* dan *false negatif* tersebut diperiksa dengan metode pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF.

## Bab 7

### Penutup

#### 7.1. Kesimpulan

Kesimpulan penelitian ini adalah:

1. Pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF yang dilakukan segera setelah tinja dikeluarkan penderita lebih efektif daripada pemeriksaan rutin tinja, untuk deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica* dalam tinja diare, berdasarkan persentase hasil pemeriksaan yang dinyatakan positif.
2. Pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF, yang dilakukan:
  - a. Pada waktu yang ditunda dua jam setelah tinja dikeluarkan penderita
  - b. Pada waktu yang ditunda 24 jam setelah tinja dikeluarkan penderitalebih efektif daripada pemeriksaan rutin tinja, dan tidak berbeda secara bermakna dibandingkan dengan efektifitas pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF yang dilakukan segera setelah tinja dikeluarkan penderita, untuk deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica* dalam tinja diare, berdasarkan persentase hasil pemeriksaan yang dinyatakan positif.

## 7.2. Saran

Berdasarkan hasil-hasil serta masalah-masalah yang timbul dari penelitian ini, maka perlu untuk dilakukan penelitian yang lebih lanjut dalam rangka pengembangan penggunaan larutan MIF di laboratorium-laboratorium pusat-pusat kesehatan (rumah sakit, puskesmas, poliklinik), laboratorium umum serta laboratorium rujukan.

Penelitian-penelitian lebih lanjut yang perlu dilakukan adalah:

1. Sehubungan dengan sifat komponen-komponen larutan MIF, yaitu larutan MF dan larutan Iodium dalam lugol yang mengalami presipitasi, bila dibiarkan bercampur lebih dari lima detik sebelum dicampurkan dengan tinja, maka di masa mendatang perlu dilakukan penelitian untuk menemukan bahan tambahan yang dapat mencegah presipitasi dalam larutan MIF, jika larutan MF dibiarkan lebih dari lima detik bercampur dengan larutan Iodium dalam lugol sebelum dicampur dengan tinja.
2. Larutan MIF bersifat *soft-fixation*, oleh karena itu tinja yang telah dicampur dengan larutan tersebut belum dapat digunakan sebagai bahan dalam pemeriksaan dengan metode konsentrasi. Di masa mendatang sangat penting dilakukan penelitian untuk menggunakan tinja diare yang telah disimpan dalam larutan MIF sebagai bahan pemeriksaan mikroskopis tinja dengan metode konsentrasi, untuk deteksi trofozoit *Entamoeba histolytica*, antara lain dapat dipikirkan mengenai penyesuaian kecepatan rotasi alat pemutar dalam proses penyiapan bahan tinja yang telah dicampur dengan larutan MIF.

## Daftar Pustaka

- Anand AC, Reddy PS, Saiprasad GS, Kher SK, 2002. Does Non-dysenteric Intestinal Amoebiasis Exist?. *The Lancet* 349:89-92.
- Anderson HH, Bostick WL, Johnstone HG, 1953. *Amebiasis: Pathology, Diagnosis and Chemotherapy*. Springfield: Charles C Thomas Publisher, pp 39-226.
- Anonim, 1953. Fixation using MIF. *Am J Trop Med Hyg* 2:613-619
- Bagian Penyakit dalam, 1994. Amubiasis. Dalam: *Pedoman Diagnosis dan Terapi*. Surabaya: FK UNAIR-RSUD dr. Soetomo, hlm 53-53.
- Bhopale KK, Pradhan KS, 1995. A Comparative Study of Experimental Caecal Amoebiasis and the Evaluation of Amoebicides. *Ann Trop Med Parasitol* 89:253-9.
- Botero D, 1989. Intestinal Protozoan Diseases. In: Goldsmith R and Heyneman D. *Tropical medicine and parasitology*. New jersey: Prentice-Hall Int. Inc, pp 224-36.
- Brasitus TA, 1988. Parasitic Infestations of The gastrointestinal Tract. In: Bongiovanni GL. *Essentials of Clinical Gastroenterology*. Singapore: Chong Moh Oh Pom Pte. Ltd.
- Burrows RB, 1965. *Microscopic Diagnosis of The Parasites of Man*. New Haven and London: Yale University Press, pp 12-14.
- Cable RM, 1968. *An Illustrated Laboratory Manual of Parasitology*. Minneapolis: Burgess Publishing Co, pp 148-150.
- Cook GC, 1995. *Entamoeba histolytica and Giardia lamblia Infections: Current Diagnostic Strategy*. *Parasite* 2:107-12.
- Craig CF, Faust EC, 1974. *Clinical Parasitology*. Eighth edition, reprinted. Philadelphia: Lea and Febiger, pp 141-172, 783-798.
- Crewe W, Haddock DRW, 1985. *Parasites and Human Disease*. Melbourne: Edward Arnold Ltd, pp 3-17, 193-195.
- Davey TH, Crewe W, 1973. *Blacklock and Southwell: A guide to Human Parasitology*. Ninth ed, London :The English Language Book Society and HK Lewis & Co. Ltd, pp 13-26, 180-213.

- Desowitz RS, 1989. fecal, Blood and Urine Examination. In: Goldsmith R and Heyneman D. Tropical medicine and parasitology. New jersey: Prentice-Hall Int. Inc, pp 866-71.
- Division of Epidemiology and Immunization, 2001. Amebiasis. Massachusetts: Department of Public Health.
- Eichinger D, 1997. Encystation of Entamoeba Parasites. Bioessays 19:633-9.
- Engley F, 2003. Microbial Growth and Its Control. Microbiology 205. New York: Mosby pp 15-20.
- Espinosa-Cantellano M, Martinez-Palomo A, 2000. Pathogenesis of Intestinal Amebiasis:From Molucules to Disease. Clinical Microbiology Reviews 13 (2): 318-331.
- Fatkenheuer G, Arnold G, Steffen HM, 1997. Invasive Amebiasis in Two Patients with AIDS and Cytomegalovirus Colitis. J Clin Microbiol 35:2168-69.
- Fonte L, Montalvo AM, Alberti E, 1998. Overdiagnosis of Intestinal Amoebiasis Associated to Serial Microscopical Examination of Faeces. Some Presicions on a Problem. Mem Inst Oswaldo Cruz 93(6): 799-800.
- Freeman CD, 1997. Metronidazole. A Therapeutic Review and Up Date. Drugs 54:679-708.
- Frey RJ, 2002. Gale Encyclopedia of Medicine. Stamford: Gale Group, pp 68-72.
- Ghosh S, Frisardi M, Ramirez-Avila L, 2000. Molecular Epidemiology of *Entamoeba* spp.: Evidence of a Bottleneck (Demographic Sweep) and Transcontinental Spread of Diploid Parasites. J of Clin Micr 38 (10): 3815-3821.
- Giacometti A, 1997. Epidemiologic Features of Intestinal Parasitic Infections in Italian Mental Institution. Eur J Epidemiol 13:825-30.
- Goldsmith R, Heyneman D, 1989. Tropical Medicine and Parasitology. New Jersey: Prentice-Hall Int. Inc, pp 224-236, 866-871.
- Gonzales-Ruiz A, Haque R, Aguirre A, 1994. Value of Microscopy in the Diagnosis of Dysentery Associated with Invasive *Entamoeba histolytica*. J Clin Pathol 47:236-9.
- Guyton AC, 1986. Textbook of Medical Physiology 7<sup>th</sup> ed. (Buku Ajar Fisiologi Kedokteran jilid III, Tengadi KA alih bahasa, Effendi H dan Melfiawati editor). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, hlm 106-127.
- Hadi S, 2002. Gastroenterologi. Cetakan ke-2. Bandung: Alumni, hlm 43-67.



- Haque R, Neville LM, 1995. Rapid Diagnosis of *Entamoeba* infection using *Entamoeba* and *Entamoeba histolytica* Stool Antigen Detection Kits. *J Clin Microbiol* 33:2558-61.
- Hiatt RA, Markell EK, 1995. How Many Stool Examinations are Necessary to Detect Pathogenic Intestinal Protozoa?. *Am J Trop Med Hyg* 53:36-9.
- Hunter GW, Frye WW, Swartzwelder JC, 1966. *A Manual of Tropical Medicine*. Fourth ed, Philadelphia: WB Saunders Co, pp 271-277.
- Huston CD, Haque R, Petri WA, Jr, 1999. Molecular-based Diagnosis of *Entamoeba histolytica* Infection. *Ex Rev Mol Med* 22:59-66.
- Jeffrey HC, Leach RM, 1991. *Atlas of Medical Helminthology and Protozoology*. Third edition, London: Churchill Livingstone. Alih bahasa: Soedarto, 1993. *Atlas Helmintologi dan Protozoologi Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, hlm 57.
- Jindal N, Arora R, 1995. A Study of Infective Aetiology of Chronic Diarrhoea in Children in Amritsar. *J Indian med Assoc* 93:169-70.
- Juckett G, 1996. Intestinal Protozoa. *Am Fam Physician* 53:2507-18.
- King JW, 1995. Amebiasis. *Bug Bytes* 2 (12).  
<http://www.ccm.lsumc.edu/bugbytes/Volume2/bb-v2n12.htm>
- Knight R, 1985. *Parasitic Disease in Man*. Edinburgh: ELBS/Churchill Livingstone, pp 12-26, 110-179.
- Kreidl P, Imnadze P, Baidoshvili L, 1999. Investigation of An Outbreak of Amoebiasis in Georgia. *Eurosurveillance* 4 (10): 103-104.
- Lee KC, Yamazaki O, 1996. Analysis of 69 Patients with Amebic Liver Abscess. *J Gastroenterol* 21:41-5.
- Li E, Stanley SL, 1996. Protozoa. Amoebiasis. *Gastroenterol Clin North Am* 25:471-92.
- Lillie RD, 1954. *Histopathologic Technic and Practical Histochemistry*. Second edition, Toronto: McGraw-Hill Book Company, pp 14, 88.
- Lyche KD, 1997. Pleuropulmonary. *Semin Respir Infect* 12:106-12.
- Manson-Bahr PH, Bell DR, 1986. *Manson's Tropical Diseases: A Manual of The Diseases of warm Climates*. London: Cassel and Co. Ltd, pp 284, 301-316, 1243-1253, 1489-1491.



- Markell EK, Voge M, John DT, 1992. Medical Parasitology. Philadelphia: W.B. Saunders Company, pp 22-41.
- Martinez-Garcia F, 1996. Protozoan Infection in the Male Genital Tract. J Urol 156:340-9.
- McCormick M, Bayer R, Berg A, 2001. Thimerosal-Containing Vaccines and Neurodevelopmental Outcomes Immunization Safety Review. Cambridge: Public Meeting.
- Meropol SB, 1995. Health Status of Pediatric Refugees in Buffalo, NY. Arch Pediatr Adolesc Med 148:887-92.
- Mirelman D, Katz U, Libros P, 2002. Molecular Dissection of The Virulence Factors of The Parasite *Entamoeba histolytica*. Life Science Open Day 56:11-12.
- Monge R, 1996. Seasonality of Parasites and Intestinal Bacteria in Vegetables that are Consumed Raw in Costa Rica. Rev Biol Trop 44:369-75.
- Montealegre G, 2001. Amebiasis. Programa Salud Integral I. Ibague: Facultad de Ciencias de la Salud Universidad del Tolima.
- Morse CD, 1982. Specimen Collection and Handling. In: Balows A, Hausler WJ. Bacterial, Mycotic and parasitic Infections 6 th ed. Washington DC: American public health Association, pp 67-72.
- Murray PR, Kobayashi G, Michael A, 2002. Medical Microbiology. Fourth edition, New York: Mosby, pp 79-87.
- Nace EK, Steurer FJ, Eberhard ML, 1999. Evaluation of Streck Tissue Fixative for Preservation of Stool Samples and Subsequent parasitologic Examination. J Clin Microbiol 37:4113-19.
- National Organic Standards Board Technical Advisory Panel Review (NOSB TAP), 2002. Gelatin Processing. Organic Material Review Institute (OMRI) for The USDA National Organic Program.
- Neva FA, Brown HW, 1994. Basic Clinical Parasitology. Sixth edition, Norwalk: Appleton & Lange, pp 17-35.
- Nopdonrattakoon L, 1996. Amoebiasis of the Female Genital Tract: a Case Report. J Obstet Gynaecol Res 22:235-8.
- Omar MS, Mahfouz AA, 1995. The Relationship of Water Sources and Other Determinants to Prevalence of Intestinal Protozoal Infection in a Rural Community of Saudi Arabia. J Community Health 20:433-40.
- Palau LA, 1997. First Report of Invasive Amebiasis in Organ Transplant Recipient. Transplantation 64:936-7.

- Pearce EJ and Tarleton RL, 2002. Overview of The parasitic Pathogens. In: Kauffman SHE, Sher A, Ahmed R, 2002. Immunology of Infectious Diseases, Washington DC: ASM Press, pp 39-43.
- Pietrzak-Johnston SM, Bishop H, Wahlquist S, 2000. Evaluation of Commercially Available Preservatives for Laboratory Detection of Helminths and Protozoa in Human Fecal Specimen. *J Clin Microbiol* 38:1959-64.
- Public Health Division, 1999. Amoebiasis. In: The Blue Book: Guidelines for the control of infectious diseases. Government of Victoria: Department of Human Services.
- Ramos-Vara, 1998. Handout on Immunochemistry and In Situ Hybridization. Columbia: Immunochemistry Laboratory of Veterinary Medical Diagnostic Laboratory.
- Reynolds JEF (ed), 1982. Martindale: The Extra Pharmacopoeia. 28<sup>th</sup> ed, London: The Pharmaceutical Press, pp.968-988, 1076-1223.
- Reynolds JEF (ed), 1993. Martindale: The Extra Pharmacopoeia. 30<sup>th</sup> ed, London: The Pharmaceutical Press, pp. 794-5, 804, 1460.
- Roberts LS, Janovy J, Jr, 2000. Schmidt and Robert's Foundations of Parasitology. Sixth edition, Singapore: Mc Graw Hill Company, pp 51, 101-107.
- Rudra-Patna JS, 1997. Intestinal Parasitic Infections in Patients with Malignancy. *J Diarrhoeal Dis Res* 15:71-4.
- Sachdev GK, 1997. Colonic Involvement in Patients with Amebic Liver Abscess: Endoscopic Findings. *Gastrointest Endosc* 46:37-9.
- Scholten TH, and Yang J, 1974. Evaluation of Unpreserved and Preserved Stools for the Detection and Identification of Intestinal Parasites. *Am J Clin Path* 62(4): 563-567.
- Sher A and Hunter, 2002. Innate Immunity to Parasitic Infections. In: Kauffman SHE, Sher A, Ahmed R, 2002. Immunology of Infectious Diseases, Washington DC: ASM Press, pp 113-114.
- Smith JW and Bartlett MS, 1982. Intestinal and Atrial Protozoa. In: Balows A, Hausler WJ. Bacterial, Mycotic and parasitic Infections 6<sup>th</sup> ed. Washington DC: American public health Association, pp 1153-63.
- Sodeman WA, Jr, 2000. Intestinal Protozoa: Amebas. *Medical Microbiology* . Fourth edition, Gavelston: Branch of Medical Faculty of Texas University. chap. 79.
- Stanley SL, 2001. Pathophysiology of Amoebiasis. *Trends Parasitol* 17:280-5.

- Steiner TS, 1997. Protozoal Agents: What are the Dangers for the Public Water Supply?. *Annu Rev Med* 48:329-40.
- Stell RGD and Torrie JH, 1991. *Principles and Procedures of Statistics A Biometrical Approach*, 2nd ed. New York: Mc Graw-Hill Book Co. pp 113-119.
- Suzuki N, 1975. *Color Atlas of Human Helminth Eggs*. Tokyo: SEAMIC, pp 76-77.
- Swords R and Cantey JR, 2002. Amebiasis. *eMedicine*. <http://www.eMedicine.com>.
- Swords R, 2002. Treatment of Amebiasis. *J Clin Micr* 32(4):879-88.
- Telles A, 1997. Prevalence of Intestinal Parasites in the Human population of Leon Nicaragua. *Acta Trop* 66:119-25.
- Tim Penyusun Kamus Pusat Pembinaan dan Pengembangan Bahasa Dep Dik Bud, 1989. *Kamus Besar Bahasa Indonesia*. Cetakan ke-2, Jakarta: Balai Pustaka hlm 219, 388, 675.
- Upton, 2001. *Laboratory Manual*. In *Animal Parasitology, Biology* 625. Parasitology Laboratory. Kansas : Kansas State University, pp 1-21.
- Townes JM, 1997. Etiology of Bloody Diarrhea in Bolivian Children: Implications for Empiric Therapy. Bolivian Dysentery Study Group. *J Infect Dis* 175:1527-30.
- Walderich B, 1997. Differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* from German Travelers and Residents of Endemic Areas. *Am J Trop Med Hyg* 57:70-74.
- WHO, 1990. *WHO Model Prescribing Information: Drugs used in Parasitic Diseases*. Geneva: World Health Organization pp 3-13.
- WHO, 1991. *Basic Laboratory Methods in Medical Parasitology*. Geneva: World Health Organization, pp 2-109.
- WHO, 1997. *WHO News and Activities: Entamoeba Taxonomy*. *Bulletin of the World Health Organization* 75:291-2.

## Lampiran 1

Tabel Data Pribadi, Keterangan Klinis dan Hasil Pemeriksaan Makroskopis Tinja Diare Penderita Gastroenteritis

Nomor Urut	Jenis Kelamin (L/P) <sup>1)</sup>	Umur	Keterangan Klinis dari Dokter yang Merawat	Makroskopis Tinja Diare			
				Warna	Ampas +/-	Lendir +/-	Darah +/-
1	P	18bl <sup>2)</sup>	g.e. <sup>3)</sup> akut	ck <sup>4)</sup>	+	+	-
2	L	6 bl	g.e. akut	k <sup>5)</sup>	+	+	-
3	P	9 bl	g.e. akut	ck	+	-	-
4	P	24 bl	g.e. akut	ck	+	+	-
5	L	11 bl	g.e. akut	ck	+	+	-
6	L	7 bl	g.e. akut	ck	+	-	-
7	P	24 bl	g.e. kronis	k	+	-	-
8	L	17bl	g.e. akut	ck	+	+	-
9	P	6 bl	g.e. akut	ck	+	-	-
10	P	12 bl	g.e. akut	ck	+	+	-
11	P	6 bl	g.e. kronis	ck	+	+	-
12	P	9 bl	g.e. kronis	ck	+	-	-
13	L	16 bl	g.e. akut	k	+	-	-
14	L	8 bl	g.e. akut	ck	+	+	-
15	P	23 bl	g.e. kronis	ck	+	-	-
16	L	60 bl	g.e. akut	ck	+	+	-
17	L	6 bl	g.e. kronis	ck	+	-	-
18	P	6 bl	g.e. akut	ck	+	-	-
19	P	6 bl	g.e. akut	ck	+	+	-
20	P	7 bl	g.e. akut	k	+	-	-
21	L	9 bl	g.e. akut	ck	+	-	-
22	L	11 bl	g.e. akut	ck	+	+	-
23	P	36 bl	g.e. akut	ck	+	+	-
24	L	30 bl	g.e. kronis	ck	+	+	-
25	L	6 bl	g.e. akut	ck	+	-	-
26	L	9 bl	g.e. akut	k	+	+	-
27	L	18 bl	g.e. akut	ck	+	+	-

Keterangan:

- L/P<sup>1)</sup> = Laki-laki/Perempuan  
 bl<sup>2)</sup> = bulan  
 g.e.<sup>3)</sup> = gastroenteritis  
 ck<sup>4)</sup> = coklat kekuning-kuningan  
 k<sup>5)</sup> = kuning

**Lampiran 2a**

Hasil uji statistik Mc Nemar menggunakan program SPSS 11.0 untuk uji kemaknaan perbedaan efektifitas pemeriksaan rutin dengan pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF, berdasarkan persentase hasil pemeriksaan yang dinyatakan positif

**Crosstabs****Case Processing Summary**

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
rutin * mif	27	100.0%	0	.0%	27	100.0%

**rutin \* mif Crosstabulation**

			mif		Total
			negatif	positif	
rutin	negatif	Count	13	11	24
		Expected Count	11.6	12.4	24.0
		% of Total	48.1%	40.7%	88.9%
	positif	Count	0	3	3
		Expected Count	1.4	1.6	3.0
		% of Total	.0%	11.1%	11.1%
Total		Count	13	14	27
		Expected Count	13.0	14.0	27.0
		% of Total	48.1%	51.9%	100.0%

**Mc Nemar Tests**

	Value	Exact Sig. (2-sided)
McNemar Test		.001 <sup>a</sup>
N of Valid Cases	27	

a. Binomial distribution used.

**Lampiran 2b**

Hasil uji statistik Mc Nemar menggunakan program SPSS 11.0 untuk uji kemaknaan pemeriksaan mikroskopis tinja menggunakan larutan MIF, pada pemeriksaan pertama (segera setelah pemeriksaan rutin), pemeriksaan kedua (ditunda dua jam) dan pada pemeriksaan ketiga (ditunda 24 jam)

**Crosstabs****Case Processing Summary**

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
mif1 * mif2	27	100.0%	0	.0%	27	100.0%

**mif1 \* mif2 Crosstabulation**

			mif2		Total
			negatif	positif	
mif1	negatif	Count	13	0	13
		Expected Count	6.3	6.7	13.0
		% of Total	48.1%	.0%	48.1%
positif	Count	Count	0	14	14
		Expected Count	6.7	7.3	14.0
		% of Total	.0%	51.9%	51.9%
Total	Count	Count	13	14	27
		Expected Count	13.0	14.0	27.0
		% of Total	48.1%	51.9%	100.0%

**Mc Nemar Tests**

	Value	Exact Sig. (2-sided)
McNemar Test		1.000 <sup>a</sup>
N of Valid Cases	27	

a. Binomial distribution used.

## Crosstabs

## Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
mif1 * mif3	27	100.0%	0	.0%	27	100.0%

## mif1 \* mif3 Crosstabulation

			mif3		Total
			negatif	positif	
mif1	negatif	Count	13	0	13
		Expected Count	6.3	6.7	13.0
		% of Total	48.1%	.0%	48.1%
	positif	Count	0	14	14
		Expected Count	6.7	7.3	14.0
		% of Total	.0%	51.9%	51.9%
Total	Count	13	14	27	
	Expected Count	13.0	14.0	27.0	
	% of Total	48.1%	51.9%	100.0%	

## Mc Nemar Tests

	Value	Exact Sig. (2-sided)
McNemar Test		1.000 <sup>a</sup>
N of Valid Cases	27	

a. Binomial distribution used.



## Crosstabs

## Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
mif1 * mif3	27	100.0%	0	.0%	27	100.0%

## mif1 \* mif3 Crosstabulation

			mif3		Total
			negatif	positif	
mif1	negatif	Count	13	0	13
		Expected Count	6.3	6.7	13.0
		% of Total	48.1%	.0%	48.1%
	positif	Count	0	14	14
		Expected Count	6.7	7.3	14.0
		% of Total	.0%	51.9%	51.9%
Total		Count	13	14	27
		Expected Count	13.0	14.0	27.0
		% of Total	48.1%	51.9%	100.0%

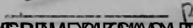
## McNemar Tests

	Value	Exact Sig. (2-sided)
McNemar Test		1.000 <sup>a</sup>
N of Valid Cases	27	

a. Binomial distribution used.

... yang dip...  
... (MIR) ...  
... 40 ...

EFEKTIFITAS STRATEGI PEMERIKSAAN ...

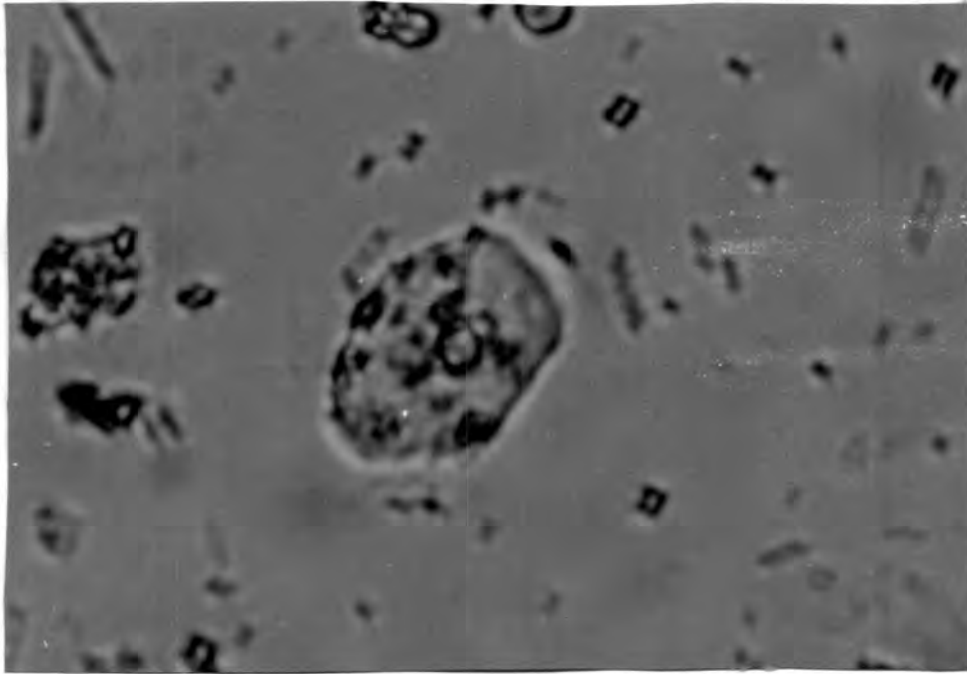


D \_\_\_\_\_

E \_\_\_\_\_

**Lampiran 3**

Foto mikrogaf trofozoit *Entamoeba histolytica* dalam tinja diare, yang diperiksa secara mikroskopis menggunakan larutan Mertiolat-Iodium-Formaldehida (MIF), foto diambil dengan kamera Nikon H III dan lensa obyektif dengan pembesaran 40 kali, diperbesar dari ukuran 3R ke ukuran 10R secara fotografis.



Keterangan foto:

- A = inti sel
- B = kariosom
- C = kromatin perifer
- D = endoplasma
- E = ektoplasma