

# PERBANDINGAN DETEKSI *PLASMODIUM SPP* ANTARA METODE *IMMUNOCHROMATOGRAPHIC ASSAY* DENGAN METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION*

Johanes Nyoman D. Widiswara Mawan  
Josef S. B. Tuda  
Angle M. H. Sorisi

Bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado  
Email: johanesdeomawan@ymail.com

**Abstrak:** Malaria yang disebabkan oleh protozoa dari genus *Plasmodium* masih menjadi masalah kesehatan di dunia terutama di negara- negara tropis dan subtropis. Kejadian malaria dari World Health Organization (WHO) menunjukkan bahwa pada 2010 sebanyak 219 juta kasus menunjukkan episode klinik malaria dan 660.000 diantaranya meninggal dunia. Oleh karena itu diperlukan suatu alat diagnosa dini yang memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang yang baik. Penelitian ini membandingkan tingkat sensitivitas dan spesifisitas deteksi *Plasmodium spp* dengan menggunakan metode *Immunochromatographic Assay* yang biasa dikenal dengan pemeriksaan rapid tes dan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Penelitian ini merupakan penelitian uji diagnostik dengan sampel sejumlah 30 orang yang diambil secara *random sampling* pada pasien malaria yang datang ke RSUD Budi Mulia sejak bulan September 2013 - November 2013. Sampel adalah spesimen darah yang diambil pada vena brachialis yang sebelumnya telah diberikan *inform consent* pada pasien dengan gejala trias malaria di daerah Bitung, Manado. Dari sampel darah tersebut dilakukan pemeriksaan dengan PCR. Hasil dari rapid tes dengan metode *Immunochromatographic* dan PCR dalam mendeteksi *Plasmodium spp* selanjutnya dilakukan uji diagnostik untuk mengetahui tingkat sensitivitas dan spesifisitasnya. *Hasil* : Tingkat sensitivitas rapid tes secara umum sebesar 89,2%, spesifisitas sebesar 100%, nilai duga positif sebesar 100% dan nilai duga negatif sebesar 40%. *Simpulan:* Nilai sensitivitas yang sedang tetapi memiliki nilai spesifisitas yang tinggi.

**Kata Kunci** : *Immunochromatographic Assay*, *Polymerase Chain Reaction* (PCR), rapid tes, sensitivitas, spesifisitas

**Abstract:** Malaria is caused by protozoa of the genus *Plasmodium* remains a health problem in the world, especially in tropical countries and subtropical. Incidence of malaria from the World Health Organization (WHO) shows that in 2010 as many as 219 million cases of clinical malaria episodes show and 660,000 of them died. Therefore we need a means of early diagnosis has a sensitivity and specificity are good. This study compared the sensitivity and specificity of detection of *Plasmodium spp* using *Immunochromatographic Assay* method commonly known as rapid inspection test and *Polymerase Chain Reaction* (PCR). This study is a diagnostic test with a sample of 30 people who were taken with random sampling method in malaria patients who come to Budi Mulia Hospital since September 2013 - November 2013. The sample is a blood specimen taken at the brachial vein previously given informed consent in patients with the triad of symptoms of malaria in the area of Bitung, Manado. From the blood samples examined by PCR. The results of the rapid tests and PCR in the detection of *Plasmodium spp* diagnostic test is then performed to determine the level of sensitivity and specificity. *Result:* The level of sensitivity of rapid tests in general by 89,2%, specificity of

100%, a positive predictive value of 100% and a negative predictive value of 40%.  
Conclusions: The sensitivity is moderate but has high specificity.

**Keywords :** Immunochromatographic Assay, Polymerase Chain Reaction (PCR), rapid tests, sensitivity, specificity

Malaria masih menjadi masalah kesehatan di dunia terutama di negara-negara tropis dan subtropis. Hal tersebut menjadi perhatian utama di dunia kesehatan karena mempengaruhi angka kesakitan bayi, balita dan ibu melahirkan serta dapat menimbulkan kejadian luar biasa.<sup>1,2</sup> Di Indonesia dilaporkan pada tahun 2011 mencapai 1.411.156 kasus, dengan jumlah kematian akibat malaria mencapai 1,151 jiwa sedangkan yang belum dikonfirmasi mencapai 935.648 kasus. Jumlah kasus terkonfirmasi per provinsi tahun 2012 khususnya Sulawesi Utara menempati urutan ke-10 dengan jumlah kasus mencapai 5.487, total kasus nasional mencapai 417.816.<sup>3,4</sup>

Malaria disebabkan oleh protozoa dari genus *Plasmodium* dan memiliki dua hospes yaitu manusia dan nyamuk. Malaria pada manusia dapat disebabkan oleh *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, dan *Plasmodium malariae*.<sup>5</sup>

Pada awal 2010, World Health Organization merekomendasikan untuk semua kasus malaria yang dicurigai harus dikonfirmasi dengan tes diagnostik berbasis parasit, salah satunya adalah *rapid diagnostic test* ( RDT ) yang merupakan tes cepat untuk mendeteksi *Plasmodium* dengan metode *immunochromatographic assay* (ICA). Penggunaan RDT mendukung pengobatan secara universal di daerah dimana pengujian laboratorium tidak tersedia. Tujuan penggunaan RDT ini untuk melakukan deteksi kualitatif cepat *Histidine-rich protein 2* (HRP2) oleh *P. falciparum* dan *lactate dehydrogenase* (pLDH) atau *aldolase* malaria oleh *P.falciparum*, *P.ovale*, *P.vivax*, *P.malariae*.<sup>2,6</sup> *Histidine-rich protein 2* (HRP2) merupakan protein yang disintesis oleh *Plasmodium* dan dilepaskan dari eritrosit yang terinfeksi sebagai protein

larut air. Protein tersebut diekskresi oleh eritrosit yang hanya terinfeksi oleh *P.falciparum*. *Lactate dehydrogenase* (pLDH) dan *aldolase* merupakan enzim intraseluler yang mengkatalis reaksi reversibel melibatkan oksidasi laktat menjadi piruvat dengan nikotinamida adenin dinukleotida (NAD) sebagai koenzim. *Lactate dehydrogenase* (pLDH) dan *aldolase* dihasilkan oleh semua spesies *Plasmodium*.<sup>2,7</sup> Hopkins dan kawan-kawan<sup>8</sup> serta Moody<sup>9</sup> menyebutkan bahwa sensitifitas dan spesifisitas dari RDT dibandingkan pemeriksaan mikroskopik malaria mencapai  $\geq 90\%$ .

RDT memiliki beberapa keterbatasan yang dapat mengurangi kemampuannya yakni dalam mendeteksi *setting low - transmission*: RDT tidak mampu mendeteksi parasitemia *low-density* ( $\leq 120$  parasit/ul), banyak yang kurang sensitif untuk infeksi *Plasmodium vivax*, dan kemampuannya untuk mendeteksi *Plasmodium ovale* dan *Plasmodium malariae* tidak diketahui.<sup>10</sup> Oleh karena itu, alat alternatif dengan sensitifitas yang lebih tinggi untuk infeksi yang *low-density* (misalnya tes berbasis asam nukleat) diminta untuk melengkapi diagnostik lapangan yakni dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). PCR adalah pemeriksaan biomedikuler dengan cara mendiagnosis parasit berdasarkan asam nukleat menggunakan molekul *Deoxyribonucleic acid* (DNA) *reporter* untuk mendeteksi rangkaian DNA atau RNA spesifik yang dimiliki parasit tertentu.<sup>11</sup>

Pada kesempatan ini peneliti ingin mengetahui sejauh mana perbandingan sensitifitas dan spesifisitas deteksi *Plasmodium spp* antara metode *Immunochromatographic Assay* (ICA) dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian uji diagnostik dengan populasi penelitian ini adalah pasien malaria yang datang ke RSUD Budi Mulia sejak bulan September 2013 - November 2013. Dimana penentuan sampel sejumlah 30 orang dilakukan dengan metode *random sampling*. Sampel adalah spesimen darah yang diambil pada vena brachialis yang sebelumnya telah *diberikan inform consent* pada pasien dengan gejala trias malaria di daerah Bitung, Sulawesi Utara. Pengambilan sampel dilakukan oleh petugas kesehatan di rumah sakit RSUD Budi Mulia, Bitung. Dari sampel darah tersebut dilakukan pemeriksaan dengan rapid tes dan pemeriksaan PCR di laboratorium Parasitologi FK Universitas Sam Ratulangi Manado. Pemeriksaan rapid tes dengan metode ICA menggunakan kit *CareStar™ Malaria HRP2/pLDH (Pf/PAN) Combo*. Sedangkan PCR menggunakan metode *Promega*. Hasil dari rapid tes dengan dan PCR dalam mendeteksi *Plasmodium spp* selanjutnya menjadi variabel yang kemudian akan diukur meliputi jumlah *true positive (TP)*, jumlah *true negative (TN)*, jumlah *false positive (FP)*, dan jumlah *false negative (FN)*. **TP** adalah jumlah sampel yang dideteksi positif dengan pemeriksaan PCR dan digolongkan positif oleh pemeriksaan ICA. **TN** adalah jumlah sampel yang dideteksi negatif dengan pemeriksaan PCR dan digolongkan negatif oleh pemeriksaan ICA. **FP** adalah jumlah sampel yang dideteksi negatif dengan pemeriksaan PCR dan digolongkan positif oleh pemeriksaan ICA. **FN** adalah jumlah sampel yang dideteksi positif dengan pemeriksaan PCR dan digolongkan negatif oleh pemeriksaan ICA. Nilai tersebut kemudian ditabulasi menggunakan Microsoft Excel 2007 dan dilakukan pengolahan data uji diagnostik untuk mengetahui tingkat sensitivitas dan spesifisitasnya menggunakan tabel 2 x 2. Untuk mendapatkan besar sensitivitas digunakan rumus  $TP/(TP+FN) \times 100\%$ ,

spesifitas dengan rumus  $TN/(TN+FP) \times 100\%$ , nilai prediktif positif  $TP/(TP+FP) \times 100\%$ , dan nilai prediktif negatif  $TN/(TN+FN) \times 100\%$ .<sup>12</sup>

## HASIL PENELITIAN

Pada uji diagnostik ini didapatkan hasil sensitivitas, spesifisitas, nilai duga positif dan nilai duga negatif dari sampel darah yang diperiksa menggunakan rapid tes dan PCR yang diperlihatkan pada tabel 1

Tabel 1. Hasil Uji Diagnostik pada Tabel Nilai Prediktif

	PCR		Total	
	Positif	Negatif		
ICA	Positif	25	0	25
	Negatif	3	2	5
Total		28	2	30

### Sensitivitas

$$\frac{25}{25 + 3} \times 100\% = 89,2\%$$

### Spesifisitas

$$\frac{2}{2 + 0} \times 100\% = 100\%$$

### Nilai Duga Positif

$$\frac{25}{25 + 0} \times 100\% = 100\%$$

## Nilai Duga Negatif

$$\frac{2}{2 + 3} \times 100\% = 40\%$$

## BAHASAN

Rapid tes dalam diagnosa dini penyakit malaria adalah penting, hasil positif dari rapid tes telah ditetapkan sebagai acuan dalam permulaan pemberian terapi anti malaria yang tidak memiliki laboratorium yang memadai pada daerah berkembang. Di Indonesia sendiri lebih ditekankan untuk mencegah penggunaan anti malaria tanpa mendeteksi adanya plasmodium terlebih dahulu guna mencegah resistensi anti malaria yang meluas serta mencegah resiko komplikasi yang dapat terjadi pada pasien anak-anak dan manula. Saat ini skrining pada pasien dengan gejala trias malaria pada daerah endemik adalah untuk mengetahui secara dini kemungkinan pasien tersebut menderita malaria dengan kecenderungan terjangkit malaria mix. Untuk itulah maka rapid tes dibutuhkan sebagai alat diagnosa dini yang seyogyanya memiliki tingkat sensitivitas dan spesifisitas yang baik agar hasilnya dapat dipercaya dan bermanfaat dalam penggunaannya.<sup>10</sup>

Dari uji diagnostik yang dilakukan terhadap Kit *CareStar™ Malaria HRP2/pLDH (Pf/PAN) Combo* yang menggunakan metode ICA didapatkan hasil sensitivitas dalam mendeteksi *Plasmodium spp* sebesar 89,2%. Hal ini dikarenakan pada beberapa infeksi mix yakni *P.falciparum* dan *P.vivax* yang dideteksi oleh PCR, dari 5 yang terdeteksi hanya 2 sampel yang dideteksi infeksi mix oleh rapid tes dan 3 sisanya hanya terdeteksi infeksi *P.vivax*, *P. ovale* atau *P.malariae* yakni pada sampel nomer 13, 39 dan 40. Faktor yang memungkinkan dapat menyebabkan *P. falsiparum* tidak terdeteksi pada 3 sampel tersebut yakni dikarenakan keterbatasan rapid tes dalam

mendeteksi parasitemia *low-density* ( $\leq 120$  parasit/ul).<sup>10</sup>

Dari segi spesifisitas rapid tes menghasilkan angka 100 % yang berarti kemampuannya sangat baik dalam memastikan bahwa seseorang pasien yang benar-benar tidak terjangkit malaria ketika dilakukan tes dengan rapid tes tidak terdapat *Plasmodium spp* dalam darahnya. Demikian halnya juga mengenai nilai duga positif yang masing-masing memiliki nilai 100 % dan 40 % yang berarti cukup baik dalam memastikan bahwa seorang pasien sedang terinfeksi *Plasmodium ssp* malaria bila hasil rapid tesnya positif namun sebaliknya jika hasil rapid tes negatif cukup sulit untuk memastikan bahwa pada pasien tersebut tidak terinfeksi *Plasmodium ssp*.

## SIMPULAN

Tingkat sensitivitas dari *CareStar™ Malaria HRP2/pLDH (Pf/PAN) Combo* rapid tes yang menggunakan metode ICA terhadap metode PCR dalam mendeteksi *Plasmodium ssp* di laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi sebesar 89,2%, spesifisitasnya sebesar 100%, nilai duga positif sebesar 100%, dan nilai duga negatif sebesar 40%.

## SARAN

Dari hasil penelitian uji diagnostik ini diketahui bahwa metode ICA memiliki nilai sensitivitas yang sedang tetapi memiliki nilai spesifisitas yang tinggi. Dan merupakan suatu alat diagnostik yang cukup akurat untuk menjadi suatu alat skrining dalam masyarakat. Pada daerah epidemi malaria maka rapid tes ini dapat digunakan sebagai alternatif dalam penegakkan diagnosis secara cepat dan tepat bagi daerah yang tidak memiliki fasilitas diagnostik yang memadai.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Sutanto I, Ismid Is, Pudji K. S, Saleha S, editor. Staf Pengajar FKUI: Parasitologi Kedokteran, Edisi 4. Jakarta. Bagian Parasitologi FKU; 2011
2. Harjianto P N, Nugroho A, Gunawan C A. Malaria dari Molekuler ke Klinis, Ed 2. Jakarta. EGC: 2012
3. WHO. Malaria and its control in the WHO South-East Asia Region. 2012 [Online] [cited 2013 Sept 20]. Available from: [http://www.searo.who.int/entity/malaria/topics/Malaria\\_factsheetWMD2012.pdf](http://www.searo.who.int/entity/malaria/topics/Malaria_factsheetWMD2012.pdf)
4. Surya A. Malaria: Its Human Impact, Challenges and Control Strategies. Yang dibawakan pada 4<sup>th</sup> Seminar & Workshop “Parasitology and Mycology Update: from Laboratory to Clinical Practice” di Manado 12-14 September 2013
5. Agoes R, Natadisastra D. Penyakit oleh Sporozoa Darah dan Jaringan dalam: Agoes R, Natadisastra D, editor. Parasitologi kedokteran: Ditinjau Dari Organ Tubuh yang Diserang. Jakarta. EGC : 2009. Hal: 209-229
6. Chandramohan D, Jaffar S, Greenwood B. Use of clinical algorithms for diagnosing malaria. Trop Med Int Health 2002; 7: 45–52.
7. Marcela E, Evans CB, Taylor W. Identification of Plasmodium falciparum Histidine-Rich Protein 2 in the Plasma of Humans with Malaria. Journal of Clinical Microbiology. 1991, p. 1629-1634
8. Hopkins H, Kambale W, Kanya MR, Staedke SG, Dorsey G, Rosenthal PJ. Comparison of HRP2- and pLDH-based rapid diagnostic tests for malaria with longitudinal follow-up in Kampala, Uganda. Am J Trop Med Hyg [Serial Online] 2007[cited 2013 Oct 20]; 76: 1092–1097. Available from The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene
9. Moody A. Rapid diagnostic tests for malaria parasites. Clin Microbiol Rev 2002; 15: 66–78.
10. Bharti PK, Silawat N, Singh PP et al. The usefulness of a new rapid diagnostic test, the First Response Malaria Combo (pLDH/HRP2) card test, for malaria diagnosis in the forested sbelt of central India. Malar J 2008; 7: 126
11. Coleman et al. Comparison of PCR and microscopy for the detection of asymptomatic malaria in a *Plasmodium falciparum/vivax* endemic area in Thailand. Malaria Journal 2006, 5:121
12. Jack W, Carl E. Uji Laboratorium yang Efektif. Ed 1. EGC. Jakarta: 1996
13. McMorro M. L, Aidoo M, Kachur P, malaria rapid diagnostic tests in elimination settings—can they find the last parasite?. Clin Microbiol Infect 2011; 17: 1624–1631