

PEMERIKSAAN LABORATORIUM SEBAGAI PENEGAK DIAGNOSIS PENYAKIT MALARIA: *LITERATURE REVIEW*

Desi Aryani ^{1*}, Samsul Mustofa ², Ahmad Rusdan Handoyo Utomo³, Soroy Lardo⁴

^{1,2,3} Universitas Yarsi

⁴ Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jakarta

Korespondensi : desihaddad4@gmail.com

Abstrak

Malaria adalah infeksi parasit protozoa dari genus *Plasmodium* yang menyerang sel darah merah. Kasus malaria banyak ditemukan di wilayah subtropis dan tropis dan dapat mengakibatkan kematian. Penegakan diagnosis malaria perlu diperhatikan untuk melihat keakuratan metode yang digunakan guna mencegah terjadinya kesalahan dalam pemeriksaan laboratorium. Metode yang dapat digunakan dalam deteksi malaria yaitu dengan pemeriksaan mikroskopis, *Polymerase Chain Reaction* (PCR), dan *Rapid Diagnostic Test* (RDT). Kombinasi dari berbagai metode dapat meningkatkan akurasi diagnosis malaria. Penulisan artikel ini bertujuan untuk mengkaji peran berbagai metode pemeriksaan laboratorium dalam mendeteksi malaria dan menganalisis perbandingan metode mikroskopis, PCR dan RDT.

Kata kunci: PCR, Pemeriksaan Mikroskopis, Penyakit Malaria, RDT

LABORATORY EXAMINATION AS A DIAGNOSIS CONFIRMATION FOR MALARIA DISEASE: *LITERATURE REVIEW*

Abstract

Malaria is a protozoan parasitic infection caused by the *Plasmodium* genus that targets red blood cells. Malaria cases are prevalent in subtropical and tropical regions and can lead to fatal outcomes. Accurate malaria diagnosis is essential to ensure the reliability of the methods used and to prevent errors in laboratory examination. Detection methods for malaria include microscopic examination, *Polymerase Chain Reaction* (PCR), and *Rapid Diagnostic Tests* (RDTs). Combining these methods can enhance the accuracy of malaria diagnosis. This article aims to examine the role of various laboratory examination methods in detecting malaria and analyze the comparison between microscopic, PCR, and RDT methods.

Keywords: PCR, Microscopy Examination, Malaria Disease, RDT

PENDAHULUAN

Malaria merupakan penyakit parasit yang disebabkan oleh infeksi protozoa. Pada umumnya penyakit malaria disebabkan oleh spesies *Plasmodium* yang berbeda, yaitu *Plasmodium vivax*, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium knowlesi*, dan *Plasmodium ovale*¹. Penyakit malaria terus menjadi masalah kesehatan global, terutama di negara-negara tropis dan subtropis. Indonesia menjadi salah satu negara iklim subtropis yang memiliki angka malaria yang tinggi dari tahun ke tahunnya dan menjadi salah satu penyakit endemik yang mempengaruhi masyarakat, khususnya di daerah pedesaan dan daerah dengan sanitasi yang buruk². Kawasan Timur Indonesia dapat dikatakan menjadi wilayah dengan kasus malaria yang cukup tinggi³.

Pemeriksaan laboratorium untuk malaria dapat dilakukan dengan pemeriksaan mikroskopis, PCR, dan *Rapid Diagnostic Test* (RDT). Pemeriksaan mikroskopis menggunakan sampel darah yang diperiksa untuk mendeteksi keberadaan parasit *Plasmodium*. Metode ini meliputi pembuatan apusan darah tebal dan tipis yang memungkinkan identifikasi spesies parasit serta menentukan kepadatan infeksi. Namun, pemeriksaan ini memiliki keterbatasan, terutama dalam mendeteksi parasitemia rendah⁴. Hal ini juga sesuai dengan pernyataan Ayuningsih, bahwa pemeriksaan mikroskopis kesulitan dalam menentukan spesies parasit rendah⁵.

Di sisi lain, RDT menawarkan kemudahan dan kecepatan dalam diagnosis malaria dengan mendeteksi antigen spesifik dari parasit dalam darah. Tes ini dapat memberikan hasil dalam waktu singkat, sehingga memudahkan pengambilan keputusan klinis. Meskipun demikian, RDT juga tidak sepenuhnya akurat dan sebaiknya digunakan sebagai pelengkap pemeriksaan mikroskopis untuk memastikan diagnosis yang lebih andal⁶. *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dapat digunakan untuk mendeteksi sekaligus mengidentifikasi *Plasmodium* sp. Beberapa penelitian melaporkan bahwa deteksi parasitemia densitas rendah menggunakan teknik PCR lebih unggul dibandingkan dengan teknik mikroskopis. PCR lebih sensitif dalam mendeteksi *Plasmodium*.

Kombinasi dari berbagai metode dapat meningkatkan akurasi diagnosis malaria. Dalam praktik klinis, penting untuk melakukan pemeriksaan berulang jika hasil awal negatif namun gejala tetap ada. Hal ini mengingat bahwa pasien malaria dapat mengalami infeksi yang tidak terdeteksi pada pemeriksaan pertama. Oleh karena itu, pendekatan multidisiplin dalam penegakan diagnosis sangat dianjurkan. Secara keseluruhan, pemeriksaan laboratorium memainkan peran vital dalam penegakan diagnosis penyakit malaria. Pemahaman yang baik tentang berbagai metode yang tersedia dan keterbatasannya, dapat mengambil langkah-langkah yang tepat untuk mendiagnosis dan mengobati pasien malaria secara efektif, sehingga berkontribusi pada pengendalian penyakit ini di masyarakat. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui masing-masing kelebihan dan kelemahan metode yang dapat digunakan untuk mendeteksi malaria secara efektif dan efisien.

BAHAN dan METODE

Penelitian ini menggunakan tinjauan literatur, dimana data diperoleh dari berbagai jurnal yang sudah dipublikasikan dari SINTA 3 sampai dengan SINTA 5. Pemilihan jurnal dilakukan berdasarkan kesesuaian topik jurnal yang dibuat. Topik jurnal diambil berdasarkan atas kesesuaian kata kunci yang dimasukkan ke dalam *search engine*. Kata kunci yang di masukkan adalah penyakit malaria, mikroskopis malaria, RDT dan PCR. Data pada penelitian ini yaitu untuk mengetahui pemeriksaan laboratorium sebagai penegak diagnosis penyakit malaria. Berdasarkan kesesuaian judul, abstrak dan isi penelitian terkait penegakan diagnosis malaria sehingga didapatkan sebanyak 18 jurnal.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Malaria adalah penyakit yang disebabkan oleh nyamuk *Anopheles*. Gejala klinis malaria tanpa komplikasi meliputi kelelahan, sakit kepala, nyeri otot, ketidaknyamanan perut, demam,

mual dan muntah. Nyamuk *Anopheles* betina berfungsi sebagai vektor yang kompeten untuk menularkan parasit *Plasmodium* ke inang manusia dengan setiap kali menghisap darah⁷. Ada empat spesies parasit malaria yang diketahui menginfeksi manusia, yaitu *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, dan *P. malariae*. Spesies *Plasmodium falciparum* merupakan spesies yang paling mematikan, mencakup 99,7% infeksi di Afrika Sub-Sahara. *P. vivax* adalah yang paling umum di Amerika dan mencakup 75% infeksi⁸.

Alur pemeriksaan pasien *suspect* malaria diawali dengan anamnesis. Anamnesis merupakan proses pengumpulan informasi medis yang meliputi riwayat kesehatan hingga keluhan pasien⁹. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan fisik dan tahap berikutnya yaitu pemeriksaan laboratorium. Metode yang dapat digunakan pada pemeriksaan laboratorium yaitu RDT, pemeriksaan mikroskopis, dan PCR.

Rapid Diagnostic Test (RDT) digunakan untuk mendeteksi antigen parasit dalam beberapa menit dan digunakan sebagai langkah awal untuk diagnosis¹⁰. Pemeriksaan mikroskopis dapat digunakan juga sebagai identifikasi spesies dengan menggunakan apusan darah tebal dan tipis. Penggunaan metode RDT, mikroskopis, dan PCR dapat digunakan secara bersamaan. Langkah pertama dapat mendeteksi infeksi malaria dengan menggunakan metode RDT, jika RDT positif maka selanjutnya gunakan pemeriksaan mikroskopis untuk mengkonfirmasi hasil dan mengidentifikasi spesies parasit. PCR dapat digunakan untuk verifikasi final dalam mendeteksi parasit dengan sangat sensitif.

Ketiga metode tersebut tentu memiliki kelebihan dan kekurangannya masing-masing. Mukkala menyatakan, metode mikroskopis tidak dapat membedakan morfologi trofozoit dewasa, skizon, dan gamtosit antara *P. knowlesi* dan *P. malariae*, serta tahap trofozoit awal antara *P. knowlesi* dan *P. Falciparum*¹¹. Ding juga menyatakan bahwa mikroskopis membutuhkan waktu yang lama dalam penerapan deteksi malaria¹². Keterbatasan ini sering menyebabkan kesalahan diagnosis pada penyakit malaria. Hasil penelitian Opoku menunjukkan bahwa metode mikroskopis tidak mampu mendeteksi hampir dua pertiga (60,7%) infeksi, sedangkan RDT tidak mendeteksi hampir setengah (44,3%) dari kasus qPCR-positif (438)¹³. Hal ini menguatkan studi sebelumnya dimana mikroskopis tidak dapat mendeteksi 169 (57%) dari 295 infeksi. Hal ini menguatkan studi sebelumnya dimana *var ATS qPCR-positif*.

Rapid diagnostic test (RDT) merupakan pendekatan diagnostik cepat untuk mendeteksi malaria di antara pasien yang diduga malaria dan menyingkirkan malaria diantara individu yang tidak menderita malaria. RDT mudah digunakan di tempat-tempat dengan keterbatasan sumber daya dan sulit dijangkau. RDT yang paling umum digunakan adalah metode deteksi berdasarkan HRP2 dan pLDH. Kisaran deteksi parasit menggunakan metode RDT yaitu 50-100 parasit/ μ ¹⁴. Metode RDT tidak memungkinkan untuk kuantifikasi parasitemia dan akibatnya pemantauan efektivitas terapi menjadi sulit. Hal ini juga dapat menghasilkan positif palsu karena mendeteksi pHRP-2 yang dapat bertahan dalam darah hingga 30 hari setelah pengobatan dan eliminasi efektif dari infeksi aktif. RDT telah dievaluasi dan menunjukkan spesifitas yang relatif tinggi (94,7%) dibandingkan dengan mikroskopis. Pada metode RDT ditemukan tingkat positif palsu yang rendah (53%) dibandingkan dengan mikroskopis¹⁵.

Metode berbasis molekuler yaitu PCR, dapat mengidentifikasi keberadaan gen target malaria dalam sampel darah. Uji berbasis PCR sangat berguna untuk mengidentifikasi pasien asimtomatik dan submikroskopis yang terlewatkan oleh mikroskopis dan RDT. Sensitivitas dan spesifisitas untuk berbagai jenis PCR berkisar antara 98% hingga 100% dan 88% hingga 94%, masing-masing ketika mikroskopis digunakan sebagai standar emas¹⁶.

Penelitian Komaki-Yasuda, menyatakan bahwa PCR memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan mikroskopis. Beberapa kelemahan dari PCR yaitu metode pemeriksaan yang cukup rumit, mahal, dan perlu keahlian untuk melakukannya¹⁷. Hal ini juga

didukung oleh penelitian Wardhani PCR mampu mendeteksi infeksi *Plasmodium* hampir 8 kali lebih banyak dibandingkan pemeriksaan mikroskopis untuk pengujian malaria dan terbukti PCR dapat mendeteksi fragmen DNA parasit malaria¹⁸. Penelitian lain oleh Haanshuus membuktikan bahwa PCR mampu mendeteksi kepadatan DNA target yang sangat rendah dalam darah dibandingkan dengan mikroskopis dan RDT¹⁹.

Telah ditemukan bukti bahwa PCR lebih unggul dibandingkan dengan mikroskopis pada penelitian Johnston berdasarkan reproduktifitas hasil PCR, spesiasi *P. vivax* dan *P. ovale* yang salah menggunakan mikroskopis ditemukan dalam tiga sampel. *P. ovale* diidentifikasi melalui mikroskopi pada dua spesimen yang kemudian diidentifikasi sebagai *P. vivax* menggunakan PCR²⁰. Demikian pula, satu spesimen yang diidentifikasi sebagai *P. vivax* melalui mikroskopis diidentifikasi sebagai *P. ovale* melalui PCR. PCR yang lebih sensitif akan menghasilkan lebih banyak infeksi dengan kepadatan rendah yang terdeteksi, dan dengan demikian sensitivitas mikroskopis atau RDT yang lebih rendah dibandingkan dengan PCR¹³.

Uji diagnostik dilakukan untuk membuktikan seberapa valid metode yang digunakan²¹. Faktor-faktor yang berbeda seperti positif palsu, negatif palsu, ketidakmampuan untuk mendeteksi infeksi submikroskopis, antigenemia HRP2 persisten, dan polimorfisme HRP2, dianggap sebagai bias dalam interpretasi tingkat kinerja RDT yang sebenarnya, akan memerlukan PCR untuk ditambahkan dalam peningkatan kualitas diagnosis²².

SIMPULAN dan SARAN

Pemeriksaan laboratorium sebagai penegak diagnosis penyakit malaria dapat dilakukan dengan mikroskopis, RDT, dan PCR. Masing-masing memiliki kelebihan dan kekurangannya, namun berdasarkan penelitian terdahulu yang telah dikaji dapat disimpulkan untuk penggunaan teknik PCR dalam mendeteksi infeksi malaria yang paling efektif. Pemeriksaan mikroskopis apusan darah tepi dapat mengetahui keberadaan parasit *Plasmodium*, namun memiliki sensitivitas rendah untuk mendeteksi parasitemia dengan kepadatan rendah. Uji diagnostik RDT mudah digunakan, murah, dan cepat untuk mendeteksi malaria, tetapi RDT tidak dapat mendeteksi kepadatan parasit yang rendah, sehingga banyak memberikan hasil positif dan negatif palsu malaria. Sedangkan PCR lebih sensitif dalam mendeteksi *Plasmodium* namun kelemahan dari PCR yaitu membutuhkan biaya yang mahal dan fasilitas laboratorium yang harus mendukung.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah berkontribusi dalam penyusunan artikel ini. Semoga hasil penelitian ini dapat memberikan manfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan dan upaya pengendalian penyakit malaria.

DAFTAR PUSTAKA

1. Mukry, S. N. *et al.* Laboratory diagnosis of malaria: Comparison of manual and automated diagnostic tests. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology* **2017**, (2017).
2. Wanja, E. W. *et al.* Field evaluation of diagnostic performance of malaria rapid diagnostic tests in western Kenya. *Malar J* **15**, (2016).
3. Mahyudi & Riqoh, D. Identifikasi *Plasmodium* sp Pada Darah Masyarakat di Desa Marike Kecamatan Kutambaru Kabupaten Langkat. *Kesehatan Masyarakat dan Lingkungan Hidup* 1–6 (2017).

4. Bosco, A. B. *et al.* Limitations of rapid diagnostic tests in malaria surveys in areas with varied transmission intensity in Uganda 2017-2019: Implications for selection and use of HRP2 RDTs. *PLoS One* **15**, (2020).
5. Ayuningsih, R. A., Halid, I. & Ustiawaty, J. Perbandingan hasil Diagnosa Malria Metode Rapid Diagnostic Test (RDT) dengan Mikroskopis di Puskesmas Meninting NTB. *Media of Medical Laboratory Science* **2**, 89–96 (2018).
6. Yimam, Y., Mohebal, M. & Afshar, M. J. A. Comparison of diagnostic performance between conventional and ultrasensitive rapid diagnostic tests for diagnosis of malaria: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One* **17**, (2022).
7. Mbanefo, A. & Kumar, N. Evaluation of malaria diagnostic methods as a key for successful control and elimination programs. *Tropical Medicine and Infectious Disease* vol. 5 Preprint at <https://doi.org/10.3390/tropicalmed5020102> (2020).
8. WHO. World Malaria Report. <https://www.who.int/publications-detail/world-malaria-report-2019> (2019).
9. Redhono, D., Putranto, W. & Budiastuti, V. I. *History Taking -- Anamnesis*. (2012).
10. Orish, V. N., De-Gaulle, V. F. & Sanyaolu, A. O. Interpreting rapid diagnostic test (RDT) for *Plasmodium falciparum*. *BMC Res Notes* **11**, (2018).
11. Mukkala, A. N. *et al.* An Update on Malaria Rapid Diagnostic Tests. *Current Infectious Disease Reports* vol. 20 Preprint at <https://doi.org/10.1007/s11908-018-0655-4> (2018).
12. Ding, G. *et al.* The challenge of maintaining microscopist capacity at basic levels for malaria elimination in Jiangsu Province, China. *BMC Public Health* **18**, (2018).
13. Opoku Afriyie, S. *et al.* Accuracy of diagnosis among clinical malaria patients: comparing microscopy, RDT and a highly sensitive quantitative PCR looking at the implications for submicroscopic infections. *Malar J* **22**, (2023).
14. Berzosa, P. *et al.* Comparison of three diagnostic methods (microscopy, RDT, and PCR) for the detection of malaria parasites in representative samples from Equatorial Guinea. *Malar J* **17**, (2018).
15. Teou, D. C. *et al.* Evaluation of the performance of advantage P.f. malaria Card® and advantage malaria Pan + Pf Card®, two rapid diagnostic tests for parasitological confirmation of malaria cases in field situation in Togo. *Parasit Vectors* **16**, (2023).
16. Roth, J. M., Korevaar, D. A., Leeftang, M. M. G. & Mens, P. F. Molecular malaria diagnostics: A systematic review and meta-analysis. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences* vol. 53 87–105 Preprint at <https://doi.org/10.3109/10408363.2015.1084991> (2016).
17. Komaki-Yasuda, K. *et al.* A novel PCR-based system for the detection of four species of human malaria parasites and *Plasmodium knowlesi*. *PLoS One* **13**, (2018).
18. Wardhani, P. *et al.* Performance comparison of two malaria rapid diagnostic test with real time polymerase chain reaction and gold standard of microscopy detection method. *Infect Dis Rep* **12**, (2020).

19. Haanshuus, C. G. *et al.* Assessment of malaria real-time PCR methods and application with focus on lowlevel parasitaemia. *PLoS One* **14**, (2019).
20. Johnston, S. P. *et al.* PCR as a confirmatory technique for laboratory diagnosis of malaria. *J Clin Microbiol* **44**, 1087–1089 (2006).
21. Kesuma, S. Uji Diagnosis NS1, IgG dan IgM Dengue Metode Immunokromatografi dan Elisa. *Jurnal Analis Laboratorium Medik* **7**, 72–85 (2022).
22. Nyataya, J., Waitumbi, J., Mobegi, V. A., Noreddin, A. & El Zowalaty, M. E. Plasmodium falciparum Histidine-Rich Protein 2 and 3 Gene Deletions and Their Implications in Malaria Control. *Diseases* vol. 8 Preprint at <https://doi.org/10.3390/diseases8020015> (2020).