



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENINGKATAN SENSITIVITAS PEMERIKSAAN
MIKROSKOPIK *Entamoeba histolytica* DENGAN METODE
KONSENTRASI**

SKRIPSI

**IZZAH AULIA
0105000905**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
JAKARTA
JUNI 2009**



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENINGKATAN SENSITIVITAS PEMERIKSAAN
MIKROSKOPIK *Entamoeba histolytica* DENGAN METODE
KONSENTRASI**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana
Kedokteran**

**IZZAH AULIA
0105000905**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
JAKARTA
JUNI 2009**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

**Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar.**

Nama : Izzah Aulia

NPM : 0105000905

Tanda Tangan :

Tanggal : 29 Juni 2009

LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh:

Nama : Izzah Aulia
NPM : 0105000905
Program Studi : Pendidikan Dokter Umum
Judul Skripsi : Peningkatan Sensitivitas Pemeriksaan Mikroskopik
Entamoeba histolytica dengan Metode Konsentrasi

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran pada Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing : dr. Lisawati Susanto, MS ()

Penguji : DR. Dr. Saptawati Bardosono, Sp.GK, MS.c, Ph.D
()

Ditetapkan di : Jakarta

Tanggal : 29 Juni 2009

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmatnya, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul **“Peningkatan Sensitivitas Pemeriksaan Mikroskopik *Entamoeba histolytica* dengan Metode Konsentrasi”**. Penyusunan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran pada Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, baik dari masa perkuliahan sampai pada masa penyusunan skripsi ini sangatlah sulit bagi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini. Untuk itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Lisawati Susanto, MS, selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga dan pikiran di dalam mengarahkan penulis dalam penyusunan skripsi ini.
2. DR. Dr. Saptawati Bardosono, Sp.GK, MS.c, Ph.D selaku ketua Modul riset periode 2008-2009 yang senantiasa memberi petunjuk dalam penyelesaian skripsi ini.
3. Orang tua dan keluarga saya yang telah memberikan dukungan baik material maupun moril.
4. Ary Indriana Savitri yang senantiasa memberikan motivasi dan dukungan dalam penyelesaian skripsi ini.
5. Departemen Parasitologi yang telah memfasilitasi penulis dalam pelaksanaan penelitian ini.

Akhir kata, *tak ada gading yang tak retak*. Demikian pula dengan skripsi ini yang masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran yang konstruktif sangat penulis harapkan demi perbaikan skripsi yang akan datang. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu.

Jakarta, Juni 2009

Penulis

**LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS
(Hasil Karya Perorangan)**

Sebagai sivitas akademika Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Izzah Aulia
NPM : 0105000905
Program Studi : Pendidikan Dokter Umum
Fakultas : Kedokteran
Jenis Karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

“Peningkatan Sensitivitas Pemeriksaan Mikroskopik *Entamoeba histolytica* dengan Metode Konsentrasi”

Dengan Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (*database*), mendistribusikannya dan menampilkan/mempublikasikannya di Internet atau media lain untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta. Segala bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah ini menjadi tanggungjawab saya pribadi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Jakarta

Pada tanggal : 29 Juni 2009

Yang menyatakan,

(Izzah Aulia)

ABSTRAK

Nama : Izzah Aulia
Program Studi : Pendidikan Dokter Umum
Judul : Peningkatan Sensitivitas Pemeriksaan Mikroskopik *Entamoeba histolytica* dengan Metode Konsentrasi

Latar belakang. Diare merupakan penyebab kematian anak ketiga di Indonesia. Salah satu penyebabnya adalah infeksi *Entamoeba histolytica*. Deteksi *E.histolytica* pada individu asimtomatis penting untuk langkah pencegahan, karena kista *E.histolytica* sebagai penyebabnya, mudah ditularkan lewat fekal maupun oral. Selama ini, metode deteksi yang tersedia telah berkembang hingga molekuler. Namun deteksi secara mikroskopik tetap digunakan secara luas karena murah. Salah satu kelemahan metode ini adalah pada pemeriksaan langsung, organisme dalam jumlah sedikit tidak dapat terdeteksi. Salah satu cara untuk meningkatkan sensitivitas dalam pemeriksaan mikroskopik adalah dengan metode konsentrasi sampel tinja pasien.

Tujuan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peningkatan sensitivitas pemeriksaan mikroskopik dengan metode konsentrasi, dan mengetahui prevalensi infeksi *E.histolytica* asimtomatis pada populasi anak sekolah di Kampung Melayu.

Metode. Penelitian dilakukan dengan desain potong lintang. Pengambilan sampel dilakukan dengan cara mengambil spesimen tinja subyek penelitian untuk diperiksa di laboratorium Parasitologi FKUI.

Hasil. Didapatkan 673 sampel pemeriksaan mikroskopik dengan metode langsung, dan 540 sampel dengan metode konsentrasi. Frekuensi infeksi *E.histolytica/E.dispar* asimtomatik adalah 2,5% dengan menggunakan metode langsung, sedangkan dengan metode konsentrasi 6,3%. Sensitivitasnya adalah 38,5% sedangkan spesifisitasnya 94,6%. Nilai prediksi positif 15,2% dan nilai prediksi negatif 98,4%. Rasio kemungkinan positif 11,67 dan rasio kemungkinan negatif 0,64. Nilai $p = 0,001$.

Kesimpulan. Terdapat peningkatan sensitivitas pemeriksaan mikroskopik dengan metode konsentrasi dibandingkan metode langsung.

Kata Kunci: *E.histolytica*, mikroskopik, sensitivitas, konsentrasi.

ABSTRACT

Name : Izzah Aulia
Study Programme : General Medicine
Title : Sensitivity Raising of Microscopic Examination for *Entamoeba histolytica* by Concentration Method

Background. Diarrhea is the third cause of mortality among children in Indonesia. One of the cause of diarrhea is *Entamoeba histolytica*. *E.histolytica* detection in asymptomatic individual is important for prevention, because *E.histolytica* cyst as the cause is easy to infect either orally or fecally. Recently, detection methods have been developing until molecular. But microscopic detection still used widely because of its ease. The disadvantage of microscopic detection is inability to detect organism in small amount when we use direct stool examination. One of ways to increase the sensitivity in microscopic detection is by concentration method for patient's stool.

Objective. This research is aimed to know the sensitivity raising of microscopic detection by concentration method, and to know the prevalence of *E.histolytica* asymptomatic infection in school children in Kampung Melayu.

Methods. This research was done by cross sectional design. Sample were gained by taking stool of research subjects then examined in Parasitological laboratory FMUI.

Results. 673 samples for direct stool examination, and 540 samples for concentration method. Frequency of *E.histolytica/E.dispar* asymptomatic infection was 2,5% by direct examination, then 6,3% by concentration. Sensitivity is 38,5% and specificity is 94,6%. Positive predictive value is 15,2% and negative predictive value is 98,4%. Positive likelihood ratio is 11,67 and negative likelihood ratio is 0,64. P value is 0,001.

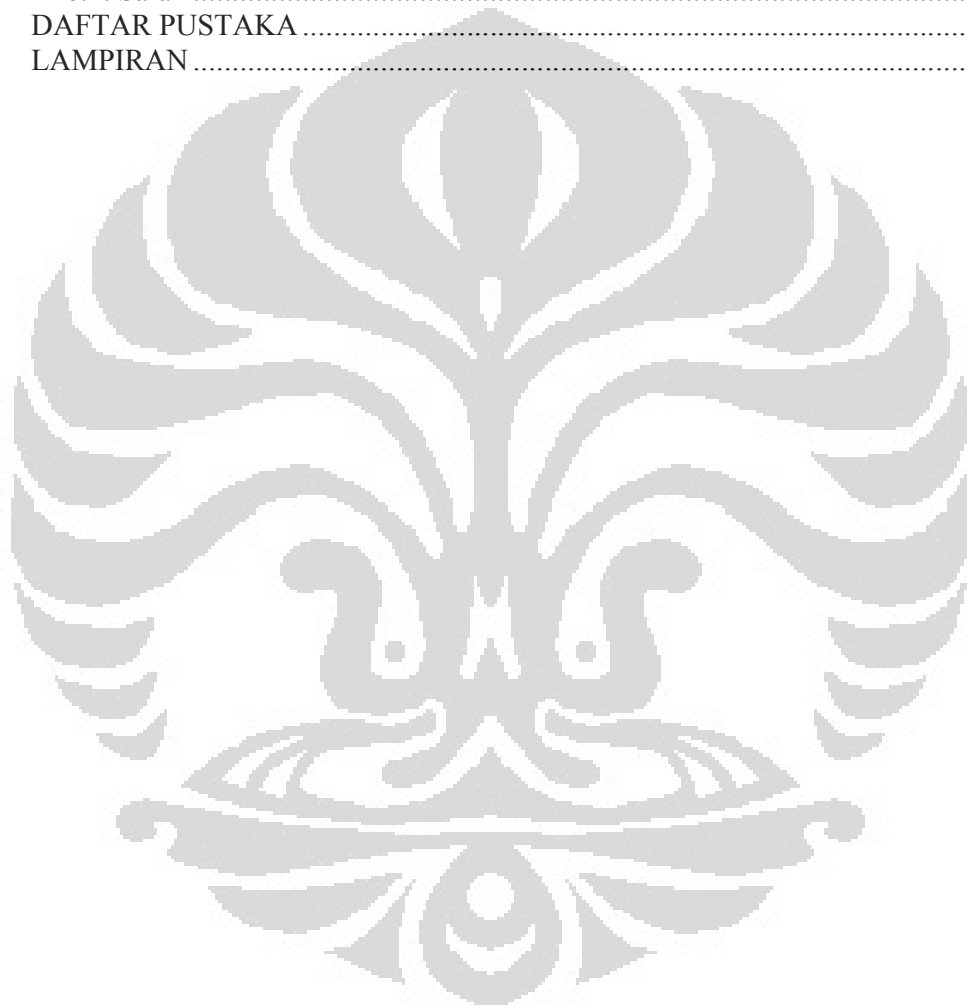
Conclusion. There is sensitivity raising of *E.histolytica* microscopic detection by concentration method.

Keywords: *E.histolytica*, microscopic, sensitivity, concentration.

DAFTAR ISI

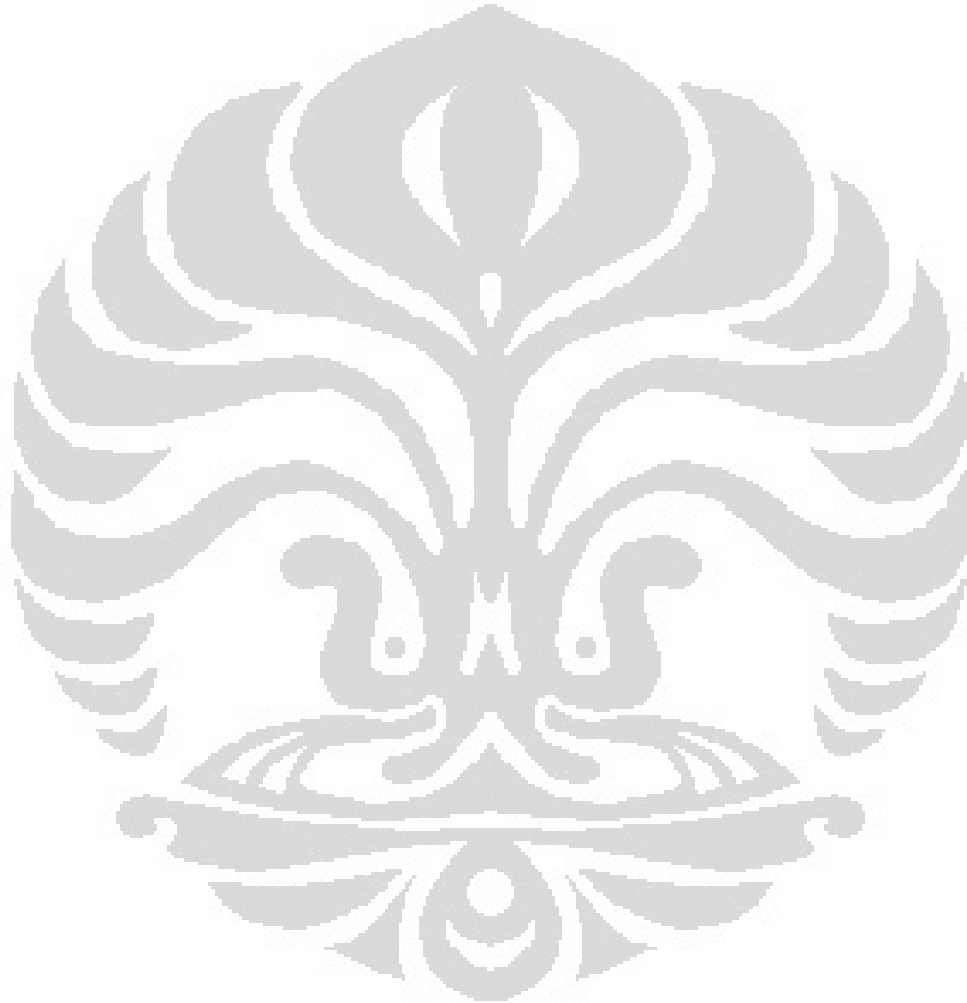
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	2
1.3. Hipotesis	2
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.3.1. Tujuan Umum	3
1.3.2. Tujuan Khusus	3
1.4. Manfaat Penelitian	3
1.4.1. Manfaat bagi Dokter	3
1.4.2. Manfaat bagi Pasien dan masyarakat umum	3
1.4.3. Manfaat bagi kalangan Medis	3
1.4.4. Manfaat bagi Penulis	4
1.4.5. Manfaat bagi Perguruan Tinggi	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Morfologi dan Fisiologi <i>E.histolytica</i>	5
2.2. Epidemiologi	7
2.3. Tanda dan Gejala Klinik	9
2.3.1. Gastrointestinal	9
2.3.2. Organ Lainnya	10
2.4. Diagnosis	10
2.4.1 Mikroskopik	11
2.4.2 Metode Biokimia : Kultur dan Isoenzim	12
2.4.3 Deteksi Antibodi	13
2.4.4 Deteksi Antigen	14
2.4.5 Tes Diagnosis Molekuler : PCR	14
2.5. Kerangka Konsep	15
BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN	16
3.1. Desain Penelitian	16
3.2. Tempat dan Waktu Penelitian	16
3.3. Populasi Penelitian	16
3.4. Sampel dan Cara Pemilihan Sampel	16
3.5. Kriteria Inklusi	17
3.6. Besar Sampel	17
3.7. Cara Kerja	18
3.8. Rencana Analisis Data	20
3.9. Definisi Operasional	21
BAB 4 HASIL	23

BAB 5 PEMBAHASAN.....	24
5.1 Persentase Perolehan Sampel.....	24
5.2 Persentase Perolehan Hasil Positif.....	24
5.3 Peningkatan Sensitivitas Pemeriksaan Mikroskopik dengan Metode Konsentrasi.....	25
5.4 Nilai Prediksi Positif dan Nilai Prediksi Negatif.....	26
5.5 Rasio Kemungkinan Positif dan Rasio Kemungkinan Negatif.....	26
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN	27
6.1. Kesimpulan.....	27
6.2. Saran	27
DAFTAR PUSTAKA.....	29
LAMPIRAN.....	31



DAFTAR TABEL

Tabel 2.2.1. Prevalensi Infeksi <i>E.histolytica</i> / <i>E.dispar</i> pada Beberapa Penelitian... 8
Tabel 4.1. Perbandingan Hasil Pemeriksaan Langsung dan Konsentrasi..... 23



BAB 1 PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan penting di negara Indonesia. Lingkungan tempat tinggal yang tidak memadai, kumuh, kepadatan penduduk yang tinggi, menjadi faktor risiko terjadinya penularan penyakit infeksi. Salah satu penyakit infeksi yang menyerang sebagian besar penduduk Indonesia adalah diare. Diare terjadi akibat infeksi pada saluran pencernaan yang dapat disebabkan oleh virus, bakteri, jamur, dan parasit. Diare pada anak menjadi penyebab kematian ketiga di Indonesia.¹ Parasit penyebab diare salah satunya adalah *Entamoeba histolytica*. World Health Organization melaporkan bahwa infeksi *E. histolytica* menyebabkan kurang lebih 50 juta kasus dan 100.000 kematian setiap tahunnya.²

Suatu penyakit dapat bersifat simtomatik maupun asimtomatik seperti pada amebiasis. Pada beberapa kasus ditemukan bahwa di dalam tinja manusia normal terdapat trofozoit *E. histolytica*, menunjukkan bahwa tidak semua penderita amebiasis menimbulkan gejala klinis (baik berupa diare, abses hati, maupun abses otak). Menurut beberapa penelitian, kurang lebih 90% orang yang terinfeksi *Entamoeba histolytica* adalah asimtomatik.²⁻⁴ Menurut Stanley (2003)⁵ individu asimtomatik sebaiknya diobati karena ada risiko berkembang menjadi amebiasis yang invasif, sehingga pemeriksaan tinja perlu dilakukan.

Kasus amebiasis pada anak-anak di Indonesia jarang terjadi. Pada penelitian di Bangladesh, ditemukan bahwa anak-anak usia 2 sampai 5 tahun berpotensi menderita amebiasis dengan gejala diare⁶⁻⁷, dan hubungan ini semakin jelas apabila dikaitkan dengan kondisi lingkungan tempat tinggal mereka dimana sanitasi yang buruk, ketersediaan air yang kurang dan fasilitas kesehatan yang kurang memadai.⁸

Penderita asimtomatik dapat menjadi sumber penularan amebiasis dari manusia ke manusia, karena di dalam tubuh penderita terdapat kista *E. histolytica* sehingga skrining pada suatu komunitas sangat penting dilakukan, untuk mengetahui pengandung kista tersebut. Pelaksanaan skrining pun dapat

bermanfaat apabila metode yang dipakai dapat mendeteksi jumlah penderita yang asimtomatik, sehingga dapat dilakukan langkah-langkah antisipasi untuk mencegah berkembangnya penyakit dan penularan ke individu lainnya.

Beberapa metode dapat digunakan untuk diagnosis infeksi *E. histolytica* pada tubuh manusia, seperti pemeriksaan mikroskopik, biokimia (kultur dan isoenzim), deteksi antibody dan antigen (ELISA), serta PCR.² Setiap metode mempunyai kelebihan dan kekurangannya antara lain ELISA dan PCR biayanya mahal serta harus memiliki fasilitas yang memadai.

Pemeriksaan mikroskopik sering digunakan untuk diagnosis *E. histolytica*, karena biayanya murah dan dapat mendeteksi parasit lainnya, namun harus dilakukan oleh orang yang terlatih dan berpengalaman. Pemeriksaan mikroskopik akan menjadi lebih sulit bila jumlah parasitnya sedikit. Hal di atas dapat diatasi dengan cara mengkonsentrasikan tinja sebelum dilakukan pemeriksaan mikroskopik. Dengan metode konsentrasi ini tinja akan tersedimentasi dan kista akan mengendap, sehingga kemungkinan untuk mendeteksi kista akan lebih mudah.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian dalam latar belakang di atas, dapat dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut ;

Apakah deteksi *E. histolytica* pada spesimen tinja manusia dengan cara konsentrasi dapat meningkatkan sensitivitas pada pemeriksaan mikroskopik?

1.3. Hipotesis

Teknik pemeriksaan mikroskopik dengan metode konsentrasi dapat meningkatkan sensitivitas dalam mendeteksi adanya *E. histolytica* pada spesimen tinja.

1.4. Tujuan

1.4.1. Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini untuk mendapatkan teknik pemeriksaan infeksi *Entamoeba histolytica* yang lebih sensitif melalui metode konsentrasi pada pemeriksaan mikroskopik.

1.4.2. Tujuan Khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini adalah mengetahui :

1. Prevalensi infeksi *Entamoeba histolytica* pada anak usia sekolah
2. Sensitivitas dan spesifisitas teknik pemeriksaan konsentrasi pada infeksi *Entamoeba histolytica* dengan teknik pemeriksaan langsung sebagai baku emas (gold standard)

1.5. Manfaat

1.5.1. Bagi dokter sebagai penyelenggara pelayanan kesehatan primer

1. Memudahkan dokter atau tenaga kesehatan lainnya dalam melakukan diagnosis infeksi *E.histolytica*.

1.5.2. Bagi pasien dan masyarakat umum

1. Memudahkan pasien dalam mendapatkan hasil deteksi infeksi protozoa usus sehingga dapat dilakukan tatalaksana yang lebih cepat;
2. Meningkatkan kesadaran masyarakat akan pentingnya pencegahan infeksi protozoa usus karena angka kejadian asimtomatik dan risiko penularan yang tinggi.

1.5.3. Bagi kalangan medis

1. Menambah pengetahuan di bidang diagnosis infeksi parasit/protozoa usus, terutama *E.histolytica/E.dispar*;
2. Menegaskan pentingnya skrining individu asimtomatik dengan metode deteksi yang tersedia untuk dilakukan promosi kesehatan.

1.5.4. Bagi penulis

1. Meningkatkan kemampuan penulis dalam memahami langkah-langkah penelitian yang meliputi pembuatan proposal, proses penelitian, dan pembuatan laporan penelitian;
2. Menambah wawasan penulis mengenai masalah kesehatan masyarakat serta teknik diagnosis untuk skrining di masyarakat;
3. Menambah pengetahuan penulis tentang berbagai macam pemeriksaan untuk diagnosis infeksi *E.histolytica*/*E.dispar* serta kelebihan dan kekurangannya.

1.5.5. Bagi perguruan tinggi

1. Pengamalan tridarma perguruan tinggi sebagai lembaga penyelenggara pendidikan, penelitian dan pengabdian bagi masyarakat;
2. Sebagai sumbangan dalam mengkaji berbagai masalah dalam diagnosis infeksi parasit usus untuk kegiatan akademis dan penelitian selanjutnya;
3. Meningkatkan hubungan kerjasama dan saling pengertian antara pendidik dan mahasiswa;
4. Meningkatkan kualitas penelitian perguruan tinggi dalam rangka menyukseskan pencapaian visi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia (FKUI) terkemuka 2010.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Morfologi dan Fisiologi *Entamoeba histolytica*

E. histolytica di dalam tinja dapat ditemukan sebagai: (1) trofozoit, (2) prekista, dan (3) kista.⁹ Parasit ini ditularkan sebagian besar oleh manusia yang terinfeksi olehnya. Penularan melalui kontak seksual oral-anal dapat pula terjadi. Meskipun *E. histolytica* banyak berhubungan dengan hewan (kucing, anjing, primata, dll.), tidak ada laporan mengenai transmisi antara hewan dan manusia melalui zoospora.²

Siklus hidup *E. histolytica* relatif sederhana, terdiri oleh stadium kista dan trofozoit. Kista adalah stadium yang infeksi. Trofozoit merupakan bentuk vegetatif yang aktif dan dapat dibedakan dengan amoeba usus lainnya karena mempunyai sifat morfologi yang penting untuk diagnosis. Ukurannya antara 10 sampai 60 mikron, sebagian besar antara 15 sampai 30 mikron. Sepertiga bagian dari seluruh amoeba ini berupa ektoplasma hialin yang lebar, jernih dan membiaskan cahaya, terpisah jelas dari endoplasma. Pseudopodium berbentuk tipis seperti jari-jari, yang dikeluarkan secara mendadak oleh ektoplasma. Endoplasmanya bergranula halus, biasanya mengandung bakteri atau benda-benda asing. Ciri khas *E. histolytica* yang membedakannya dengan amoeba usus yang lain adalah dalam endoplasmanya sering ditemui sel darah merah dalam berbagai tingkat kerusakan. Pada amoeba yang tidak dipulas, inti tunggal yang letaknya eksentrik dapat dilihat samar-samar sebagai cincin yang berbutir halus. Dengan pulasan hematoksilin, membran inti dapat dilihat dengan jelas dan pada sebelah dalamnya melekat butir-butir kromatin halus, sama besar dan tersebar rata. Kariosom yang kecil, mudah dipulas dan letaknya di tengah-tengah, terdiri dari beberapa butir yang letaknya di dalam sebuah simpai yang menyerupai suatu "halo". Simpai tersebut merupakan tempat keluarnya serabut-serabut halus teratur radier menuju ke perifer. Trofozoit yang mengalami degenerasi menunjukkan gerakan yang lambat, batas antara ektoplasma dan endoplasma menjadi kurang nyata. Sitoplasma menjadi lebih berbutir dan inti tampak lebih jelas.^{2,7,9}

Stadium prekistik berupa sel yang bulat atau bujur, tidak berwarna, lebih kecil daripada trofozoit dan lebih besar daripada kista serta tidak mengandung makanan. Pseudopodium dikeluarkan perlahan-lahan dan tidak ada gerakan yang progresif.⁹

Stadium kista berupa struktur sferik, diameternya 5-20 μm dengan dinding tipis, halus dan transparan (membias cahaya). Tebalnya adalah 0,5 μm . Salah satu karakteristik morfologinya adalah kista matur mengandung 4 nukleus. Struktur berbentuk seperti batang (kromatoidal) kadang-kadang ada, tetapi lebih umum ditemui pada kista yang belum matur. Kista muda mempunyai sitoplasma yang mengandung vakuol glikogen dan benda-benda yang berbentuk lisong, dengan kedua ujung tumpul, mudah dipulas dan membias cahaya. Benda-benda kromatoid ini mengandung substansi seperti asam ribonukleat, asam deoksiribonukleat, dan fosfat yang akan menghilang bila kista telah matang sehingga tidak dapat dijumpai pada kira-kira setengah dari jumlah kista yang ada. Vakuol glikogen dan benda kromatoid ini dianggap sebagai makanan cadangan. Kista muda mempunyai satu nukleus, besarnya kira-kira sepertiga dari diameter kista. Kista matang yang infeksiif mengandung 4 nukleus yang lebih kecil. Kista yang memiliki nukleus lebih dari 4 jarang ditemui. Kista berinti satu sampai empat inilah yang dapat ditemui pada tinja manusia.^{2,9,11}

Tempat hidup bentuk trofozoit adalah dinding dan rongga *colon*, terutama di bagian *coecum* dan *sigmoidirectum*. Trofozoit berkembangbiak secara belah pasang, intinya membelah dan mengadakan mitosis yang mengalami modifikasi. Reproduksi juga terjadi dengan pembentukan kista; bila dinding kista pecah, maka keluarlah delapan amoeba metakistik. Terbentuknya kista penting untuk penularan, karena hanya kista matang yang infeksiif. Lingkungan yang paling baik sebagai tempat tumbuh *E. histolytica* adalah lingkungan anaerob atau dalam kadar asam yang rendah.⁹

Trofozoit lebih mudah dimusnahkan daripada kista. Di dalam tinja, trofozoit dapat bertahan selama 5 jam pada suhu 37⁰ C, selama 16 jam pada suhu 25⁰ C, dan 96 jam pada suhu 5⁰ C. Kista yang resisten, mati dalam waktu 5 menit pada suhu 50⁰ C. Kista-kista ini tahan terhadap suhu sekitar titik beku, tetapi tidak tahan kering dan pembusukan. Kista dapat hidup dalam tinja atau dalam tinja

yang diencerkan dengan air selama 2 hari pada suhu 37⁰ C, 9 hari pada suhu 22⁰ C, dan 60 hari pada suhu 0⁰ C. Di bawah titik beku daya tahannya cepat berkurang; pada suhu 28⁰ C dapat bertahan kurang dari 7 jam dan kematiannya kemungkinan besar disebabkan oleh molekul air dalam protoplasma yang menjadi hablur.⁹

2.2. Epidemiologi

Amebiasis menjadi penyebab dari kematian sekitar 100.000 orang per tahun, terutama di wilayah Amerika Tengah dan Selatan, Afrika, dan India. Di seluruh dunia, penyakit ini menjadi sebab kematian terbesar ketiga akibat infeksi parasit setelah malaria dan schistosomiasis, sebagaimana perkiraan oleh World Health Organization. Infeksi amebiasis endemik di sebagian besar iklim dan temperatur tropis. Prevalensi amebiasis bervariasi pada populasi individu yang menderita, berbeda-beda antarnegara dan antardaerah dengan kondisi sosioekonomi yang berbeda. Hingga 50% penderita tinggal di daerah dengan kondisi sanitasi yang buruk.² Sanitasi yang buruk terutama terdapat di daerah tropik dan subtropik. Penyakit ini juga endemik pada golongan sipil dan militer dan terutama ditemukan di rumah sakit jiwa, rumah piatu, dan penjara. Golongan ekonomi rendah menunjukkan frekuensi tinggi, karena kekurangan gizi, pemukiman padat dan lingkungan yang kurang sehat. Pada daerah industri, amebiasis terjadi pada pria homoseksual aktif, imigran, wisatawan yang datang ke daerah endemik.^{2,5,9}

Sumber infeksi terpenting adalah penderita menahun yang mengeluarkan kista atau pengandung kista tanpa gejala (karier, asimtomatik).⁹ Data dari survey epidemiologi menunjukkan bahwa sekitar 90% penderita amebiasis adalah asimtomatik.^{2,13} Dalam beberapa data penelitian dengan menggunakan teknik untuk membedakan *E. histolytica* dengan *E. dispar* pada sampel tinja juga disebutkan bahwa sebagian besar individu asimtomatik yang terinfeksi *Entamoeba* terdapat koloni *E. dispar*. Tabel di bawah ini menjelaskan prevalensi *E. histolytica* dan *E. dispar* pada individu asimtomatik.⁵

Tabel 2.2.1. Prevalensi Infeksi *E.histolytica/E.dispar* pada Beberapa Penelitian

Populasi	Jumlah	Teknik	<i>E. histolytica</i>	<i>E. dispar</i>
Individu asimtomatik di Afrika Selatan	1381	Analisis kultur/ isoenzim	1%	9%
Anak-anak asimtomatik di Bangladesh	680	ELISA	5%	12%
Individu asimtomatik di 14 komunitas Filipina	1872	PCR	1%	7%
Individu asimtomatik di daerah kumuh di Brazil	564	ELISA	11%	9%
Individu asimtomatik di Mesir	182	ELISA	21%	24%
Individu asimtomatik di Yunani	322	PCR dan ELISA	<1%	8%

Pada tahun 1996, 1-3 juta kasus amebiasis intestinal dilaporkan di Mexico, dan walaupun nilai ini mungkin juga termasuk infeksi dengan *E. dispar*, studi serologik telah mengindikasikan bahwa lebih dari 8% populasi adalah penderita amebiasis. Di Hue, sebuah kota di Vietnam yang populasinya mencapai 1 juta, salah satu rumah sakit melaporkan adanya 1500 kasus amebiasis hati (abses liver) dalam kurun waktu 5 tahun. Di Mesir, hasil survey mengindikasikan bahwa 385 individu dengan diare akut menderita amebic colitis. Di USA, sebagian besar kasus muncul pada imigran dari daerah endemik, dan orang-orang yang tinggal di daerah yang berbatasan dengan daerah kasus di Mexico.⁵

Sebagian besar individu dengan amebiasis terinfeksi melalui ingesti makanan atau minuman yang terkontaminasi feses yang mengandung kista *E.*

histolytica. Namun, beberapa cara penularan yang lain masih mungkin terjadi, seperti seks oral dan anal, terutama pada pria homoseks aktif.^{2,5}

2.3. Tanda dan Gejala-gejala Klinik

2.3.1. Gastrointestinal

Pada beberapa individu dengan infeksi *E. histolytica* tidak didapati adanya gejala, dan infeksi dapat berhenti sama sekali tanpa adanya gejala dari awal. Namun, 4-10% individu asimtomatik yang terinfeksi *E. histolytica*, penyakitnya dapat berkembang lebih jauh dalam waktu satu tahun. Pasien dengan *amoebic colitis* mengalami diare berdarah dan luka abdominal. Onsetnya sering meningkat. Luka-luka yang disebabkan oleh *E. histolytica* terutama terdapat di dalam usus besar, dan ada beberapa yang terdapat di bagian terminal ileum. Tempat utama adalah daerah *coecum* dan *sigmoidorectum*, yaitu tempat aliran kolon lambat. Luka-luka lebih jarang terdapat di kolon ascendens, rectum, sigmoid atau appendix. Bila infeksi meluas, tempat invasi di dalam kolon bertambah. Invasi sistemik sekunder dapat terjadi pada penderita disentri, pada infeksi ringan atau laten.^{5,9}

E. histolytica terutama varietas minutanya, biasanya dianggap sebagai parasit yang hidup dalam rongga usus sebagai komensal yang tidak membahayakan dan dalam keadaan tertentu dapat menjadi parasit patogen yang menyerang jaringan. Di daerah-daerah dengan iklim dingin, paling sedikit 90% dari infeksi mencapai keseimbangan sempurna antara parasit dengan hospes sehingga tidak menimbulkan gejala-gejala klinik yang nyata. Patogenitas *E. histolytica* tergantung pada : (1) resistensi hospes, (2) virulensi dan kemampuan invasi "strain" amoeba itu., dan (3) keadaan traktus intestinalis. Resistensi tergantung pada kekebalan bawaan, keadaan gizi dan bebas tidaknya penderita dari penyakit-penyakit infeksi yang melemahkan. Ada bukti yang nyata bahwa virulensi tergantung pada "strain". Pada biakan sifat virulensi berkurang, tetapi virulensi ini dapat diperbesar dengan lintasan berturut-turut pada binatang. Virulensi, kemampuan untuk invasi, jumlah amoeba dan keadaan local dari usus tempat invasi dipermudah oleh makanan yang terdiri atas karbohidrat, kerusakan

fisik, atau kimiawi pada mukosa, statis, dan terutama oleh flora bakteri adalah penting untuk menentukan luas ulkus pada usus. Pentingnya bakteri yang menyertai infeksi patogen telah berkali-kali diperlihatkan pada binatang dan manusia. Pada marmut yang bebas kuman, orang tidak berhasil menimbulkan lesi, sedangkan sebagian besar binatang yang dipakai sebagai kontrol, menunjukkan ulkus-ulkus. Bakteri yang terdapat bersamaan mungkin mempertinggi daya invasi amoeba atau menciptakan kondisi yang mempermudah invasi itu.⁹

2.3.2. Organ Lainnya

Manifestasi klinik ekstraintestinal dari amebiasis yang paling umum adalah abses liver.^{5,9} Selain organ hati, target kerusakan organ lainnya oleh trofozoit yang bersirkulasi adalah saluran nafas (biasa sebagai akibat langsung dari meluasnya suatu abses hati), otak (lebih jarang lagi, dan muncul pada 0-1% pasien yang telah mengalami abses hati).

2.4. Diagnosis

Diagnosis amebiasis yang menentukan adalah menemukan parasit di dalam tinja atau jaringan. Berbagai teknik telah dikembangkan akhir-akhir ini. Dalam beberapa tahun, para peneliti mencari metode yang dapat menunjukkan keakuratan penilaian amebiasis. Diagnosis laboratorik amebiasis biasanya didasarkan pada metode mikroskopik dan serologik termasuk *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA), *indirect hemagglutination assay* (IHA), dan *latex agglutination*. Diagnosis yang akurat penting tidak hanya untuk pasien dengan disentri, melainkan juga bagi 90% yang asimtomatik, karena infeksi dapat dengan mudah ditularkan dari orang ke orang, terutama pada negara-negara berkembang yang kondisi sanitasinya buruk dan kekurangan air.²

2.4.1. Mikroskopik

Diagnosis *E. histolytica* secara mikroskopik didasarkan pada fase morfologis parasit ini. Perlu dibedakan antara *E. histolytica* dengan spesies lain yang mirip secara morfologis. Penampakan yang khas dari spesies ini adalah adanya eritrofagositosis, dijumpai eritrosit pada trofozoit *E. histolytica*.²

Eritrosit yang diingesti dapat dilihat pada sitoplasma, dan penampakan ini khusus bagi pasien dengan disentri. Hal ini dapat digunakan untuk membedakan antara *E. histolytica* dengan *E. dispar*. Namun, penampakan sel darah merah ini tidak selamanya ada pada infeksi amoeba kronik. Keberadaan sel darah merah ini menunjukkan amebiasis invasif yang aktif. Dan pada beberapa kasus *E. dispar* juga mengandung sel darah merah yang diingesti.²

Trofozoit lebih sering diamati pada spesimen tinja segar yang mengandung mucus, pus, dan darah dalam jumlah cukup. Pada bahan cair, nucleus trofozoit tidak dapat dilihat dengan mudah. Pada bahan cair, produk eosinofil yang terdegenerasi dan sel darah merah yang menggumpal dapat dilihat. Diagnosis definitif terhadap amebiasis intestinal memerlukan kecakapan dan keterampilan yang tinggi, latihan yang cukup dan memadai, untuk menghindari adanya misdiagnosis. Motilitas *E. histolytica* pada tinja segar sangat tinggi, pseudopodia terbentuk dengan ujung tumpul, yang akan menunjukkan dimana letak nucleus. Jika tinja segar tidak dapat diperiksa secara langsung, dapat disimpan lebih dahulu dengan fiksasi seperti *polivinil alcohol* atau disimpan pada suhu 4°C.²

Spesimen tinja dapat diperiksa dengan pewarnaan maupun tidak dengan Lugol atau D'Antoni iodine. Pewarnaan iodine membuat nucleus dapat dilihat dengan jelas. Penampakan badan kromatoid sama dengan apabila dilihat pada persiapan bahan basah. Pewarnaan yang lain seperti Giemsa, metilen biru, Chorrazole hitam E, wright's dan iodine trikrom juga dapat digunakan dengan baik. Pewarnaan dengan D'Antoni iodine lebih baik daripada saline atau buffer metilen biru untuk mendeteksi trofozoit *E. histolytica*. Ada beberapa faktor yang berpengaruh terhadap hasil pemeriksaan mikroskopik, antara lain : (1) pemeriksa yang terlatih, (2) penundaan pengiriman ke laboratorium (motilitas trofozoit

berkurang dan lisis dalam 20-30 menit), (3) kesulitan dalam membedakan trofozoit nonmotil dan leukosit polimorfonuklir, makrofag, dan sel-sel jaringan, (4) kondisi pengumpulan yang tidak memadai (bersih, kering, tidak terkontaminasi urine, penting untuk menjaga kondisi spesimen yang baik), (5) substansi yang ikut seperti antibiotik (tetrasiklin atau sulfonamid), laksatif, antasid, magnesium sulfat, antidiare, kaolin atau bismuth, sabun, (6) kurangnya persiapan spesimen tinja yang difiksasi (diperlukan fiksasi dengan *polivinil alcohol*, atau cairan Schaudinn, merthiolate-iodine-formalin, sodium asetat- asam asetat- formalin, atau 5-10% formalin), serta (7) kehadiran amoeba yang lain (seperti *E. dispar*, *E. moshkovskii* yang identik dan *E. coli*, *E. hartmanni* yang sama penampakannya dengan *E. histolytica*).²

Pemeriksaan dengan metode mikroskopik langsung memiliki keuntungan antara lain dapat melihat adanya trofozoit motil dan eksudat seluler yang tidak bisa dilihat pada pemeriksaan konsentrasi. Kerugiannya adalah pada metode ini kita tidak dapat melihat telur, kista dan larva yang ada dalam jumlah sedikit. Keuntungan metode konsentrasi adalah dapat memaksimalkan jumlah organisme yang terdeteksi yang biasanya terlalu sedikit untuk bisa terdeteksi dengan metode langsung. Namun konsentrasi dapat merusak trofozoit dan mengaburkan adanya eksudat seluler.¹⁴

2.4.2. Metode Biokimia : Kultur dan Isoenzim

Sudah sejak lama diketahui bahwa pengkulturan *E. histolytica* dari tinja atau abses liver kurang memberikan manfaat sebagai alat diagnostik, karena teknik ini lebih umum dipakai sebagai *research tool*. Selain itu, dengan metode ini masih terdapat kelemahan antara lain keberadaan organisme lain yang tidak dapat dihindari, sehingga menyulitkan identifikasi. Beberapa organisme mungkin ikut tumbuh pada kultur *E. histolytica*, terutama *Blastocyst hominis*.²

Untuk mengenali bentuk patogen dan nonpatogen (*E. histolytica* dan *E. dispar*), biasanya digunakan pola-pola isoenzim dari kultur. 24 zymodeme yang berbeda telah dapat dikenali, yang terdiri dari 21 zymodeme dari manusia (9 *E. histolytica* dan 12 *E. dispar*) dan 3 zymodeme dari strain hasil kultur percobaan.

Zymodeme-zymodeme ini terdiri atas pola-pola elektroforesis enzim malat, heksokinase, glukosa fosfat isomerase, dan fosfoglukomutase isoenzim. Analisis zymodeme dapat digunakan dan dipercaya untuk membedakan spesies *E. histolytica* dan *E. dispar*, karena adanya perbedaan genetic pada heksokinase kedua spesies tersebut. Analisis ini memiliki beberapa kelemahan seperti kesulitan dalam melakukan prosedur tes, dan memakan waktu. Namun, penggunaan metode biokimia ini baik diterapkan pada studi epidemiologi pada daerah endemik.²

2.4.3. Deteksi Antibodi

Deteksi antibodi juga baik dilakukan pada daerah endemik. Namun, masih ada kesulitan yang muncul, yaitu membedakan antara waktu infeksi yang terjadi, sebab di daerah endemik masyarakat umumnya telah terpapar berulang kali oleh infeksi *E. histolytica*. Tes serologic sangat membantu apabila dilakukan pada negara industri, dimana infeksi *E. histolytica* tidak umum terjadi. Pendekatan diagnosis yang terbaik adalah dengan menggunakan kombinasi tes-tes serologis dan deteksi parasit (dengan deteksi antigen atau PCR, atau dengan mikroskopik).²

Serum antibodi terhadap *E. histolytica* dapat dideteksi pada 75-85% pasien dengan gejala infeksi *E. histolytica*. Penilaian yang telah digunakan sejauh ini antara lain IHA, counterimmunoelectrophoresis (CIE), tes difusi gel amoeba, fiksasi komplemen (complemen fixation, CF), indirect fluorescence assay (IFA), aglutinasi latex, dan ELISA.²

Tes untuk antibodi *E. histolytica* harus dilakukan pada laboratorium dengan peralatan yang canggih dan dengan tenaga ahli. Juga diperlukan pemahaman tes-tes serologis yang harus dilakukan secara simultan dengan kultur dan PCR apabila terdapat dugaan adanya amebiasis ekstraintestinal.²

2.4.4. Deteksi Antigen

Deteksi antigen berdasarkan ELISA memiliki beberapa kelebihan dibandingkan metode lainnya dalam diagnosis amebiasis : (i) dapat membedakan *E. histolytica* dan *E. dispar*; (ii) sensitivitas dan spesifisitas tinggi; (iii) siap digunakan bahkan

oleh personel laboratorium yang belum terlatih; dan (iv) merupakan salah satu alat *screening* berskala luas pada studi epidemiologi.²

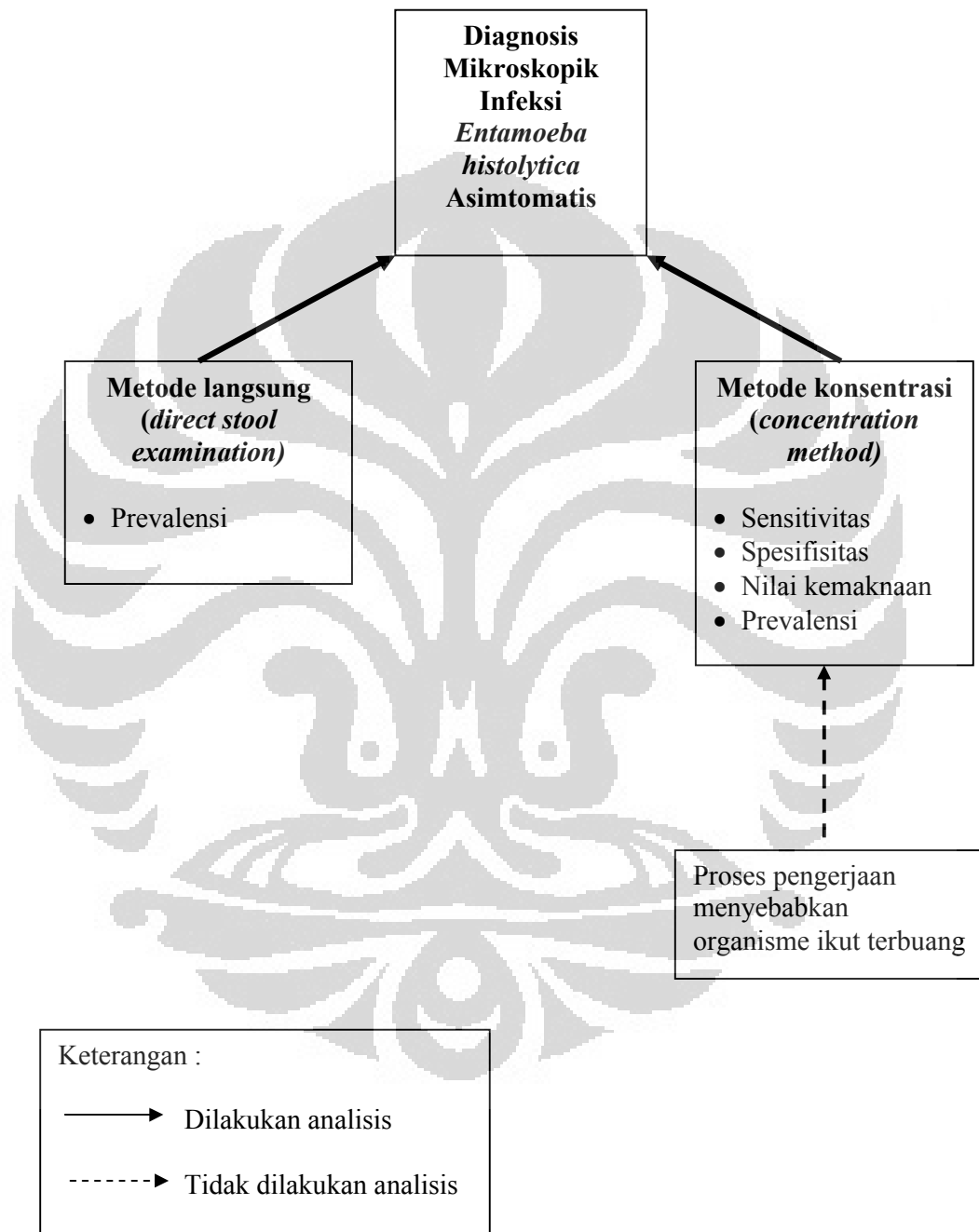
Deteksi antigen saat ini menawarkan metode deteksi yang praktis, sensitif, dan spesifik untuk *E. histolytica* intestinal. Sedangkan pendekatan eksperimental lainnya terkait infeksi *E. histolytica* adalah deteksi antigen yang bersirkulasi pada serum, yang dapat digunakan untuk diagnosis abses hati.²

2.4.5. Tes Diagnosis Molekuler : PCR

Teknologi berbasis biologi molekuler mulai digunakan secara luas untuk mengatasi masalah sensitivitas, spesifisitas dan kesederhanaan teknik-teknik pemeriksaan lainnya. Kelemahan dari metode PCR adalah prosedur yang memakan waktu lebih lama daripada EIA, kompleksitas teknik, dan biaya yang mahal. Sehingga, metode ini kurang cocok apabila diterapkan pada negara-negara berkembang dimana amebiasis merupakan penyakit endemik, karena keterbatasan tenaga ahli dan peralatan yang dibutuhkan. Walau bagaimanapun, metode ini akan menjadi standar emas daripada teknik diagnostik lainnya (mikroskopik, deteksi antibodi, antigen, dan biokimia).²

PCR merupakan alat penelitian yang berkekuatan tinggi. Namun, alat ini juga rentan terhadap kontaminasi silang dan hasil *false-negatif* yang disebabkan oleh inhibitor DNA polimerase pada sample tinja.²

2.5. Kerangka Konsep



BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan studi observasional analitik dengan desain *cross sectional* (potong lintang) untuk membandingkan pemeriksaan mikroskopik dengan sampel tinja yang dikonsentrasikan dan yang tanpa konsentrasi. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji diagnostik untuk menilai sensitivitas, spesifisitas, nilai prediksi positif, nilai prediksi negatif, dan prevalensi.

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Waktu penelitian adalah bulan April s.d Oktober 2007.

3.3. Populasi Penelitian

1. Populasi Target

Populasi target pada penelitian ini adalah anak usia sekolah dasar, yaitu 6-12 tahun yang tinggal di wilayah kumuh (sanitasi dan higienitas rendah) di Jakarta.

2. Populasi Terjangkau

Populasi terjangkau pada penelitian ini adalah anak usia sekolah yang berada di daerah kumuh di wilayah Kampung Melayu, Jakarta Timur.

3.4. Sampel dan Cara Pemilihan Sampel

Sampel merupakan bagian dari populasi terjangkau yang telah memenuhi kriteria inklusi. Sampel didapat dari penelitian oleh dr. Rini Sekartini, SpA(K) dalam rangka penyusunan disertasi untuk meraih gelar doktor di bidang Ilmu Kesehatan Anak FKUI yang berjudul “Perbedaan Faktor Risiko Infeksi *Entamoeba histolytica* Asimtomatik pada Anak Usia Prasekolah dan Usia Sekolah Sebagai Dasar Tindakan Intervensi”.

3.5. Kriteria Inklusi

Karakteristik umum yang harus dipenuhi subjek dalam penelitian ini adalah :

- a. Anak usia sekolah (6 – 12 tahun) yang tinggal di lingkungan dengan sanitasi dan higienitas rendah;
- b. Pada saat dilakukan pengambilan sampel penelitian, diketahui bahwa subjek tidak menderita diare atau disentri 1 bulan sebelumnya;
- c. Subjek tidak sedang mengkonsumsi obat (antibiotik, laksatif, dan antasid) dalam 1 minggu sebelum pengambilan sampel; dan
- d. Bersedia diambil sampel tinjanya.

3.6. Besar Sampel

Besar sampel ditentukan dengan menggunakan rumus sampel untuk data nominal uji diagnostik (sampel tunggal untuk uji hipotesis proporsi suatu populasi) yaitu :

$$n = \frac{(z_{\alpha} \sqrt{P_1 Q_1} + z_{\beta} \sqrt{P_2 Q_2})^2}{(P_2 - P_1)^2}$$

Keterangan :

P_1 : proporsi prevalensi berdasarkan metode langsung, ditentukan besarnya 0,50

P_2 : proporsi prevalensi berdasarkan metode konsentrasi, ditentukan besarnya 0,60

α : tingkat kemaknaan (satu arah), ditentukan besarnya 0,05

z_{β} : *power*, ditetapkan nilainya 80%

$$z_{\alpha} = 1,645; z_{\beta} = 0,842; P_1 = 0,50; P_2 = 0,60$$

Jadi jumlah sampel minimal yang dibutuhkan adalah :

$$n = \frac{[1,645 \sqrt{(0,50 \times 0,50)} + 0,842 \sqrt{(0,60 \times 0,40)}]^2}{(0,60 - 0,50)^2} = 153$$

3.7. Cara Kerja

1. Menentukan besar sampel
2. Memilih subjek yang memenuhi kriteria inklusi
3. Pada sampel terpilih, dilakukan pengambilan spesimen tinja yang akan dibawa ke laboratorium untuk didata dan diuji. Pengambilan sampel tinja dilakukan dengan cara meminta subjek untuk mengumpulkan sedikit tinja yang dikeluarkan. Subjek diberi wadah untuk menampung tinja.
4. Sampel yang didapat dari subjek penelitian langsung dibawa ke laboratorium Parasitologi FKUI untuk diperiksa.
5. Sampel tinja kemudian diperiksa dengan metode konsentrasi dan pemeriksaan langsung. Pada kedua metode pemeriksaan ini, masing-masing dilakukan pemeriksaan pada 3 sediaan tinja untuk mendapatkan hasil yang akurat, karena dengan pengujian hanya 1 kali dikhawatirkan bentuk kista yang dicari tidak ditemukan pada bagian sampel tinja yang diperiksa.
6. Langkah-langkah **pemeriksaan langsung**
 - a. **Pemeriksaan dengan Larutan Eosin**
 - α untuk pemeriksaan bentuk vegetatif dan kista.
 - α memakai larutan eosin 25 yang terdiri atas : eosin 2 gram dan aquades 100 cc
 - 1. Dengan pipet, diteteskan setetes larutan eosin 2% di atas kaca benda yang kering.
 - 2. Diambil sedikit tinja dengan sebatang lidi lalu diaduk dengan larutan eosin pada kaca benda. Bagian-bagian kasar dikeluarkan.
 - 3. Sebuah kaca tutup diletakkan di atasnya perlahan-lahan hingga cairan merata di bawah kaca tutup tanpa terjadi gelembung udara.
 - 4. Sediaan harus tipis sehingga warnanya merah jambu muda. Bila warnanya merah jambu tua atau jingga, maka berarti sediaan terlalu tebal.
 - 5. Periksa di bawah mikroskop dengan pembesaran lemah (10 x 10). Bila sudah ditemukan parasit, periksalah dengan pembesaran besar (10 x 45).

6. Diperiksa sekurang-kurangnya pada 3 sediaan tinja.

b. Pemeriksaan dengan Larutan Iodium (Lugol)

α Memakai larutan iodium dengan komposisi :

Iodium 1 gram, Iodetum kalicum : 2 gram, dan Aquades : 100 cc

α Cara pembuatan sediaan sama dengan cara eosin. Hanya sediaan tidak perlu terlalu tipis.

α Cara ini dipakai untuk pemeriksaan kista. Bentuk vegetatif pada larutan iodium ini menjadi bulat karena mati, sehingga pemeriksaan bentuk vegetatif menjadi sukar dilakukan.

7. Langkah-langkah pemeriksaan dengan **metode konsentrasi formaldehyde-eter**

○ Pemeriksaan ini dilakukan untuk menemukan kista protozoa (*E. histolytica*) dalam tinja. Cara kerja :

1. Tinja diemulsikan dengan air sedikit demi sedikit sampai sebanyak 10 ml
2. Disaring dengan kain kasa
3. Disentrifuse 2 menit dengan kecepatan 2000 rpm
4. Dibuang debris bersama air yang berada diatas sediaan
5. Sediaan dicairkan dengan formalin 10% sebanyak 10 ml (formalin ditambahkan sedikit demi sedikit) kemudian tutup karet dan dikocok-kocok.
6. Didiamkan selama 5 menit
7. Ditambahkan eter 1-2 ml.
8. Disentrifuse selama 1,5 menit dengan kecepatan 2000 rpm
9. Debris dan formalin yang berada diatas sedimen dibuang hati-hati sehingga sedimen tidak ikut terbawa
10. Diambil sedimen dengan pipet dan diletakkan pada kaca objek
11. Ditutup dengan gelas tutup dan diperiksa dengan mikroskop
12. Dapat pula dilakukan pulasan trikrom.

8. Data yang didapat dari hasil pemeriksaan akan berupa tabel sebagai berikut :
 Hasil pemeriksaan dengan metode langsung (positif/negatif)

Sampel ke-	Hasil
Jumlah	

Hasil pemeriksaan dengan metode konsentrasi (positif/negatif)

Sampel ke-	Hasil
Jumlah	

3.8. Rencana Analisis Data

1. Data yang didapat dari kedua macam pemeriksaan (langsung dan konsentrasi) berupa data nominal. Kemudian akan dilakukan pengelompokan berdasarkan tabel 2x2 sebagai berikut :

Pemeriksaan Langsung

Metode	Positif	Negatif	Jumlah
Konsentrasi	a	b	a+b
Dg formalde hyde-eter	c	d	c+d
Jumlah	a+c	b+d	a+b+c+d

2. Dilakukan analisis sensitivitas (untuk memperlihatkan kemampuan metode langsung dan konsentrasi untuk mendeteksi adanya infeksi *E. Histolytica*) dan spesifisitas (menunjukkan kemampuan metode langsung dan konsentrasi untuk menentukan tidak adanya infeksi *E. Histolytica*).
 Sensitivitas dan spesifisitas dihasilkan dalam bentuk persentase.

$$\text{Sensitivitas} = a : (a+c)$$

$$\text{Spesifisitas} = d : (b+d)$$

- Menentukan nilai duga positif (ND+ atau NDP) yaitu probabilitas subyek terinfeksi *E.histolytica* apabila uji diagnostik positif dan nilai duga negatif (ND- atau NDN) yaitu probabilitas subyek tidak terinfeksi *E.histolytica* apabila uji diagnostik negatif.

$$\text{Nilai prediksi positif} = a : (a+b)$$

$$\text{Nilai prediksi negatif} = d : (c+d)$$

- Menentukan rasio kemungkinan (*likelihood ratio*)

$$\text{RK positif} = a/(a+c) : b/(b+d) = \text{sensitivitas} : (1\text{-spesifisitas})$$

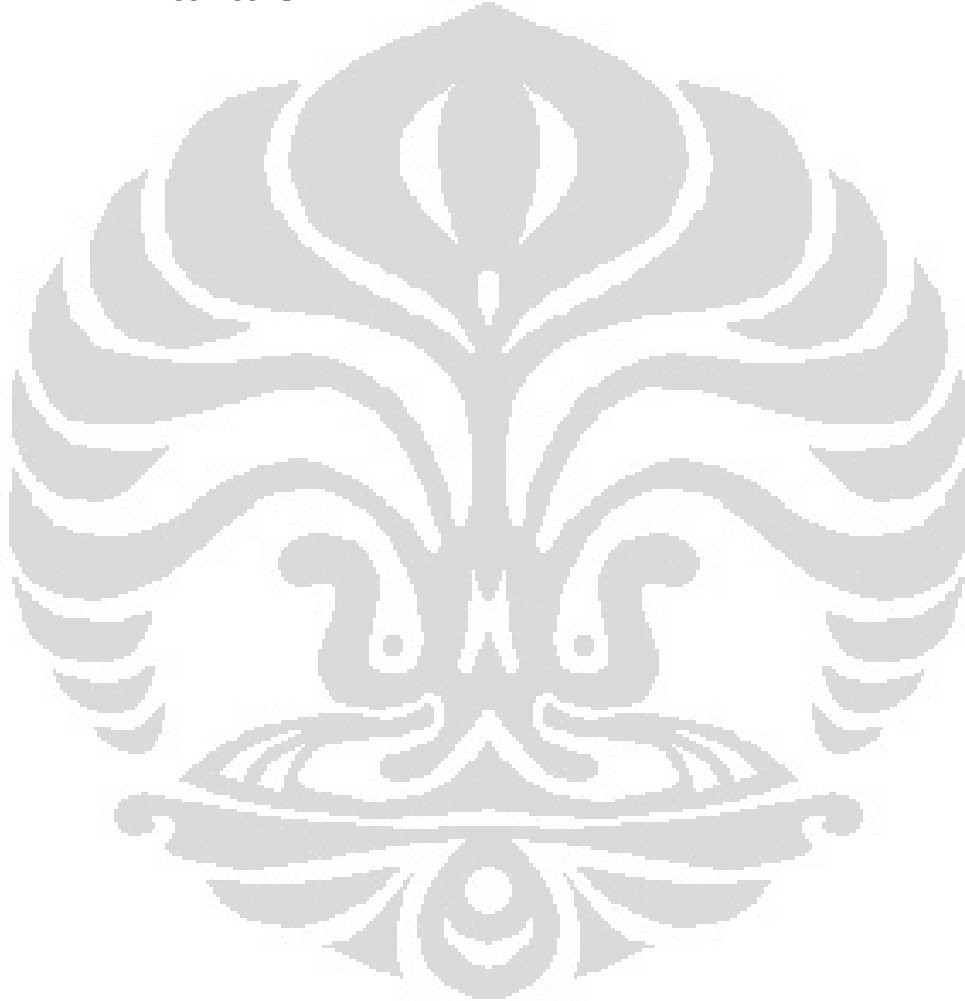
$$\text{RK negatif} = c/(a+c) : d/(b+d) = (1\text{-sensitivitas}) : \text{spesifisitas}$$

Untuk melihat adanya perbedaan nyata antara kedua teknik (metode langsung dan konsentrasi) hasil kedua pemeriksaan tersebut akan dianalisa dengan uji McNemar.

3.9. Definisi Operasional

- Subyek: anak usia sekolah dasar (6-12 tahun).
- Sampel: tinja yang diambil dari subyek.
- E. histolytica* bentuk kista: stadium infeksi yang bila tertelan akan menyebabkan penyakit disentri amoeba.
- E. histolytica* bentuk trophozoit: stadium vegetatif yang dapat menimbulkan gejala disentri amoeba, tidak bersifat infeksi.
- Diagnosis laboratorium: identifikasi protozoa *E.histolytica* yang meliputi diagnosis mikroskopik, metode serologis, dll.
- Amebiasis: keadaan terinfeksi oleh amoeba, terutama oleh *E.histolytica* .
- Disentri amoeba: amebiasis intestinal.
- Trophozoit nonmotil: stadium vegetatif *E. histolytica* yang tidak bergerak.
- Diagnosis mikroskopik : diagnosis *E.histolytica* dengan menggunakan sampel tinja yang diperiksa di bawah mikroskop.

10. Sediaan langsung/metode langsung : pemeriksaan tinja di bawah mikroskop dengan pewarnaan trikrom, dll yang dilakukan langsung pada tinja basah.
11. Sediaan konsentrasi/metode konsentrasi : pemeriksaan tinja di bawah mikroskop yang didahului oleh konsentrasi tinja dengan tujuan memaksimalkan organisme yang terdeteksi dan membuang debris yang mengganggu pemeriksaan.



BAB 4 HASIL

Penelitian ini dilakukan mulai bulan April sampai Oktober 2007. Penelitian ini mengikutsertakan 673 anak usia sekolah.

Berdasarkan pemilihan sampel, didapatkan 673 sampel pemeriksaan mikroskopik dengan metode langsung, yaitu keseluruhan anak yang bersedia mengikuti penelitian. Untuk sampel pemeriksaan mikroskopik dengan metode konsentrasi didapatkan 540 sampel.

Prevalensi infeksi *E.histolytica/E.dispar* asimtomatik pada anak usia sekolah adalah 2,5% dengan menggunakan metode langsung, sedangkan dengan metode konsentrasi 6,3%. Dapat disimpulkan bahwa pemeriksaan dengan teknik konsentrasi didapatkan hasil positif lebih tinggi dibandingkan dengan pemeriksaan mikroskopik langsung.

Kemudian dilakukan pengelompokan berdasarkan tabel t 2 x 2 sebagai berikut :

Tabel 4.1. Perbandingan Hasil Pemeriksaan Langsung dan Konsentrasi

	Hasil Pemeriksaan Langsung		Total	
	Positif	negatif		
Hasil Pemeriksaan Konsentrasi	Positif	5	28	33
	Negatif	8	486	494
Total		13	514	527

Berdasarkan tabel diatas, sensitivitas pemeriksaan metode konsentrasi dibandingkan dengan metode langsung adalah 38,5% sedangkan spesifisitasnya adalah 94,6%. Nilai prediksi positif pemeriksaan metode konsentrasi adalah 15,2% dan nilai prediksi negatif adalah 98,4%. Rasio kemungkinan positif adalah 11,67 dan rasio kemungkinan negatif adalah 0,64.

Kemudian dilakukan uji hipotesis dengan menggunakan McNemar, danj didapatkan nilai $p = 0,001$. Ini menunjukkan bahwa peningkatan sensitivitas pemeriksaan mikroskopik dengan metode konsentrasi bermakna secara statistik.

BAB 5 PEMBAHASAN

5.1. Persentase Perolehan Sampel

Jumlah sampel yang didapat untuk pemeriksaan dengan metode konsentrasi lebih sedikit dibandingkan dengan jumlah sampel untuk metode langsung (tidak semua sampel yang diperiksa dengan metode langsung juga dapat diperiksa dengan metode konsentrasi). Hal ini mungkin disebabkan oleh volume feses yang kurang mencukupi untuk dilakukan pemeriksaan dengan dua metode yang berbeda.

5.2. Persentase Perolehan Hasil Positif

Pada pemeriksaan dengan teknik konsentrasi didapatkan hasil positif lebih tinggi dibandingkan dengan pemeriksaan mikroskopik langsung. Hasil positif ini menunjukkan prevalensi infeksi *E.histolytica/E.dispar* asimtomatik pada populasi penelitian ini, yaitu sebesar 6,3%. Persentase ini senada dengan beberapa penelitian lain mengenai infeksi *E.histolytica/E.dispar* asimtomatik pada anak yang terdeteksi dengan pemeriksaan mikroskopik. Haque dkk (1999)¹⁵ mendapatkan prevalensi sebesar 4,8% pada anak di Bangladesh. Wordemann dkk (2006)¹⁶ pada penelitian infeksi parasit usus pada anak-anak di Cuba mendapatkan prevalensi 5%. Sedangkan prevalensi yang lebih besar didapatkan oleh Legesse dkk (2004)¹⁷ pada anak sekolah di Ethiopia, yaitu sebesar 12,7%. Persentase ini didapat karena studi tersebut melibatkan anak usia 6 – 25 tahun, dan tidak spesifik untuk individu yang asimtomatik.

Infeksi *E.histolytica/E.dispar* asimtomatik pada anak usia sekolah dapat disebabkan oleh pola perilaku anak usia sekolah yang sudah dapat menentukan sendiri jenis makanan/minuman dan jajanan yang mereka konsumsi, sehingga dapat memudahkan terjadinya penularan *E.histolytica*.¹

5.3. Peningkatan Sensitivitas Pemeriksaan Mikroskopik dengan Metode Konsentrasi

Sensitivitas pemeriksaan metode konsentrasi dibandingkan dengan metode langsung adalah 38,5% sedangkan spesifisitasnya adalah 94,6%. Dapat disimpulkan bahwa dalam pemeriksaan mikroskopik, metode konsentrasi lebih sensitif dibandingkan metode langsung. Peningkatan sensitivitas ini meskipun sedikit, namun bermakna secara statistik ($p = 0,001$).

Peningkatan sensitivitas ini dapat dimanfaatkan secara luas oleh kalangan medis, terutama untuk kepentingan skrining individu asimtomatis. Dengan menggunakan pemeriksaan yang lebih sensitif, akan didapatkan persentase kasus yang lebih besar sehingga dapat mengoptimalkan usaha preventif. Selain itu, pemeriksaan ini juga dapat dilakukan pada keadaan pemeriksaan langsung tidak mungkin dikerjakan karena keterbatasan waktu karena metode konsentrasi dapat dikerjakan dalam waktu lebih dari 1 hari setelah feses diambil dari pasien.

Selain lebih sensitif, metode ini lebih baik dalam memastikan infeksi *E.histolytica/E.dispar* pada individu asimtomatik. Ini dapat dilihat pada nilai spesifisitas yang cukup tinggi (94,6%).

Tidak dipungkiri bahwa false positif maupun false negatif dapat terjadi pada pembacaan hasil pemeriksaan baik dengan metode konsentrasi. Hal ini dapat disebabkan oleh adanya faktor ketelitian dan terlatihnya tenaga pemeriksa di laboratorium. Salazar, et al (1990)¹⁸ menyatakan bahwa 4-5% keberadaan *E.histolytica* pada sampel feses mengalami overdiagnosis. Negatif palsu ditemui sebesar 83,8% pada tenaga medis biasa, dan 43,2% pada tenaga terlatih. Hal ini menyebabkan kedua pemeriksaan ini (langsung dan konsentrasi) tetap memiliki keterbatasan. Pemeriksaan untuk konfirmasi lainnya dengan ELISA dan pemeriksaan lain yang lebih canggih tetap lebih unggul.

5.4. Nilai Prediksi Positif dan Nilai Prediksi Negatif

Nilai prediksi positif (*positive predictive value*, **PV +**) pemeriksaan metode konsentrasi adalah 15,2% dan nilai prediksi negatif (*negative predictive value*, **PV -**) adalah 98,4%. Ini menunjukkan probabilitas seseorang menderita penyakit apabila uji diagnostiknya positif adalah 15,2% dan probabilitas seseorang tidak menderita penyakit jika uji diagnostiknya negatif adalah 98,4%.¹⁹

PV+ sebesar 15,2% sebenarnya kurang bermakna secara klinis dan nilai prediksi sebenarnya merupakan bagian yang tidak stabil dari uji diagnostik. Nilai yang rendah ini didapat karena pada penelitian ini, *settingnya* adalah pada masyarakat dimana prevalensi infeksi *E.histolytica* rendah (< 10%). Jika penelitian dilakukan pada individu yang simtomatik atau pada rumah sakit maka dapat diperoleh PV+ yang lebih besar.

PV- sebesar 98,4% menunjukkan bahwa uji diagnostik menggunakan metode konsentrasi pada pemeriksaan mikroskopik ini sangat baik dalam menentukan individu yang tidak sakit (*rule out*). Namun karena dalam penelitian ini metode konsentrasi dibandingkan dengan metode langsung maka PV- tidak dapat sepenuhnya diterima.

5.5. Rasio Kemungkinan Positif dan Rasio Kemungkinan Negatif

Rasio kemungkinan positif (RK+) adalah 11,67 dan rasio kemungkinan negatif (RK-) adalah 0,64. Ini berarti perbandingan proporsi subyek sakit yang memberi hasil uji konsentrasi positif dengan subyek sehat yang memberi hasil uji negatif adalah 11,67. Dan perbandingan proporsi subyek sehat yang memberi hasil uji konsentrasi negatif adalah 0,64. Nilai RK yang positif kuat adalah yang jauh lebih besar dari 1 dan negatif kuat jika mendekati 0 (nol), sedangkan hasil uji yang sedang memberikan RK di sekitar nilai 1.¹⁹ Penelitian ini memberikan informasi bahwa uji diagnostik dengan metode konsentrasi bersifat positif kuat.

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat disimpulkan beberapa hal :

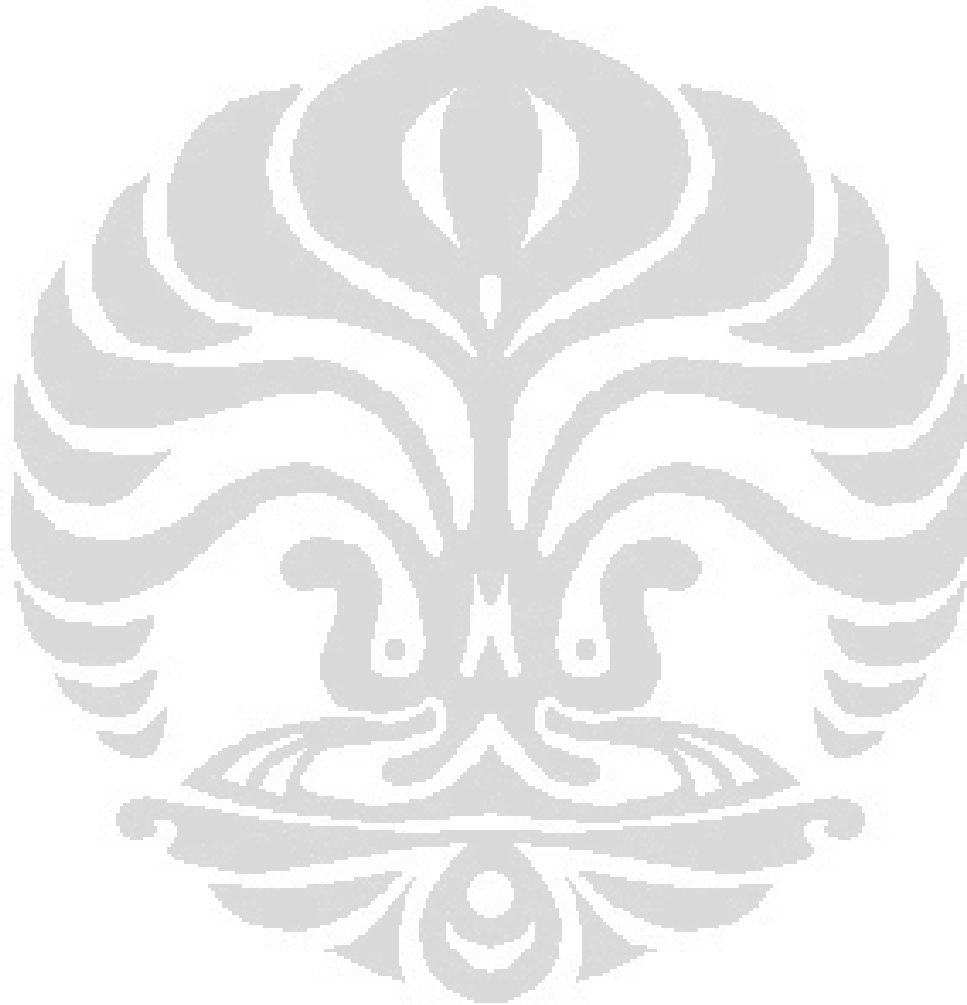
1. Deteksi *E.histolytica/E.dispar* pada spesimen tinja manusia dengan cara konsentrasi dapat meningkatkan sensitivitas pada pemeriksaan mikroskopik sebanyak 38,5%. Peningkatan ini bermakna secara statistik, dengan nilai $p = 0,001$.
2. Prevalensi infeksi *E.histolytica/E.dispar* asimtomatik pada usia sekolah adalah sebesar 6,3%.
3. Spesifisitas pemeriksaan dengan metode konsentrasi adalah 94,6%. Ini menandakan bahwa pemeriksaan mikroskopik dengan metode konsentrasi cukup baik untuk memastikan seseorang tidak terinfeksi *E.histolytica/E.dispar*.
4. Nilai prediksi positif sebesar 15,2% didapatkan karena penelitian ini dilakukan pada populasi yang asimtomatik. Sedangkan nilai prediksi negatif yang didapat cukup baik, yaitu sebesar 98,4%.
5. Rasio kemungkinan positif sebesar 11,67 dan rasio kemungkinan negatif sebesar 0,64 menunjukkan bahwa studi ini positif kuat.

6.2. Saran

Beberapa saran yang dapat diberikan berdasarkan penelitian ini adalah :

1. Aplikasi pemeriksaan mikroskopik dengan metode konsentrasi pada pemeriksaan sample tinja pasien yang diduga terinfeksi *E.histolytica*. Sebaiknya pemeriksaan konsentrasi dilakukan bersama pemeriksaan langsung, untuk mencegah *false negatif*.
2. Dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai sensitivitas metode konsentrasi pada individu simtomatik.
3. Adanya peningkatan dalam penanganan infeksi *E.histolytica* asimtomatik melalui skrining dan intervensi dini oleh tenaga kesehatan.

4. Adanya pendidikan kesehatan yang diberikan untuk anak sekolah dasar. Pendidikan ini termasuk bagaimana cara mencuci tangan yang baik, menjaga kebersihan makanan, kebiasaan buang air besar yang baik, dsb. Nantinya diharapkan kesadaran anak mengenai infeksi akan meningkat dan dapat menurunkan risiko infeksi parasit usus atau penyakit lainnya.



DAFTAR PUSTAKA

1. Sekartini R. Perbedaan faktor risiko infeksi *E.histolytica* asimtomatik pada anak usia prasekolah dan usia sekolah sebagai dasar tindakan intervensi : Ringkasan Disertasi. Jakarta : Program Doktor Ilmu Kedokteran FKUI, 2008.
2. Tanyuksel, Mehmet and Petri, William A. Jr. Laboratory diagnosis of amebiasis. *Clin Micro Rev*, 2003; 16: 713-29.
3. Reed, Sharon L. Amebiasis and infection with free-living amebas. In: Braunwald E, et.al. *Harrison's principle of internal medicine 15th ed.* New York : McGraw-Hill, 2001.
4. Gatti S, Swierczynski G, Robinson F, Anselmi M, Corrales J, Moreira J, et.al. Amebic infections due to the *Entamoeba histolytica-Entamoeba dispar* complex: a study of the incidence in a remote rural area of Ecuador. *Am J Trop Med Hyg*, 2002; 67: 123-7.
5. Stanley, Samuel L, Jr. Amoebiasis. *ProQuest Med Lib*, 2003; 361: 1025-34.
6. Haque R, Faruque AS, Hahn P, Lysterly DM, Petri WA Jr. *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* infection in children in Bangladesh. *J Infect Dis*, 1997; 175(3):734-6.
7. Sodeman, William A Jr. Intestinal protozoa : amebas. *MedMicro*, 1996. Diunduh dari : <http://www.gsbs.utmb.edu/microbook/ch079.htm>, tanggal 22 Juli 2006.
8. Haque R, et. al. Epidemiologic and clinical characteristics of acute diarrhea with emphasis on *Entamoeba histolytica* infections in preschool children in an urban slum of Dhaka, Bangladesh. *Am J Trop Med Hyg*, 2003; 69(4): 398-405.
9. Brown HW. *Dasar parasitologi klinis*. Jakarta : PT Gramedia, 1982.
10. Blessmann J, Van Linh P, Nu PA, Thi HD, Muller-Myhsok B, Buss H, et.al. Epidemiology of amebiasis in a region of high incidence of amebic liver abscess in central Vietnam. *Am J Trop Med Hyg*, 2002; 66(5) : 578-83.
11. Anonymous. Amebiasis (*Entamoeba histolytica*). *DPDx : Laboratory Identification of Parasites of Public Health Concern*, 2006. Diunduh dari : <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/Amebiasis.htm>, tanggal 22 Juli 2006.

12. Garcia LS, and Bruckner DA. Diagnostic Medical parasitology. Washington DC : American Society for Microbiology, 1993.
13. World health Organization. Manual of basic techniques for a health laboratory. Geneva : WHO, 1980.
14. Anonym. Concentration technique. Diunduh dari : http://www.btinternet.com/~ukneqas.parasitologyscheme/Faecal_Scheme/Teaching_Information/Diagnostic_procedures/Concentration_technique/concentration_technique.html, tanggal 20 Mei 2009.
15. Haque R, Ali IM, Petri WA Jr. Prevalence and immune response to *Entamoeba histolytica* infection in preschool children in Bangladesh. *Am J Trop Med Hyg*, 1999; 60(6): 1031-4.
16. Wordemann M, Polman K, Heredia LT, Diaz RJ, Collado AM, et.al. Prevalence and risk factors of intestinal parasites in Cuban children. *Trop Med & Int Health*, 2006; 11(12): 1813-20.
17. Legesse M, Erko B. Prevalence of intestinal parasites among schoolchildren in a rural area close to the southeast of Lake Langano, Ethiopia. *Ethiop J Health*, 2004; 18(2): 116-20.
18. Salazar NP, Pasay CJ, Avenido AO, Macapasir SR, Lena MJ, Maguinsay VM, et.al. Detection of *Entamoeba histolytica* in routine stool examination. *J Microbiol Infect Dis*, 1990; 19(23): 57-60.
19. Pusponegoro HD, Wirya IGNW, Pudjiadi AH, Bisanto J, Zulkarnain SZ. Uji diagnostic dalam Sastroasmoro S, Ismael S : Dasar-dasar metodologi penelitian klinis edisi ke-2. Jakarta : CV Sagung Seto, 2002.

LAMPIRAN

Hasil Deteksi *E.histolytica*/*E.dispar* dengan Metode Langsung dan Konsentrasi pada 527 Sampel Tinja Pasien

Kode Pasien	Hasil Langsung	Hasil Konsentrasi
S10	negatif	negatif
S11	negatif	negatif
S113	negatif	negatif
S119	negatif	negatif
S12	negatif	negatif
S124	negatif	negatif
S127	negatif	negatif
S131	negatif	negatif
S132	negatif	negatif
S134	negatif	negatif
S142	negatif	negatif
S144	negatif	negatif
S147	negatif	negatif
S148	negatif	negatif
S149	negatif	negatif
S15	negatif	negatif
S150	negatif	negatif
S152	negatif	negatif
S153	negatif	negatif
S156	negatif	negatif
S157	negatif	negatif
S159	negatif	negatif
S16	negatif	negatif
S160	negatif	negatif
S162	negatif	negatif
S163	negatif	negatif
S165	negatif	negatif
S166	negatif	negatif
S169	negatif	negatif
S17	negatif	negatif
S171	negatif	negatif
S172	negatif	negatif

S174	negatif	negatif
S175	negatif	negatif
S176	negatif	negatif
S178	negatif	negatif
S179	negatif	negatif
S18	negatif	negatif
S185	negatif	negatif
S186	negatif	negatif
S187	negatif	negatif
S189	negatif	negatif
S19	negatif	negatif
S191	negatif	negatif
S192	negatif	negatif
S193	negatif	negatif
S195	negatif	negatif
S197	negatif	negatif
S199	negatif	negatif
S2	negatif	negatif
S20	negatif	negatif
S201	negatif	negatif
S202	negatif	negatif
S203	negatif	negatif
S204	negatif	negatif
S205	negatif	negatif
S206	negatif	negatif
S207	negatif	negatif
S208	negatif	negatif
S209	negatif	negatif
S21	negatif	negatif
S211	negatif	negatif
S212	negatif	negatif
S213	negatif	negatif
S214	negatif	negatif
S215	negatif	negatif
S216	negatif	negatif
S217	negatif	negatif
S218	negatif	negatif
S219	negatif	positif
S220	negatif	negatif
S221	negatif	negatif

S222	negatif	negatif
S223	negatif	negatif
S224	negatif	negatif
S225	negatif	negatif
S226	negatif	negatif
S227	negatif	negatif
S228	negatif	negatif
S229	negatif	negatif
S23	negatif	negatif
S230	negatif	negatif
S231	negatif	negatif
S232	negatif	negatif
S233	negatif	negatif
S234	negatif	negatif
S235	negatif	negatif
S236	negatif	negatif
S237	negatif	negatif
S238	negatif	negatif
S24	negatif	negatif
S240	negatif	negatif
S241	negatif	negatif
S242	negatif	negatif
S244	negatif	negatif
S245	negatif	negatif
S246	negatif	negatif
S248	negatif	negatif
S249	negatif	negatif
S25	negatif	positif
S250	negatif	negatif
S251	negatif	negatif
S252	negatif	negatif
S253	negatif	negatif
S254	negatif	negatif
S255	negatif	negatif
S256	negatif	negatif
S257	negatif	negatif
S258	negatif	negatif
S259	negatif	positif
S26	negatif	negatif
S260	negatif	negatif

S261	negatif	negatif
S262	negatif	negatif
S264	negatif	negatif
S265	negatif	negatif
S266	negatif	negatif
S267	negatif	negatif
S268	negatif	negatif
S269	negatif	negatif
S27	negatif	negatif
S270	negatif	negatif
S271	negatif	negatif
S273	negatif	negatif
S274	negatif	negatif
S275	negatif	negatif
S276	negatif	negatif
S277	negatif	negatif
S278	negatif	negatif
S279	negatif	negatif
S280	negatif	negatif
S281	negatif	negatif
S282	negatif	negatif
S284	negatif	negatif
S285	negatif	negatif
S286	negatif	negatif
S287	negatif	negatif
S288	negatif	negatif
S289	negatif	negatif
S29	negatif	negatif
S290	negatif	negatif
S291	negatif	negatif
S292	negatif	positif
S294	negatif	negatif
S295	negatif	negatif
S297	negatif	negatif
S298	negatif	negatif
S299	negatif	negatif
S3	negatif	negatif
S30	negatif	negatif
S300	negatif	negatif
S301	negatif	negatif

S302	negatif	negatif
S303	negatif	negatif
S304	negatif	positif
S306	negatif	negatif
S307	negatif	negatif
S308	negatif	positif
S31	negatif	negatif
S310	negatif	positif
S311	negatif	negatif
S312	negatif	negatif
S313	negatif	negatif
S314	negatif	negatif
S315	negatif	negatif
S316	negatif	negatif
S318	negatif	negatif
S319	negatif	negatif
S32	negatif	negatif
S320	negatif	negatif
S321	negatif	negatif
S322	negatif	negatif
S324	negatif	negatif
S325	negatif	negatif
S326	negatif	negatif
S327	negatif	negatif
S328	negatif	negatif
S329	negatif	negatif
S33	negatif	negatif
S330	negatif	negatif
S331	negatif	negatif
S333	negatif	negatif
S334	negatif	negatif
S335	negatif	positif
S336	negatif	negatif
S337	negatif	negatif
S338	negatif	negatif
S340	negatif	negatif
S341	negatif	negatif
S342	negatif	negatif
S344	negatif	negatif
S345	negatif	negatif

S347	negatif	negatif
S348	negatif	negatif
S349	negatif	positif
S35	negatif	negatif
S350	negatif	negatif
S351	negatif	positif
S352	negatif	negatif
S353	negatif	negatif
S354	negatif	negatif
S355	negatif	negatif
S356	negatif	negatif
S357	positif	positif
S359	negatif	negatif
S36	negatif	negatif
S360	negatif	negatif
S361	negatif	negatif
S362	negatif	negatif
S363	negatif	negatif
S364	negatif	negatif
S365	negatif	negatif
S366	negatif	negatif
S367	negatif	negatif
S368	negatif	negatif
S369	negatif	negatif
S37	negatif	positif
S370	negatif	negatif
S371	negatif	negatif
S373	negatif	negatif
S374	positif	negatif
S375	negatif	negatif
S376	negatif	negatif
S377	negatif	negatif
S378	negatif	negatif
S379	negatif	negatif
S380	negatif	negatif
S381	negatif	negatif
S382	negatif	negatif
S384	negatif	negatif
S386	negatif	negatif
S387	negatif	negatif

S389	negatif	negatif
S393	negatif	negatif
S394	negatif	negatif
S395	negatif	positif
S398	negatif	negatif
S40	negatif	negatif
S400	negatif	negatif
S401	negatif	negatif
S402	negatif	negatif
S403	negatif	negatif
S404	negatif	negatif
S406	negatif	negatif
S407	negatif	negatif
S408	negatif	negatif
S41	negatif	negatif
S410	negatif	negatif
S413	negatif	negatif
S415	negatif	negatif
S417	negatif	negatif
S418	negatif	negatif
S42	negatif	negatif
S421	negatif	negatif
S422	negatif	negatif
S423	negatif	negatif
S424	negatif	negatif
S425	negatif	negatif
S428	negatif	negatif
S429	negatif	negatif
S430	negatif	negatif
S432	negatif	negatif
S433	negatif	negatif
S434	negatif	negatif
S436	negatif	negatif
S437	negatif	negatif
S438	negatif	negatif
S439	negatif	negatif
S440	negatif	negatif
S441	negatif	negatif
S442	negatif	negatif
S443	negatif	negatif

S444	negatif	negatif
S445	negatif	negatif
S446	negatif	negatif
S448	negatif	negatif
S449	negatif	negatif
S45	negatif	negatif
S452	negatif	negatif
S453	negatif	negatif
S454	negatif	negatif
S455	negatif	negatif
S456	negatif	negatif
S458	negatif	negatif
S459	negatif	negatif
S46	negatif	negatif
S460	negatif	positif
S461	negatif	negatif
S462	negatif	negatif
S464	negatif	negatif
S466	negatif	negatif
S468	negatif	positif
S469	negatif	negatif
S47	negatif	negatif
S471	negatif	negatif
S472	negatif	negatif
S473	negatif	negatif
S474	negatif	negatif
S475	negatif	positif
S478	negatif	negatif
S479	positif	positif
S48	negatif	negatif
S480	negatif	negatif
S481	negatif	negatif
S482	negatif	negatif
S484	negatif	positif
S485	negatif	negatif
S487	negatif	negatif
S488	negatif	positif
S49	negatif	positif
S492	negatif	negatif
S493	negatif	negatif

S496	positif	negatif
S499	negatif	negatif
S5	negatif	negatif
S500	positif	positif
S501	positif	negatif
S507	negatif	negatif
S51	negatif	negatif
S513	negatif	negatif
S514	positif	positif
S515	negatif	negatif
S523	negatif	negatif
S532	negatif	negatif
S533	negatif	negatif
S54	negatif	negatif
S546	negatif	positif
S547	negatif	negatif
S548	negatif	negatif
S549	negatif	negatif
S550	positif	negatif
S551	negatif	negatif
S554	negatif	negatif
S557	negatif	negatif
S558	negatif	negatif
S559	positif	negatif
S563	negatif	negatif
S565	negatif	negatif
S567	negatif	positif
S568	negatif	negatif
S569	negatif	negatif
S571	negatif	negatif
S574	negatif	negatif
S577	negatif	negatif
S578	negatif	negatif
S58	negatif	negatif
S581	negatif	negatif
S582	negatif	negatif
S583	negatif	negatif
S585	negatif	negatif
S589	negatif	negatif
S59	negatif	negatif

S592	negatif	negatif
S593	negatif	negatif
S595	negatif	negatif
S6	negatif	negatif
S600	negatif	negatif
S601	negatif	negatif
S604	negatif	positif
S605	negatif	negatif
S609	positif	negatif
S610	negatif	negatif
S611	negatif	negatif
S614	negatif	negatif
S619	negatif	negatif
S62	negatif	negatif
S621	negatif	negatif
S623	negatif	negatif
S624	positif	negatif
S63	negatif	negatif
S631	negatif	positif
S632	negatif	negatif
S635	negatif	negatif
S64	negatif	negatif
S641	negatif	negatif
S642	positif	positif
S645	negatif	negatif
S648	negatif	negatif
S65	negatif	negatif
S652	negatif	negatif
S656	positif	negatif
S66	negatif	negatif
S661	negatif	negatif
S664	negatif	negatif
S665	negatif	negatif
S668	negatif	negatif
S672	negatif	negatif
S677	negatif	negatif
S682	negatif	positif
S683	negatif	negatif
S684	negatif	negatif
S685	negatif	negatif

S686	negatif	negatif
S688	negatif	negatif
S689	negatif	negatif
S69	negatif	negatif
S690	negatif	negatif
S694	negatif	negatif
S696	negatif	negatif
S697	negatif	negatif
S699	negatif	negatif
S7	negatif	positif
S70	negatif	negatif
S700	negatif	negatif
S705	negatif	negatif
S707	negatif	negatif
S71	negatif	negatif
S711	negatif	negatif
S712	negatif	negatif
S713	negatif	negatif
S714	negatif	negatif
S719	negatif	negatif
S72	negatif	negatif
S725	negatif	negatif
S726	negatif	negatif
S728	negatif	negatif
S729	negatif	negatif
S733	negatif	negatif
S736	negatif	negatif
S737	negatif	negatif
S74	negatif	negatif
S740	negatif	negatif
S743	negatif	negatif
S745	negatif	negatif
S748	negatif	negatif
S749	negatif	negatif
S75	negatif	negatif
S752	negatif	negatif
S754	negatif	negatif
S758	negatif	negatif
S76	negatif	negatif
S760	negatif	negatif

S770	negatif	negatif
S771	negatif	negatif
S772	negatif	negatif
S773	negatif	negatif
S775	negatif	negatif
S776	negatif	negatif
S780	negatif	negatif
S782	negatif	negatif
S784	negatif	negatif
S785	negatif	negatif
S786	negatif	negatif
S787	negatif	negatif
S788	negatif	negatif
S791	negatif	negatif
S794	negatif	negatif
S796	negatif	negatif
S8	negatif	negatif
S801	negatif	negatif
S807	negatif	negatif
S809	negatif	negatif
S810	negatif	negatif
S813	negatif	negatif
S815	negatif	negatif
S816	negatif	negatif
S818	negatif	negatif
S822	negatif	negatif
S84	negatif	negatif
S840	negatif	positif
S841	negatif	negatif
S844	negatif	negatif
S845	negatif	negatif
S847	negatif	negatif
S85	negatif	negatif
S852	negatif	negatif
S853	negatif	negatif
S854	negatif	negatif
S857	negatif	negatif
S86	negatif	negatif
S860	negatif	negatif
S867	negatif	negatif

S869	negatif	negatif
S87	negatif	negatif
S870	negatif	negatif
S876	negatif	negatif
S877	negatif	negatif
S878	negatif	negatif
S88	negatif	negatif
S886	negatif	negatif
S887	negatif	negatif
S888	negatif	negatif
S891	negatif	negatif
S892	negatif	negatif
S896	negatif	negatif
S897	negatif	positif
S899	negatif	positif
S901	negatif	negatif
S902	negatif	negatif
S904	negatif	negatif
S907	negatif	negatif
S908	negatif	negatif
S909	negatif	negatif
S91	negatif	negatif
S911	negatif	negatif
S912	negatif	negatif
S914	negatif	negatif
S915	negatif	negatif
S916	negatif	negatif
S917	negatif	negatif
S92	negatif	negatif
S920	negatif	negatif
S922	negatif	negatif
S924	negatif	negatif
S929	negatif	negatif
S93	negatif	negatif
S930	negatif	negatif
S931	negatif	negatif
S943	negatif	negatif
S946	negatif	negatif
S950	negatif	negatif
S951	negatif	negatif

S952	negatif	negatif
S955	negatif	negatif
S957	negatif	negatif
S958	negatif	negatif
S959	negatif	negatif
S960	negatif	negatif
S962	negatif	negatif
S964	negatif	negatif
S970	negatif	positif
S971	negatif	negatif
S972	negatif	negatif
S973	negatif	negatif
S975	negatif	negatif
S98	negatif	negatif
S99	negatif	negatif

