

IDENTIFIKASI *BLASTOCYSTIS HOMINIS* SECARA MIKROSKOPIS DAN PCR PADA SAMPEL FESES DI LABORATORIUM RSUP. Dr. M. DJAMIL PADANG

Eka Nofita, Nora Harminarti, Selfi Renita Rusjdi

Abstrak

Penelitian ini untuk mengetahui keberadaan *Blastocystis* pada feses secara mikroskopis dan dengan menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Sampel penelitian didapat dari Rumah Sakit. Dr. M. Djamil Padang selama satu bulan pengumpulan. Semua sampel yang terkumpul diperiksa untuk mendeteksi *Blastocystis* dengan pemeriksaan mikroskopis langsung dan PCR. Sampel tinja yang terkumpul 61 dan didapatkan 13 (21,3%) positif mengandung *Blastocystis* dengan pemeriksaan mikroskopis langsung dan sebanyak 20 (32,8%) positif dengan pemeriksaan PCR. Penelitian ini menunjukkan bahwa pemeriksaan PCR dapat mendeteksi *Blastocystis* lebih sensitif dibandingkan dengan pemeriksaan mikroskopis langsung.

Kata kunci: *Blastocystis hominis*, pemeriksaan mikroskopis, PCR

Abstract

This study determined the presence of Blastocystis in faeces microscopically and by using Polymerase Chain Reaction (PCR). Samples were collected from hospital Dr. M. Djamil Padang for a month. All samples were examined for detecting Blastocystis by direct microscopic examination and PCR. The total number of fecal samples collected was 61. It is found that 13 (21.3%) of the samples were tested positive for Blastocystis by direct microscopic examination and 20 (32.8%) were positive by PCR. This study demonstrated that PCR can detect Blastocystis more sensitive than the direct microscopic examination.

Keywords: *Blastocystis hominis*, microscopic examination, PCR

Afiliasi penulis: Bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. **Korespondensi:** Eka Nofita, Bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Jl. Perintis Kemerdekaan No. 94 PO BOX 49 Padang 25127, Email: ekanofitamyh@yahoo.com, Telp/HP: +6281363703320

PENDAHULUAN

Blastocystis hominis merupakan salah satu protozoa usus yang cukup sering ditemukan pada manusia. *Blastocystis* tersebar kosmopolit dan merupakan parasit yang sering ditemukan pada studi-studi epidemiologi. Kepentingan klinis dari salah satu parasit usus yang sering ditemukan ini, sampai saat ini masih belum jelas. Penelitian mengenai prevalensi *B. hominis* pada berbagai populasi dan melihat peranan parasit ini dalam menyebabkan kelainan intestinal dan ekstra intestinal telah banyak dilakukan.

Prevalensi *B. hominis* berbeda-beda pada berbagai negara. Secara umum prevalensi *B. hominis* lebih tinggi pada negara berkembang dibandingkan negara maju. Hal tersebut berhubungan dengan *hygiene* yang jelek, paparan dari binatang, dan konsumsi air minum yang terkontaminasi parasit. Prevalensi *B. hominis* dilaporkan 0,5-1% di Jepang, di Singapura 3,3%, namun pada negara-negara berkembang prevalensinya jauh lebih tinggi, seperti di Argentina 27,2%, Brazil 40,9%, Kuba 38,5%, Mesir 33,3% dan Indonesia 60%.¹ Kurniawan (2009) menemukan bahwa *B. hominis* merupakan parasit usus yang paling banyak ditemukan pada pasien HIV di Jakarta, sebanyak 72,4%.²

Blastocystis ditemukan sejak 100 tahun yang lalu, namun sampai saat ini masih banyak hal yang belum diketahui mengenai parasit ini seperti daur hidup, bentuk infeksiif dan patogenitas. Pengetahuan aspek klinis *Blastocystis* tergantung dari kemampuan untuk mendeteksi organisme ini. Deteksi *Blastocystis* biasanya dilakukan secara konvensional dengan menggunakan metode parasitologi standar, yang juga digunakan untuk mendeteksi berbagai parasit usus lainnya. Parasit ini mempunyai berbagai stadium dengan morfologi yang berbeda-beda dan masih sedikit diketahui mengenai distribusinya dalam tinja, sehingga diperlukan suatu metode diagnosis yang sensitif dengan menggunakan pendekatan morfologi. Deteksi kista mempunyai masalah tersendiri. Kesulitan mendeteksi adanya kista dalam tinja oleh karena bentuknya mirip jamur atau debris-debris yang terdapat pada tinja dan membutuhkan suatu teknik

konsentrasi *isopycnic*. Kista ini resisten terhadap perubahan osmosis sementara bentuk vacuolar akan lisis karena tidak memiliki dinding. Metode yang sering digunakan selama ini untuk mendeteksi *Blastocystis* adalah pewarnaan langsung dan teknik konsentrasi *formolether* (FECT), serta pulasan permanen dan *Xenic in vitro culture* (XIVC).³ Berkembangnya penelitian saat ini tentang pemeriksaan molekuler telah dilakukannya deteksi dan amplifikasi DNA *Blastocystis* dari tinja. Stenvold et al menemukan bahwa sensitivitas FECT 50% jika dibandingkan dengan PCR.^{3,4}

Metode diagnosis yang digunakan mempengaruhi positifitas. Suatu penelitian yang dilakukan di Jepang mendapatkan prevalensi *Blastocystis* 0,5% dari 8422 penduduk Jepang dewasa yang asimtomatis dengan pemeriksaan langsung, sementara dengan menggunakan XIVC prevalensi meningkat 20,9%. Hasil yang berbeda-beda dengan menggunakan metode diagnosis yang berbeda dapat mempengaruhi validitas data yang digunakan untuk menentukan potensial patogen dari *Blastocystis*.

Pemeriksaan konsentrasi atau pemeriksaan langsung digunakan oleh beberapa peneliti untuk menentukan status karier dan non-karier. Beberapa peneliti menggunakan FECT ini sebagai metode *screening*, sedangkan pewarnaan permanen dengan *trichrome* hanya dilakukan pada tinja encer dan jika hasil yang didapatkan dengan FECT memperoleh hasil yang meragukan.^{3,5}

Kesalahan dalam diagnosis dapat terjadi pada penggunaan metode diagnosis yang tidak efektif. Penggunaan FECT dan/atau pemeriksaan langsung mempunyai bias yang cukup besar seperti *false negative* pada individu yang mempunyai gejala. Penelitian mengenai identifikasi *Blastocystis* dengan menggunakan teknik PCR dalam menegakkan diagnosis masih sangat sedikit.

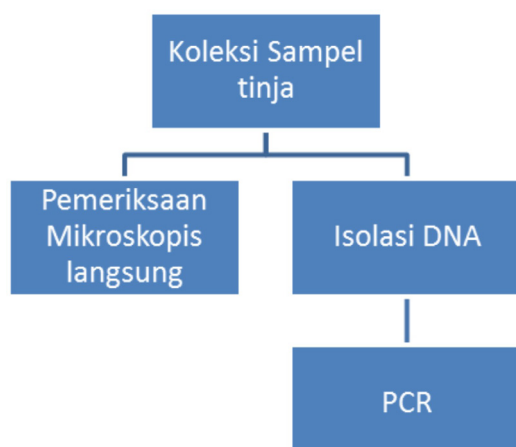
Penggunaan metode diagnosis yang tidak efektif untuk mengevaluasi efektivitas pengobatan juga harus dipertanyakan. Sampai saat ini hanya satu penelitian yang menggunakan metode XIVC dan PCR untuk melihat efektivitas pengobatan.^{3,5} Penelitian ini akan menggunakan metode PCR dan mikroskopis langsung untuk mendeteksi DNA dari *B. hominis*.

METODE

Penelitian ini telah lolos uji etik dari komite etik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, No. 112/KEP/FK/ 2011. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental. Sampel penelitian ini adalah semua feses yang diperiksa di laboratorium Patologi Klinik RS. Dr. M. Djamil Padang selama kurun waktu satu bulan (bulan Mei), tahun 2012.

Sampel tinja yang didapat sebagian diperiksa dengan mikroskopis dan sebagian lagi dimasukkan dalam container tinja, ditutup dan pada bagian tutup tabung tersebut dilapisi parafilm. Setiap tabung diberi nomor dan dicatat nama, umur, jenis kelamin dan gejala klinis. Kemudian disimpan pada suhu -20°C sampai dilakukan ekstraksi DNA. Ekstraksi DNA dilakukan dengan menggunakan *DNA stool mini kit* [QIAGEN], sesuai dengan protokol pabrik. DNA yang sudah diekstraksi disimpan pada suhu -20°C , sampai dilakukan pemeriksaan selanjutnya.

Amplifikasi dan deteksi materi genetik *Blastocystis* menggunakan metode PCR mengacu pada penelitian yang dilakukan Scicluna dkk. (2006).¹⁵ Amplifikasi PCR dilakukan dengan menggunakan primer BhrDr (GAGCTTTTAACTGCA-ACAACG) dan RD5 (ATCTGGTTGATC-CTGCCAGT) Clark 1997. Reaksi dilakukan dengan denaturasi awal pada suhu 95°C selama 5 menit, diikuti dengan 30 siklus dari denaturasi 94°C selama 1 menit, annealing pada 59°C selama 1 menit, dan elongasi pada 72°C selama 1 menit, serta elongasi tambahan selama 2 menit. Produk PCR kemudian dibaca dengan elektroforesis.



Gambar 1. Sistematika Penelitian

HASIL DAN PEMBAHASAN

Selama satu bulan pengumpulan, didapatkan sampel feses dari laboratorium Patologi Klinik RS. Dr. M. Djamil Padang sebanyak 61 pot. Sampel yang didapatkan lebih banyak pasien laki-laki dan pada kelompok umur 0-12 tahun. Semua sampel tinja yang didapatkan dilakukan pemeriksaan mikroskopis dan PCR untuk mendeteksi adanya *Blastocystis*. Karakteristik sampel dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Distribusi Subjek Penelitian Berdasarkan Umur dan Jenis Kelamin

Karakteristik	Jumlah	%
Jenis Kelamin		
Laki-laki	39	63,9
Perempuan	22	36,1
Umur (tahun)		
0-12	19	31,1
13-24	6	9,8
25-36	9	14,8
37-48	9	14,8
49-60	10	16,4
>60	8	13,1
Total	61	100

Mikroskopis mengidentifikasi keberadaan *Blastocystis hominis* 21,3% dari 61 sampel yang diperiksa, seperti terlihat pada tabel 2.

Tabel 2. Distribusi Infeksi *B.hominis* pada Sampel Feses dengan Pemeriksaan Mikroskopis

<i>B.hominis</i>	Jumlah	%
Positif	13	21,3
Negatif	48	78,7
Total	61	100

Angka yang didapatkan pada penelitian ini lebih kecil dibandingkan hasil penelitian

Pegelow dkk. (1997)¹⁶ yang mendapatkan angka kejadian *Blastocystis* pada anak-anak sekolah dasar di Sukaraja Jawa Barat sebesar 60%. Angka kejadian *Blastocystis* pada anak-anak di Malaysia dilaporkan oleh Ishak dkk (2008)¹⁷ sebesar 43,5%.

Malheiros (2011)¹⁸ juga melaporkan angka kejadian *Blastocystis* di Brazil sebesar 21%. Kepustakaan juga disebutkan bahwa prevalensi *Blastocystis* lebih tinggi pada negara-negara berkembang, dengan prevalensi berkisar antara 30-50%. Angka infeksi *B. hominis* yang didapatkan dengan pemeriksaan mikroskopis pada penelitian ini sedikit lebih rendah dibandingkan angka yang didapatkan dari penelitian di beberapa negara berkembang lainnya. Hal ini terjadi mungkin karena sampel yang digunakan pada penelitian ini agak berbeda dengan penelitian lain. Pada penelitian ini sampel dikumpulkan dari semua kelompok usia, sedangkan penelitian lain umumnya dilakukan pada kelompok anak-anak. Namun, angka kejadian infeksi yang didapatkan pada penelitian ini lebih tinggi jika dibandingkan dengan hasil penelitian Yaicharoen dkk. (2006).¹⁹ yang mendapatkan prevalensi *Blastocystis* sebesar 13,51% di negara Thailand. Angka kejadian *Blastocystis* masih tinggi ditemukan, hal ini menunjukkan bahwa sebagian besar masyarakat masih terpapar dengan faktor-faktor resiko infeksi *Blastocystis*, seperti *hygiene* dan sanitasi yang masih rendah serta kemiskinan.

Hasil PCR mengidentifikasi keberadaan *B. hominis* pada 32,8% dari 61 sampel yang diperiksa, seperti terlihat pada tabel 3.

Tabel 3. Distribusi Infeksi *Blastocystis Hominis* pada Sampel Feses dengan PCR

<i>B. hominis</i>	Jumlah	%
Positif	20	32,8
Negatif	41	67,2
Total	61	100

Hasil ini memperlihatkan bahwa kemampuan identifikasi PCR lebih baik dari kemampuan identifikasi pemeriksaan mikroskopis terhadap infeksi *Blastocystis*.

Pemeriksaan PCR merupakan pemeriksaan molekuler untuk mendeteksi gen *Blastocystis*.

Dengan menggunakan PCR dilakukan amplifikasi DNA secara invitro, sehingga hasil yang didapatkan lebih sensitif. Sementara pemeriksaan mikroskopis langsung memiliki banyak keterbatasan. Hal ini antara lain disebabkan oleh morfologi *Blastocystis* yang tidak khas. Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya bahwa paling tidak terdapat empat macam morfologi dari *Blastocystis*, dan penyebarannya di feses masih belum jelas. Bentuk kista dari *Blastocystis* ini sangat sukar diidentifikasi, sehingga luput dari pemeriksaan mikroskopis secara langsung.

Distribusi frekuensi sampel penderita *Blastocystis* yang diidentifikasi dengan PCR dapat dilihat pada table 4. Dimana penderita *Blastocystis* lebih banyak berjenis kelamin laki-laki (85%) dan pada kelompok umur 25-36 tahun (30%). Hasil yang didapatkan ini berbeda dengan peneliti lain yang mendapatkan bahwa *Blastocystis* lebih sering ditemui pada anak-anak, dan tidak ada kecenderungan jenis kelamin. Li dkk. (2007)²⁰ melaporkan kejadian *Blastocystis* lebih banyak ditemukan pada perempuan sebesar 36,9% dan pada kelompok umur 10-17 tahun (39,5%). Laporan Malheiros dkk. (2011)¹⁸ menyebutkan *Blastocystis* lebih banyak ditemukan pada laki-laki dan pada umur < 15 tahun.

Tabel 4. Distribusi Frekuensi Penderita *Blastocystis* Berdasarkan Umur dan Jenis Kelamin dengan Pemeriksaan PCR

	Jumlah	%
Jenis Kelamin		
Laki-laki	17	85
Perempuan	3	15
Umur		
0-12 tahun	2	10
13-24 tahun	2	10
25-36 tahun	6	30
37-48 tahun	3	15
49-60 tahun	5	25
>60 tahun	2	10

SIMPULAN

Angka kejadian Blastocystis di laboratorium Patologi Klinik RS. Dr. M. Djamil Padang pada bulan Mei 2012 cukup tinggi. Infeksi Blastocystis lebih banyak ditemukan

pada jenis kelamin laki-laki dan pada kelompok umur 25-36 tahun. Pemeriksaan PCR dapat mendeteksi Blastocystis lebih sensitif dibandingkan dengan pemeriksaan mikroskopis langsung.

DAFTAR RUJUKAN

1. Tan KSW. New insights on classification, identification, and clinical relevance of *Blastocystis* spp. Clin Microbiol Rev 2008;21(4):639-65.
2. Kurniawan A, Karyadib T, Dwintaria SW et al. Intestinal parasitic infections in HIV/AIDS patients presenting with diarrhoea in Jakarta, Indonesia. Trans R Soc Trop Med Hyg 2009;103(9):892-8.
3. Stensvold CR, Nielsen HV, Molbak K, Smith HV. Pursuing the clinical significance of Blastocystis-diagnostic limitations. Trends Parasitol 2008;25(1):23-9.
4. Stenzel DJ, and Boreham PF. *Blastocystis hominis* revisited. Clin Microbiol Rev 1996;9(4):563-84.
5. Nigro L, Larocca L, Massarelli L, et al. A placebo-controlled treatment trial of *Blastocystis hominis* infection with metronidazole. J Travel Med 2003;10(2):128-30.
6. Shlim DR, Hoge CW, Rajah R, Rabold JG, Echeverria P. Is Blastocystis hominis a cause of diarrhea in travelers? A prospective controlled study in Nepal. Clin Infect Dis 1995;21(1):97-101.
7. Leder K, Hellard ME, Sinclair MI, Fairley CK, Wolfe R. No correlation between clinical symptoms and *B. hominis* in immunocompetent individuals. J Gastroenterol Hepatol 2005; 20(9):1390-4.
8. Doyle PW, Helgason MM, Mathias RG, Proctor EM. Epidemiology and pathogenicity of *Blastocystis hominis*. J Clin Microbiol 1990;28(1):116-21
9. Kaneda Y, Horiki N, Cheng XJ, Fujita Y, Maruyama M, Tachibana H. Ribodemes of *Blastocystis hominis* isolated in Japan. Am J Trop Med Hyg 2001;65:393-6
10. Yan Y, Su S, Lai R, et al. Genetic variability of *Blastocystis hominis* isolates in China. Parasitol Res 2006; 99:597-601.
11. Hussein EM, Hussein AM, Eida MM, Atwa MM. Pathophysiological variability of different genotypes of human *Blastocystis hominis* Egyptian isolates in experimentally infected rats. Parasitol Res 2008; 102:853-60.
12. Tan TC, Suresh KG, Smith HV. Phenotypic and genotypic characterisation of *Blastocystis hominis* isolates implicates subtype 3 as a subtype with pathogenic potential. Parasitol Res 2008;104(1):85-93.
13. Jones MS, Ganac RD, Hiser G, Hudson NR, Le A, Whipps CM. Detection of *Blastocystis* from stool samples using real-time PCR. Parasitol Res 2008;103(3):551-7.
14. Jones MS, Whipps CM, Ganac RD, Hudson NR, Boroom K. Association of *Blastocystis* subtype 3 and 1 with patients from an Oregon community presenting with chronic gastrointestinal illness. Parasitol Res 2009;104(2):341-5.
15. Poirier P, Wawrzyniak I, Albert A, Alaoui HE, Delbac F, Livrelli V. Development and Evaluation of a Real-Time PCR Assay for Detection and Quantification of *Blastocystis* Parasites in Human Stool Samples: Prospective Study of Patients with Hematological Malignancies. J Clin Microbiol 2011;49(3):975-83.
16. Pegelow K, Gross R, Pietrzik K, Lukito W, Richards AL, Fryauff DJ. Parasitological and nutritional situation of school children in the Sukaraja district, West Java, Indonesia. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1997;28(1):173-90.
17. Ishak SA, Othman H, Sahani M. A Preliminary Study Of *Blastocystis Hominis* In Some Development Areas In Alor Gajah District Melaka (Kajian Awal Ke Atas Blastocystis Hominis Di Beberapa Kawasan Sedang Membangun Di Alor Gajah, Melaka). J Sains Kesihatan Malaysia 2008;6(1):109-115

18. Malheiros AF, Stensvold CR, Clark CG, Braga GB, Shaw JJ. Short Report: Molecular Characterization of *Blastocystis* Obtained from Members of the Indigenous Tapirapé Ethnic Group from the Brazilian Amazon Region, Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 2011;85(6): 1050-3.
19. Yaicharoen R, Ngrenngarmert W, Wongjindanon N, Sripochang S, Kiatfuengfoo R. Infection of *Blastocystis hominis* in primary school children from Nakhon Pathom province, Thailand. *Trop Biomed* 2006;23(1):117-22.
20. Li LH, Zhou XN, Du ZW, et al. Molecular epidemiology of human *Blastocystis* in a village in Yunnan province, China. *Parasitol Int* 2007;56(4):281-6.