

PARASITOLOGI II

Diagnosis Laboratorium Penyakit Infeksi: **CILIATA**

Program Studi D3 Teknologi Laboratorium Medik

STIKES Prima Indonesia

Mata Kuliah: Parasitologi II | Bahan Kajian: Ciliata Patogen

Sub Capaian Pembelajaran Mata Kuliah (Sub CPMK)

Setelah mengikuti perkuliahan ini, mahasiswa mampu:

1. Memahami dan menjelaskan pengertian serta klasifikasi Ciliata patogen pada manusia.
2. Mendeskripsikan morfologi, siklus hidup, dan patogenesis *Balantidium coli* secara akurat.
3. Menyiapkan spesimen feses yang tepat untuk pemeriksaan Ciliata sesuai SOP laboratorium.
4. Melakukan pemeriksaan langsung feses (salin & lugol) dan teknik konsentrasi secara benar.
5. Mengidentifikasi bentuk trofozoit dan kista *Balantidium coli* melalui pemeriksaan mikroskopis.
6. Menginterpretasikan dan melaporkan hasil pemeriksaan Ciliata sesuai standar laboratorium klinik.
7. Menerapkan keselamatan kerja (K3) dan prinsip biosafety di setiap tahap pemeriksaan.

Referensi: Gandahusada et al. (2023); Garcia LS (2021); WHO (2022) Bench Aids Intestinal Parasites; Markell & Voge (2019)

Peta Materi – Diagnosis Laboratorium Ciliata

01

Pengertian & Klasifikasi
Ciliata

02

Balantidium coli – Morfologi
& Siklus Hidup

03

Patogenesis & Gambaran
Klinis

04

Epidemiologi & Faktor Risiko

05

Spesimen Feses –
Pengambilan & Penanganan

06

Metode Diagnosis –
Pemeriksaan Langsung

07

Teknik Konsentrasi
Sederhana

08

Identifikasi Morfologi
Trofozoit & Kista

09

Interpretasi Hasil &
Pelaporan

10

K3 & Standar Laboratorium

01

Pengertian & Klasifikasi Ciliata

Taksonomi, karakteristik umum, dan posisi Ciliata dalam kingdom Protozoa

Pengertian Ciliata (Ciliophora)

Ciliata adalah kelas protozoa eukariotik yang seluruh atau sebagian permukaan tubuhnya ditumbuhi silia — organel gerak berbentuk rambut halus yang bergetar secara sinkron untuk lokomotor dan mengumpulkan makanan.

Karakteristik Umum

- Bergerak dengan silia (bukan flagela/pseudopodia)
- Dua inti: makronukleus + mikronukleus
- Reproduksi aseksual: binary fission
- Reproduksi seksual: konjugasi
- Terbesar di antara protozoa patogen manusia

Taksonomi Formal

- Domain: Eukaryota
- Filum: Ciliophora (Doflein, 1901)
- Kelas: Litostomatea
- Ordo: Vestibuliferida
- Famili: Balantidiidae
- Genus/Spesies: Balantidium coli

Analogi Mudah

- Bayangkan silia seperti dayung kecil ribuan jumlahnya
- Bergerak sinkron seperti gelombang laut
- Memungkinkan gerak maju-mundur-berputar
- Juga berfungsi menggiring makanan ke mulut sel (sitostom)
- Lebih efisien dari pseudopodia Amoeba

Posisi Ciliata dalam Klasifikasi Protozoa Patogen

Rhizopoda (Sarcodina)

Alat gerak: Pseudopodia

Entamoeba histolytica

Mastigophora (Flagellata)

Alat gerak: Flagela

Giardia lamblia, Trypanosoma spp.

CILIOPHORA (Ciliata)

Alat gerak: SILIA ← KITA

Balantidium coli (satu-satunya patogen manusia)

Apicomplexa (Sporozoa)

Alat gerak: Tidak motil saat dewasa

Plasmodium, Toxoplasma

02

Balantidium coli – Morfologi & Siklus Hidup

Satu-satunya Ciliata patogen manusia yang penting secara klinis

Morfologi Trofozoit *Balantidium coli*

Panjang Trofozoit

50 – 200 μm

Lebar Trofozoit

30 – 100 μm

Terbesar Protozoa

Patogen Manusia

Ciri Morfologi Trofozoit

Bentuk & Ukuran

Oval-piriform, bagian anterior lebih sempit; terbesar di antara protozoa patogen manusia

Silia

Menutupi seluruh permukaan tubuh dalam baris longitudinal; bergetar sinkron memberi gerak spiral

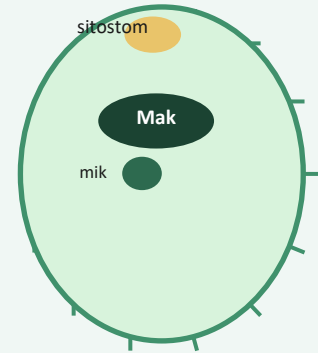
Inti Sel

Makronukleus: besar, berbentuk ginjal/sosis, dominan fungsi metabolik

Mikronukleus: kecil, bulat, berdekatan makronukleus; fungsi reproduksi seksual

Organel Khusus

Sitostom (mulut sel) di ujung anterior; sitopige (anus sel) di ujung posterior; vakuola kontraktil 2 buah



*Diagram Skematik
Trofozoit B. coli*



Morfologi Kista *Balantidium coli*

Ukuran Kista

45 – 65 μm

Bentuk

Sferik / Oval

Stadium

Infektif (Kista)

Ciri Morfologi Kista

Dinding Kista

Dinding ganda (hialin), tebal & refraktil; berperan penting dalam resistensi terhadap lingkungan luar

Isi Kista

Terlihat makronukleus berbentuk ginjal; silia residual masih tampak di bawah dinding; vakuola kontraktile dapat terlihat

Ketahanan

Bertahan hingga beberapa minggu di lingkungan lembab
Resisten terhadap klorinasi air biasa (2–3 ppm)
Mati pada suhu $>50^{\circ}\text{C}$ atau $\text{pH} < 5$

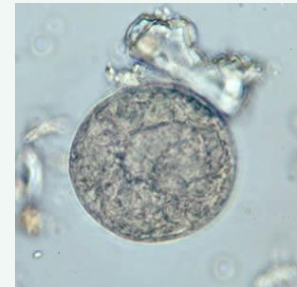
Stadium vs Trofozoit

Kista = stadium penularan (tidak aktif)

Trofozoit = stadium aktif (patogen di jaringan)

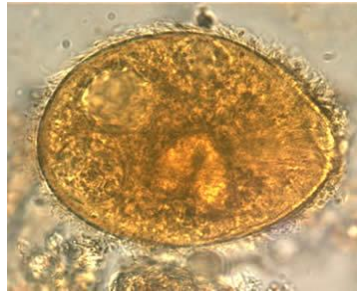


*Diagram Skematik
Kista B. coli*

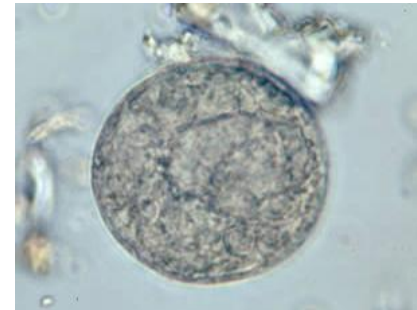


Morfologi Kista *Balantidium coli*

Perbandingan Trofozoit vs Kista		
Karakter	Trofozoit	Kista
Ukuran	50–200 μm	45–65 μm
Bentuk	Oval-piriform, dinamis	Sferik, rigid
Silia	Aktif, seluruh permukaan	Residual, tidak aktif
Stadium	Aktif patogen di jaringan	Infektif, tahan lingkungan



Trofozoit *B. coli* dalam preparat basah, perbesaran 1000×



Kista *B. coli* dalam preparat basah, tanpa pewarnaan.

Siklus Hidup Balantidium coli

1 Kista Infektif (Lingkungan)

Bertahan di tanah/air terkontaminasi feses babi atau manusia

2 Tertelan Manusia/Babi

Via air minum, makanan mentah, atau tangan terkontaminasi

3 Ekskistasi di Usus Besar

pH & suhu usus mengaktifkan kista → trofozoit aktif

4 Trofozoit Aktif di Kolon

Berkembang biak by binary fission; invasi dinding mukosa kolon

5 Enkistasi (sebagian)

Trofozoit → kista kembali saat kondisi kurang menguntungkan

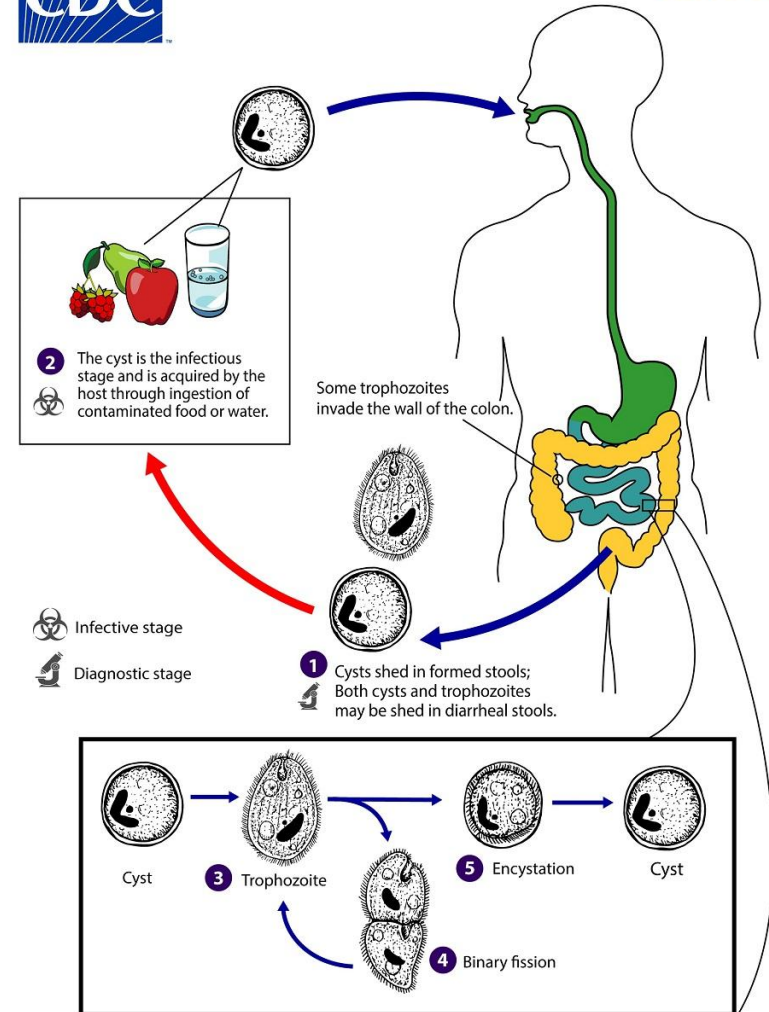
6 Ekskresi via Feses

Kista & trofozoit keluar bersama feses; infeksi berlanjut

Catatan: Babi adalah reservoir utama (sumber infeksi zoonosis). Manusia infeksi ke manusia lain juga mungkin melalui feses.



Balantidium coli



03

Patogenesis & Gambaran Klinis Balantidiasis

Mekanisme infeksi, kerusakan jaringan, dan presentasi klinik

Patogenesis Balantidiasis

1

TAHAP 1: Invasi

Trofozoit menembus lapisan mukosa kolon menggunakan enzim hialuronidase & sitoprotease. Gerakan silia membantu penetrasi mekanik ke dalam jaringan.

2

TAHAP 2: Ulserasi

Terbentuk ulkus berbentuk labu (flask-shaped ulcer) — mirip amoebiasis. Tepi ulkus tidak rata, dasar nekrotik, dikelilingi infiltrasi sel radang (PMN, makrofag).

3

TAHAP 3: Penyebaran Lokal

Infeksi menyebar di submukosa → kolon sigmoid & rektum paling sering terkena. Dapat melibatkan seluruh kolon pada kasus berat.

4

TAHAP 4: Komplikasi

Perforasi usus (jarang, namun fatal) → peritonitis. Fistula. Invasi ke organ lain sangat jarang (paru, ginjal, limfosit) pada imunosupresi.

Gambaran Klinis Balantidiasis

Asimtomatik / Carrier

- Terjadi pada mayoritas kasus ($\pm 80\%$)
- Kista atau trofozoit ditemukan di feses tanpa keluhan
- Berpotensi menularkan ke orang lain
- Lebih sering pada individu imunokompeten dengan gizi baik
- Penting sebagai sumber penularan komunitas

Balantidiasis Akut

- Diare cair mendadak, frekuensi 8–15×/hari
- Disentri: diare berdarah dan berlendir
- Kram perut kolik, tenesmus (rasa ingin BAB terus)
- Mual, muntah, anoreksia
- Demam ringan-sedang (tidak selalu ada)

Balantidiasis Kronik

- Diare intermiten, bergantian dengan konstipasi
- Penurunan berat badan progresif
- Nyeri perut berulang
- Anemia (perdarahan kronis mukosa)
- Dapat berlanjut bertahun-tahun

Gambaran Klinis Balantidiasis

Faktor yang Memperburuk Prognosis		
Faktor Risiko	Mekanisme Perburukan	Kelompok Rentan
Malnutrisi / defisiensi protein	Melemahkan barier mukosa usus dan respons imun seluler	Anak usia 1–5 tahun di daerah endemik
Imunosupresi (HIV, kortikosteroid)	Trofozoit tidak dapat dibersihkan oleh imun → invasi masif	Pasien HIV/AIDS, transplantasi organ
Higiene personal buruk	Mempermudah transmisi fekal-oral dari reservoir	Masyarakat tanpa akses sanitasi layak

04

Epidemiologi & Faktor Risiko Balantidiasis

Distribusi global, reservoir, transmisi, dan kelompok rentan

Epidemiologi Balantidiasis

Prevalensi Global

< 1% populasi

Inang Utama (Reservoir)

Babi (*Sus scrofa*)

Prevalensi Babi

60–90% terinfeksi

Daerah Endemik

Asia Tenggara, Amerika Latin, PNG

Distribusi Geografis

- Endemik di daerah tropis & subtropis
- Indonesia: Sulawesi, Papua, NTT (daerah pemelihara babi)
- Papua Nugini: prevalensi tertinggi di dunia (>20%)
- Amerika Latin: Bolivia, Peru (komunitas rural)
- Sangat jarang di negara maju (sporadis)

Rute Transmisi

- Fekal-oral: air/makanan terkontaminasi feses babi
- Kontak langsung dengan hewan babi
- Irigasi pertanian dengan air tercemar
- Sanitasi buruk & kebiasaan higiene tangan
- Manusia ke manusia (jarang, melalui carrier)

Kelompok Risiko Tinggi

- Peternak & pekerja di peternakan babi
- Petani yang menggunakan pupuk kandang babi
- Anak-anak di lingkungan sanitasi buruk
- Pasien malnutrisi / imunodefisiensi
- Penghuni institusi (panti, lapas) padat
- Wisatawan ke daerah endemik

05

Spesimen Pemeriksaan Ciliata

Pengambilan, penanganan, dan pengiriman spesimen feses yang benar

Spesimen Feses – Indikasi, Wadah & Volume

Indikasi klinis pemeriksaan feses: diare kronik/disentri > 2 minggu, nyeri perut berulang, pasien dari daerah endemik babi, immunosupresi dengan gejala GI, skrining pekerja peternakan babi, atau investigasi KLB.

Wadah & Labeling

- Pot bermulut lebar (5–6 cm diameter)
- Tutup berulir — anti-bocor
- Material: plastik polipropilen steril
- Label: nama, No. RM, tanggal & jam pengambilan
- Jangan gunakan wadah bekas makanan
- Satu wadah per satu waktu pengambilan

Volume & Konsistensi

- Feses padat: minimal 5–10 g (sebesar walnut)
- Feses cair: minimal 5–10 mL
- Feses cair → SEGERA periksa ≤ 30 menit (trofozoit mudah mati)
- Feses padat → simpan di kulkas ($2-8^{\circ}\text{C}$) ≤ 24 jam
- Jangan biarkan di suhu ruang > 1 jam

Yang Harus Dihindari

- Jangan kontaminasi dengan urin
- Jangan ambil dari air toilet (encerkan hasil)
- Jangan gunakan laksatif 2 minggu sebelumnya
- Jangan konsumsi barium/bismut 1 minggu sebelumnya
- Jangan antibiotik aktif (memengaruhi organisme)
- Hindari wadah plastik tipis yang bisa bocor

Prinsip: Pengambilan feses 3 kali pada hari berbeda (serial stool exam) meningkatkan sensitivitas deteksi trofozoit & kista secara bermakna (Garcia LS, 2021).

Fiksasi Spesimen & Pengiriman ke Laboratorium

Fiksatif	Rasio Feses : Fiksatif	Kelebihan	Kekurangan	Pemeriksaan yang Sesuai
Formalin 10%	1 : 3	Mudah didapat, murah, pertahankan kista	Trofozoit rusak, tidak untuk kultur	Konsentrasi, pemeriksaan langsung
PVA (Polyvinyl Alcohol)	1 : 3	Pertahankan morfologi trofozoit & kista	Mengandung merkuri klorida (toksik)	Pewarnaan trichrome / iron hematoxylin
SAF (Sodium Acetate-Acetic Acid-Formalin)	1 : 3	Non-toksik, serbaguna	Sedikit lebih mahal	Konsentrasi + pewarnaan
MIF (Merthiolate-Iodine-Formalin)	1 : 3	Memberikan warna langsung (iodine)	Kurang awet untuk penyimpanan lama	Pemeriksaan langsung segera

SOP Pengiriman Spesimen

- Masukkan pot ke dalam zip-lock bag tertutup rapat
- Beri label besar di bagian luar zip-lock (nama, tanggal, jam)
- Kirim dalam coolbox berisi ice pack (jaga 4–8°C)
- Sertakan formulir permintaan pemeriksaan yang lengkap
- Waktu transit: maksimal 4 jam tanpa fiksasi

Penerimaan di Lab & Reject Criteria

- Periksa keutuhan tutup dan label sebelum menerima
- Tolak: wadah bocor, label tidak lengkap, transit > 4 jam tanpa fiksasi
- Tolak: terkontaminasi urin atau air (bau menyengat, sangat encer)
- Catat kondisi spesimen (warna, konsistensi, bau) di buku penerimaan

Fiksasi Spesimen & Pengiriman ke Laboratorium

FIKSASI SPESIMEN FESES DENGAN FORMALIN 10% & PENGIRIMAN KE LABORATORIUM

A. FIKSASI SPESIMEN FESES DENGAN FORMALIN 10%

1

Ambil sampel fekes segar $\pm 1-2$ gram (sebesar kacang) masukkan ke dalam pot sampel steril.

2

Tambahkan Formalin 10% dengan perbandingan 1 bagian fekes : 3 bagian formalin.
Contoh: 2 gram fekes + 6 mL formalin.

3

Aduk perlahan sampai tercampur merata.

4

Tutup rapat agar tidak bocor.

5

Beri label identitas pasien: nama, No. RM, tanggal dan jam pengambilan, jenis spesimen.

6

Simpan sementara di suhu $2-8^{\circ}\text{C}$ (lemari pendingin) jika belum dikirim.

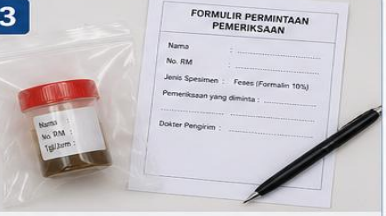
B. PENGIRIMAN KE LABORATORIUM

1

Masukkan wadah sampel ke dalam plastik biohazard / plastik ziplock.

2

Gunakan kemasan berlapis agar aman dari kebocoran.

3

Sertakan formulir permintaan pemeriksaan.

4

Kirim ke laboratorium secepatnya dengan petugas / jasa pengiriman.

PERHATIAN

- Jangan mengisi wadah terlalu penuh.
- Gunakan APD (sarung tangan, masker) saat menangani formalin.
- Formalin cocok untuk pemeriksaan parasitologi, tidak cocok untuk kultur bakteri.

Fiksasi Spesimen & Pengiriman ke Laboratorium

PENYIAPAN LARUTAN PVA (POLYVINYL ALCOHOL)

PVA digunakan sebagai bahan pembentuk gel, penstabil, dan pengental dalam berbagai aplikasi laboratorium.

CARA PEMBUATAN LARUTAN PVA

1



Siapkan bahan

Timbang PVA sesuai konsentrasi yang diinginkan.

Contoh: 10 g PVA untuk larutan 10% (b/v) 100 mL.

2



Siapkan pelarut

Siapkan akuades/air suling sesuai volume yang dibutuhkan.

Contoh: 100 mL akuades.

3



Penambahan bertahap

Taburkan PVA sedikit demi sedikit ke dalam akuades sambil diaduk perlahan menggunakan magnetic stirrer.

Hindari penambahan sekaligus agar tidak menggumpal.

4



Pemanasan

Panaskan larutan pada suhu 80–90°C sambil terus diaduk hingga PVA benar-benar larut (larutan menjadi jernih dan homogen).

Jangan sampai mendidih.

5



Pendinginan

Biarkan larutan mendingin hingga suhu ruang sambil tetap diaduk sesekali untuk menjaga homogenitas.

6



Penyimpanan

Simpan larutan dalam botol bersih dan tertutup rapat.

Simpan pada suhu ruang atau 2–8°C.

Beri label: konsentrasi, tanggal pembuatan, dan inisial pembuat.

CATATAN PENTING



Suhu pelarutan optimal 80–90°C



Aduk terus menerus selama pemanasan



Proses pelarutan memerlukan waktu 30–60 menit tergantung konsentrasi



Gunakan PVA dengan berat molekul yang sesuai kebutuhan aplikasi



Larutan PVA bersifat viskos. Pastikan benar-benar larut sebelum digunakan



Gunakan APD (sarung tangan, kacamata, jas laboratorium)

CONTOH KONSENTRASI PVA

Konsentrasi (% b/v)	PVA (g)	Akuades (mL) Sampai
5%	5 g	100 mL
10%	10 g	100 mL
15%	15 g	100 mL

TIPS

- ✓ Pelarutan PVA membutuhkan panas dan waktu.
- ✓ Larutan yang telah jadi akan mengental saat mendingin.
- ✓ Jika ingin larutan lebih encer, panaskan kembali dengan pengadukan.
- ✓ Larutan PVA stabil dan dapat digunakan untuk pembuatan gel, film, membran, atau sebagai matriks penyangga.

APLIKASI PVA

- Pembuatan gel
- Elektroforesis
- Film dan membran
- Penstabil emulsi
- Matriks jaringan / scaffold
- Bahan pendukung dalam kultur sel

SAF (SODIUM ACETATE-ACETIC ACID-FORMALIN)

Larutan fiksatif untuk pemeriksaan parasitologi feses

Digunakan untuk preservasi kista protozoa dan telur cacing agar tidak rusak selama penyimpanan dan pengiriman.

KOMPOSISI SAF (Per 100 mL)

Bahan	Jumlah
Aquades	95 mL (ditambah hingga 100 mL)
Sodium acetate trihydrate	3,0 g
Asam asetat glasial	1,0 mL
Formalin 37-40%	2,0 mL

CARA PEMBUATAN SAF

1



Siapkan aquades

Ukur 95 mL aquades.

2



Tambahkan Sodium Acetate Trihydrate

Tambahkan 3,0 g sodium acetate trihydrate, aduk hingga larut.

3



Tambahkan Asam Asetat Glasial

Tambahkan 1,0 mL asam asetat glasial, aduk rata.

4



Tambahkan Formalin

Tambahkan 2,0 mL formalin 37-40% (formalin pekat), aduk rata.

5



Tera hingga 100 mL

Tambahkan aquades hingga volume tepat 100 mL, aduk rata.

6



Simpan larutan SAF

Simpan dalam botol bersih dan beri label.

FIKSASI SPESIMEN FESES DENGAN SAF

1



Ambil feses

Ambil feses segar $\pm$ 1-2 g (sebesar kacang).

2



Tambahkan SAF

Masukkan ke pot sampel, tambahkan SAF dengan perbandingan 1 bagian feses : 3 bagian SAF.

3



Aduk & tutup

Aduk hingga tercampur rata, tutup rapat.

4



Label

Beri label identitas pasien, tanggal dan jenis spesimen.

PENYIMPANAN & PENGIRIMAN



Simpan pada suhu ruang sejuk.



Masukkan wadah ke plastik biohazard, tutup rapat.



Sertakan formulir permintaan pemeriksaan.



Kirim ke laboratorium secepat mungkin.

CATATAN PENTING

- SAF mempertahankan morfologi kista dan telur dengan baik.
- Gunakan APD saat menangani formalin.
- Larutan SAF dapat disimpan hingga 6 bulan.

PERBANDINGAN DENGAN AIR BIASA

SAF lebih baik daripada air biasa karena mencegah kerusakan bentuk kista/telur dan menghambat pertumbuhan bakteri.



06

Metode Diagnosis – Pemeriksaan Langsung Feses

Teknik salin dan lugol untuk deteksi trofozoit & kista Ciliata

Pemeriksaan Langsung – Larutan Salin (NaCl 0,9%)

Tujuan: Mendeteksi TROFOZOIT hidup dan bergerak. Salin fisiologis mempertahankan motilitas organisme sehingga dapat diidentifikasi berdasarkan gerakan silia khas *B. coli*.

1

Persiapan Alat & Bahan

Kaca objek bersih (76×26 mm)
Kaca penutup 22×22 mm
Larutan NaCl 0,9% (salin fisiologis)
Aplikator kayu/tusuk gigi
Mikroskop optik
APD: sarung tangan, masker

2

Pembuatan Preparat

Teteskan 1–2 tetes salin di tengah kaca objek
Ambil sejumlah kecil feses (± 2 mg) dengan aplikator
Emulsikan merata di dalam salin
Tutup dengan kaca penutup (hindari gelembung)
Preparat siap diperiksa

3

Pemeriksaan Mikroskopik

Mulai dengan perbesaran 10× (scan seluruh area)
Identifikasi dengan 40× untuk konfirmasi
Perhatikan GERAK ROTASI SPIRAL khas *B. coli*
Periksa minimal 3–5 lapang pandang per kuadran
Hasil positif: catat lokasi & gambarkan

4

Interpretasi

Trofozoit *B. coli*: sangat besar (50–200 μm), bergerak spiral aktif, silia terlihat bergetar
Kista: bulat, dinding tebal refraktil, 45–65 μm
Catat: ditemukan / tidak ditemukan, stadium, dan jumlah per LPB

Pemeriksaan Langsung – Larutan Lugol (Iodin)

Tujuan: Mendeteksi KISTA dan memperjelas detail nukleus. Iodin mewarnai glikogen kuning-coklat dan nukleus coklat tua, sehingga struktur internal kista terlihat jelas. Trofozoit menjadi tidak motil tetapi tetap terlihat.

Komposisi Larutan Lugol (D'Antoni)

- Kalium iodida (KI): 1,0 g
- Iodin kristal (I_2): 1,5 g
- Air suling: sampai 100 mL
- Simpan dalam botol coklat gelap (cahaya merusak iodin)
- Masa pakai: 2–3 bulan pada suhu ruang gelap

Prosedur

- Teteskan 1–2 tetes lugol di kaca objek
- Ambil sejumlah kecil feses (± 2 mg)
- Emulsikan merata dalam tetes lugol
- Tutup dengan kaca penutup
- Periksa dalam 10–15 menit (warna memudar jika terlalu lama)

Interpretasi Warna

- Nukleus: coklat tua (inti terlihat jelas)
- Glikogen (jika ada): kuning emas
- Sitoplasma: coklat muda hingga kehijauan
- Kista *B. coli*: dinding tebal, isi berwarna coklat
- Makronukleus ginjal: terlihat sangat jelas

Pemeriksaan Langsung – Larutan Lugol (Iodin)

Aspek	Salin (NaCl 0,9%)	Lugol (Iodin)
Target utama	Trofozoit hidup & motil	Kista (nukleus & glikogen)
Feses terbaik	Feses cair/segar (< 30 menit)	Feses padat / setengah padat
Efek pada trofozoit	Motil, dapat diidentifikasi	Mati, tidak bergerak
Kejelasan struktur	Kurang kontras tanpa pewarnaan	Nukleus sangat jelas
Standar praktik	SELALU lakukan bersama Lugol	Selalu bersama Salin

PEMERIKSAAN PARASITOLOGI FESES

METODE LANGSUNG DAN LARUTAN LUGOL (IODIN)

Pemeriksaan mikroskopis feses untuk menemukan kista protozoa, telur cacing, larva, atau bentuk parasit lainnya dengan metode langsung (tanpa pewarna) dan metode dengan larutan Lugol (Iodin).

A. METODE LANGSUNG

1 Siapkan alat dan bahan 	2 Ambil spesimen 	3 Emulsikan 	4 Tutup dengan kaca penutup 	6 Periksa di bawah mikroskop 
• Mikroskop • Kaca objek & kaca penutup • Pipet tetes/ose • NaCl fisiologis 0,9% • Spesimen feses	Ambil sedikit feses (seukuran biji kacang) dengan ose.	Emulsikan dengan 1 tetes NaCl fisiologis 0,9% di atas kaca objek.	Letakkan kaca penutup di atas preparat perlahan agar tidak timbul gelembung udara.	Periksa dengan jumlah parasit yang 10x kemudian 40x (jika diperlukan).

Kelebihan Metode Langsung

- Cepat dan sederhana
- Dapat melihat pergerakan trophozoit (protozoa motil)

B. METODE LARUTAN LUGOL (IODIN)

1 Siapkan alat dan bahan 	2 Ambil spesimen 	3 Emulsikan 	4 Tutup dengan kaca penutup 	5 Tunggu beberapa saat 	6 Periksa di bawah mikroskop 
• Mikroskop • Kaca objek & kaca penutup • Pipet tetes • Larutan Lugol (Iodin) • Spesimen feses	Ambil sedikit feses (seukuran biji kacang) dengan ose.	Emulsikan dengan 1 tetes larutan Lugol di atas kaca objek.	Letakkan kaca penutup di atas preparat perlahan agar tidak timbul gelembung udara.	Biarkan selama 1-2 menit agar pewarnaan optimal.	Periksa dengan pembesaran objektif 10x kemudian 40x (jika diperlukan).

Kelebihan Larutan Lugol (Iodin)

- Mewarnai inti dan struktur dalam kista/telur sehingga lebih jelas
- Memperjelas detail morfologi (dinding kista, inti, kromatoid, kandungan telur)
- Membantu membedakan jenis parasit

HASIL YANG DAPAT DIAMATI

Contoh yang lebih baik terlihat dengan metode langsung



Contoh yang lebih jelas dengan larutan Lugol (Iodin)



CATATAN PENTING

- Gunakan feses segar.
- Periksa segera setelah dibuat preparat.
- Jangan terlalu banyak spesimen.
- Bersihkan alat setelah digunakan.



Gunakan APD saat menangani spesimen feses.

07

Teknik Konsentrasi Sederhana

Sedimentasi formalin-ether dan flotasi untuk meningkatkan sensitivitas deteksi

Teknik Konsentrasi Sedimentasi Formalin-Ether (Ritchie)

Prinsip: Kista lebih berat dari air → mengendap. Formalin memfiksasi organisme; ether melarutkan lemak & debris sehingga kista terkonsentrasi di lapisan endapan paling bawah.

1

Suspensi Feses

Larutkan ± 1 g feses dalam 10 mL salin 0,9%
Saring melalui kasa 2 lapis ke tabung sentrifus 15 mL
Buang residu kasar di kasa

2

Penambahan Formalin

Tambahkan 10 mL formalin 10% ke filtrat
Campur rata dengan vortex/pipet
Diamkan 5 menit (fiksasi sempurna)

3

Penambahan Ether/EtAc

Tambahkan 3–4 mL ether atau ethyl acetate
Tutup tabung, kocok kuat 10 detik (balik 5x)
Longgarkan tutup (tekanan gas!)

4

Sentrifugasi

Sentrifus 500xg selama 10 menit
Akan terbentuk 4 lapisan:
① Ether (atas) ② Debris lemak ③ Formalin ④ Endapan kista

5

Pembuangan Supernatan

Dekantasi 3 lapisan atas (ether + debris + formalin) dengan cepat
Sisakan endapan di dasar tabung
Resuspensi endapan dengan sisa cairan ($\pm 0,1$ mL)

6

Pemeriksaan Endapan

Ambil 1–2 tetes endapan ke kaca objek
Tutup dengan cover glass
Periksa dengan salin dan/atau lugol
Baca di 10x lalu konfirmasi 40x

SEDIMENTASI PEMERIKSAAN PARASITOLOGI FESES METODE FORMALIN-ETHER (RITCHIE)

Metode konsentrasi untuk mendeteksi kista protozoa, telur cacing, dan larva dengan prinsip sedimentasi menggunakan formalin untuk fiksasi dan ether untuk membersihkan debris (lemak, sisa makanan).

A. ALAT DAN BAHAN



B. PRINSIP

Formalin memfiksasi spesimen dan melarutkan komponen feses. Ether melarutkan lemak dan debris. Setelah sentrifugasi, parasit akan mengendap di dasar tabung (sedimen) dan diperiksa di bawah mikroskop.



C. PROSEDUR KERJA

1 Siapkan sampel Ambil feses ± 1–2 g (seukuran biji kacang) masukkan ke dalam tabung sentrifus.	2 Tambahkan formalin Tambahkan formalin 10% hingga volume ± 7–10 mL. Aduk hingga homogen.	3 Saring Saring campuran melalui kasa ke tabung sentrifus lain (untuk menghilangkan sisa makanan kasar).	4 Tambahkan formalin Tambahkan formalin 10% kembali hingga volume ± 7–10 mL.	5 Tambahkan ether Tambahkan ether sebanyak 3–5 mL.	6 Kocok Tutup rapat dan kocok kuat selama 30 detik.	7 Sentrifugasi Sentrifugasi dengan kecepatan ± 500–600 g selama 2–3 menit.	8 Lepas sumbat Lepas sumbat dengan hati-hati. Akan terbentuk 4 lapisan: ether – debris – formalin – sedimen.	9 Ambil sedimen Buang 3 lapisan atas dengan pipet. Ambil sedimen di dasar tabung dan letakkan pada kaca objek, tambah 1 tetes larutan Lugol (iodin), tutup dengan kaca penutup.
--	--	---	---	---	--	---	---	--

D. PEMERIKSAAN MIKROSKOPIS



Periksa preparat di bawah mikroskop mulai dari perbesaran kecil (10x) kemudian besar (40x). Identifikasi kista protozoa, telur cacing, atau larva yang ditemukan.

E. CONTOH HASIL TEMUAN



Kista Entamoeba histolytica/dispar

Kista Giardia lamblia

Telur Ascaris lumbricoides (fertil)

Telur Trichuris trichiura (belum berembrio)

Telur Hookworm (Ancylostoma/Necator)

E. KELEBIHAN

- ✓ Metode konsentrasi dengan sensitivitas tinggi.
- ✓ Dapat digunakan untuk berbagai jenis parasit.
- ✓ Formalin menjaga bentuk parasit.
- ✓ Ether membersihkan debris sehingga preparat lebih jernih.

F. CATATAN PENTING

- Gunakan APD saat bekerja dengan formalin dan ether (mudah menguap dan mudah terbakar).
- Jangan terlalu banyak feses.
- Segera periksa sedimen setelah preparat dibuat.
- Buang ether dan limbah sesuai prosedur keselamatan laboratorium.

Ritchie (Formalin–Ether Concentration) merupakan metode standar untuk pemeriksaan parasitologi feses di laboratorium.

Teknik Konsentrasi Flotasi ZnSO_4 (Faust)

Prinsip: Kista lebih ringan dari larutan ZnSO_4 sp.gr. 1.18 → MENGAPUNG ke permukaan. Berbeda dengan sedimentasi, teknik ini mengambil lapisan atas. Lebih baik untuk kista protozoa kecil (Giardia, Cryptosporidium) dan kista Balantidium.

Bahan & Persiapan

- ZnSO_4 berat jenis 1.18 (33% w/v)
- Tabung sentrifus 15 mL bertutup
- Loop inokulasi atau cover glass 22×22 mm
- Cara ukur bj: gunakan hidrometer atau aerometer
- ZnSO_4 disimpan dalam wadah tertutup – hindari penguapan

Prosedur Flotasi

- Suspensi 1 g feses dalam 10 mL salin → saring
- Sentrifus 500×g 2 menit → buang supernatan
- Resuspensi endapan + 10 mL ZnSO_4 1.18
- Sentrifus 500×g 1 menit
- Ambil lapisan ATAS (± 1–2 tetes) dengan loop inokulasi
- Letakkan di kaca objek + cover glass

Perhatian Penting

- Bj harus tepat 1.18 (terlalu rendah = kista tidak mengapung)
- Jangan sentrifus > 1 menit setelah ZnSO_4 (kista berubah bentuk)
- Periksa dalam 15 menit (dehidrasi oleh ZnSO_4)
- Untuk B. coli: kurang optimal (kista besar, berat)
- Lebih sering untuk kista kecil & sedang

PEMERIKSAAN PARASITOLOGI FESES

METODE KONSENTRASI FLOTASI ZnSO_4 (FAUST)

1 SAMPEL FESES



Sampel feses segar dimasukkan ke pot sampel bersih.

2 EMULSI



± 1 g feses diencerkan dengan ± 7 mL aquades dalam gelas beker, aduk hingga homogen.

3 FILTRASI



Saring melalui kasa atau saringan untuk memisahkan debris besar.

4 KONSENTRASI



Masukkan filtrat ke tabung sentrifus, sentrifugasi 1.500–2.000 rpm selama 2 menit. Buang supernatan, sisakan endapan.

5 PENAMBAHAN ZnSO_4



Resuspensikan endapan dengan larutan ZnSO_4 spesifik (berat jenis 1,18–1,20) hingga tanda ± 15 mL.

6 FLOTASI



Tambahkan larutan ZnSO_4 hingga terbentuk meniskus cembung di atas tabung. Diamkan 10–15 menit.

LARUTAN ZnSO_4 SPESIFIK

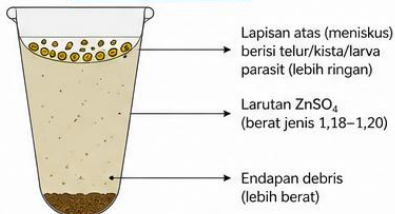
Berat jenis 1,18–1,20 ($\pm 33\%$ b/v)
Contoh: 330 g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dalam aquades hingga 1 L.

7 PEMERIKSAAN



Ambil tetesan dari meniskus menggunakan pipet, letakkan pada kaca objek, tutup dengan kaca penutup, dan periksa di bawah mikroskop.

PRINSIP METODE



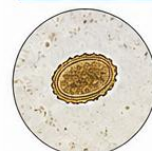
Lapisan atas (meniskus) berisi telur/kista/larva parasit (lebih ringan)

Larutan ZnSO_4 (berat jenis 1,18–1,20)

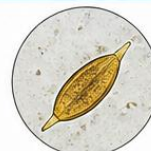
Endapan debris (lebih berat)

Telur/kista/larva parasit memiliki berat jenis lebih rendah daripada larutan ZnSO_4 , sehingga akan mengapung ke permukaan (meniskus) dan dapat diapapkn untuk diperiksa.

CONTOH HASIL PEMERIKSAAN MIKROSKOPIS



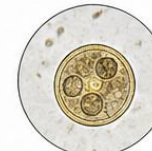
Telur *Ascaris lumbricoides* (dibua)



Telur *Trichuris trichiura* (dengan plug bipolar)



Telur Hookworm (dibelah)



Kista *Entamoeba coli*



Kista *Giardia lamblia*

CATATAN:

- Gunakan larutan ZnSO_4 dengan berat jenis 1,18–1,20 untuk hasil optimal.
- Jangan mengaduk setelah meniskus terbentuk.
- Periksa segera untuk mencegah perubahan bentuk telur/kista.

Perbandingan Sedimentasi vs Flotasi

Aspek	Sedimentasi (Formalin-Ether)	Flotasi (ZnSO ₄)
Prinsip	Kista berat → mengendap	Kista ringan → mengapung
Target terbaik	Kista besar, larva, telur cacing	Kista kecil-sedang (Giardia, Cystoisospora)
Untuk B. coli	PILIHAN UTAMA (kista 45–65 µm)	Dapat digunakan, kurang optimal
Kecepatan	~15 menit total	~10 menit total
Biaya	Relatif lebih mahal (ether)	Lebih murah

08

Identifikasi Morfologi Trofozoit & Kista

Ciri khas diagnostik *B. coli* vs organisme lain pada pemeriksaan mikroskopis

Identifikasi Trofozoit *Balantidium coli* – Ciri Diagnostik

Ukuran & Bentuk

- TERBESAR: 50–200 μm panjang
- Mudah terlihat bahkan di objektif 10×
- Oval-piriform (lebih lebar di posterior)
- Tepi tampak 'berbulu' (silia bergetar)
- Perbandingan: *Entamoeba histolytica* hanya 10–60 μm
- Analog: seperti 'gorila' di antara 'semut'

Motilitas Khas

- Gerakan SPIRAL (berputar seperti bor)
- Terarah: tidak berputar di tempat
- Kecepatan: cepat dan konsisten
- Gerakan bisa maju–mundur
- Berbeda dari *Giardia* (bergoyang)
- Berbeda dari *Amoeba* (melambung-lambung)
- Silia terlihat bergetar di tepi trofozoit

Nukleus

- Makronukleus: besar, ginjal/sosis/oval
- Biasanya satu makronukleus per sel
- Berwarna biru-ungu pada pewarnaan
- Mudah terlihat pada lugol (coklat tua)
- Mikronukleus: kecil, bulat, berdekatan
- Letak: berdampingan makronukleus
- Fungsi berbeda: metabolisme vs reproduksi

Struktur Lain

- Sitostom: lekukan di ujung anterior
- Tampak sebagai corong atau celah
- Vakuola kontraktil: 2 buah
- Berdenyut secara ritmik (osmoregulasi)
- Vakuola makanan: butiran/partikel di dalam
- Dapat berisi eritrosit/bakteri (sumber energi)
- Sitoplasma: granuler, kebiruan

Identifikasi Kista *Balantidium coli* – Ciri Diagnostik

Ciri Khas Kista untuk Identifikasi

1. Ukuran & Bentuk

45–65 μm ; sferik/bulat; salah satu kista protozoa terbesar. Tidak mudah tertukar karena ukurannya jauh lebih besar dari kista lain.

2. Dinding Kista

Ganda dan tebal; tampak sebagai garis refraktil yang jelas di bawah mikroskop cahaya (terutama tanpa pewarnaan).

3. Makronukleus

Berbentuk ginjal/sosis besar → ciri PALING khas dan pathognomonic. Terlihat jelas dengan pewarnaan lugol (coklat tua).

4. Silia Residual

Masih tampak di dalam dinding kista sebagai garis-garis halus. Membedakan dari kista protozoa lain.

5. Vakuola Kontraktil

Masih dapat terlihat (tidak fungsional) sebagai ruang kosong terang.

Diferensial Diagnosis Kista

Organisme	Ukuran	Ciri Beda
B. coli	45–65 μm	Makronukleus ginjal, silia residual
E. histolytica	10–20 μm	4 nukleus, kromatoid bar
E. coli	10–35 μm	8 nukleus, kariosom eksentrik
Giardia lamblia	8–12 μm	4 nukleus, axostyle, sangat kecil
Iodamoeba	5–20 μm	Vakuola glikogen besar
Macronucleus	ciri khas	HANYA B. coli yang memiliki

Tabel Morfologi Lengkap – Balantidium coli

Karakter	Trofozoit	Kista	Signifikansi Diagnostik
Ukuran	50–200 μm (rata-rata 80–100 μm)	45–65 μm (rata-rata 55 μm)	Terbesar = mudah dikenali; ukuran yang tumpang tindih minimal dengan protozoa lain
Bentuk	Oval-piriform; lebih sempit di anterior	Sferik/oval, rigid	Bentuk konsisten memudahkan identifikasi
Dinding sel	Tidak ada; dibatasi membran tipis	Dinding ganda tebal, refraktil, hialin	Dinding ganda = khas kista; refraktil = terlihat terang tanpa pewarnaan
Silia	Aktif bergetar, seluruh permukaan, baris longitudinal	Residual, tidak aktif, di bawah dinding	Silia residual di kista = ciri unik B. coli, tidak ada pada kista protozoa lain
Makronukleus	Besar, ginjal/sosis/oval, 1 buah	Besar, ginjal, 1 buah, tampak jelas	PATHOGNOMONIC — tidak ada pada organisme lain; mudah dikenali
Mikronukleus	Kecil, bulat, 1 buah berdekatan makronukleus	Kecil, tidak selalu terlihat	Sukar terlihat tanpa pewarnaan permanen
Sitostom	Ada, ujung anterior, berbentuk corong	Tidak ada (tertutupi dinding)	Membantu identifikasi trofozoit vs kista
Vakuola kontraktile	2 buah, berdenyut aktif (osmoregulasi)	Residual, tidak berdenyut	Pada trofozoit hidup: pulsasi terlihat nyata
Motilitas	Spiral progresif (berputar seperti bor)	Tidak ada (stadium istirahat)	Motilitas spiral = SANGAT KHAS; mudah dibedakan dari semua protozoa lain
Warna (Lugol)	Coklat muda-tua, nukleus gelap	Coklat tua, makronukleus sangat jelas	Lugol sangat membantu visualisasi nukleus kista
Stadium infeksi	Ya (invasi jaringan)	Ya (transmisi fekal-oral)	Keduanya patogen: trofozoit di jaringan, kista di lingkungan

Pewarnaan Permanen untuk Konfirmasi Identifikasi

Trichrome (Wheatley)

- Fiksasi: PVA atau Schaudinn (alkohol merkuri)
- Pewarnaan: larutan trichrome (Chromotrope 2R, LGS, FA)
- Hasil: sitoplasma biru-hijau, nukleus merah-ungu
- Kromatoid bar & inklusi sitoplasma terlihat jelas
- Waktu total: 45–60 menit
- Cocok untuk konfirmasi kasus meragukan
- Simpan preparat: xilol + entellan (permanen)

Iron Hematoxylin (Heidenhain)

- Resolusi tertinggi untuk detail nukleus
- Fiksasi: larutan Schaudinn
- Mordanting: ferric ammonium sulfate 4%
- Pewarnaan: hematoxylin 0,5%
- Diferensiasi: ferric ammonium sulfate encer
- Hasil: nukleus & organel abu-abu gelap sampai hitam
- Waktu: 2–3 jam
- Gold standard untuk riset/publikasi ilmiah

Kapan Digunakan?

- Identifikasi trofozoit meragukan pada prep langsung
- Temuan kista tidak dapat dibedakan dari organisme lain
- Keperluan dokumentasi kasus & laporan ilmiah
- Quality assurance laboratorium (slide referensi)
- Pelatihan/validasi analis baru
- Catatan: untuk B. coli tidak selalu diperlukan (ukuran sangat khas)
- Trichrome lebih sering digunakan karena lebih praktis

09

Interpretasi Hasil & Pelaporan

Standar interpretasi, format laporan, dan tindak lanjut klinik

Interpretasi Hasil Pemeriksaan Feses untuk Ciliata

POSITIF TROFOZOIT

Ditemukan trofozoit *B. coli*: motil, spiral, ukuran $\geq 50 \mu\text{m}$, makronukleus ginjal. Wajib catat: jumlah/LPB, motilitas, kondisi eritrosit teringesti (jika ada). Tindak lanjut: segera laporkan ke dokter, terapi metronidazole/tetrasiklin.

POSITIF KISTA

Ditemukan kista *B. coli*: bulat $45\text{--}65 \mu\text{m}$, dinding ganda refraktil, makronukleus ginjal terlihat. Wajib catat: jumlah kista/LPB (semi-kuantitatif: +, ++, +++). Tindak lanjut: laporkan ke dokter, terapi perlu dipertimbangkan meski asimtomatik.

NEGATIF

Tidak ditemukan trofozoit atau kista dalam seluruh lapang pandang yang diperiksa. Syarat valid: minimal 3–5 kaca objek per spesimen, baca minimal 100 LPB pada $10\times$. Jika klinis kuat $\rightarrow$ rekomendasikan serial stool exam (3 kali, hari berbeda).

INKLUSIF / MERAGUKAN

Ditemukan struktur menyerupai *B. coli* namun morfologi tidak memenuhi kriteria. Tindak lanjut: ulangi prep, pertimbangkan pewarnaan trichrome/iron hematoxylin, konsultasi dengan pemeriksa senior, atau kirim ke laboratorium rujukan.

Format Pelaporan Standar Hasil Pemeriksaan Feses

Komponen Wajib dalam Formulir Hasil Lab

A. IDENTITAS PASIEN & SPESIMEN

Nama, No. RM/No. Lab, Tanggal lahir, Dokter pengirim
Jenis spesimen (feses): konsistensi, warna, bau (normal/abnormal)
Waktu pengambilan & waktu penerimaan lab
Metode pengiriman (segar / fiksasi jenis apa)

B. METODE PEMERIKSAAN

Cantumkan semua metode yang dilakukan:

- Pemeriksaan langsung salin 0,9%
- Pemeriksaan langsung lugol
- Konsentrasi (sedimentasi / flotasi)
- Pewarnaan (trichrome / iron hematoxylin)

C. HASIL PEMERIKSAAN

Gunakan nama ilmiah lengkap: *Balantidium coli*
Cantumkan stadium: trofozoit / kista / keduanya
Jumlah: negatif / +1 (< 1/LPB) / +2 (1–5/LPB) / +3 (>5/LPB)
Catatan khusus (mis.: eritrosit teringesti, debris abnormal)

D. INTERPRETASI & TANDA TANGAN

Kalimat interpretasi singkat dan jelas
Nama & paraf ATLM / Dokter Patologi Klinik
Tanggal & jam verifikasi hasil

Contoh Kalimat Pelaporan

POSITIF:

"Ditemukan trofozoit Balantidium coli pada pemeriksaan langsung (salin). Jumlah: +2 (2–3 per lapang pandang 40×). Motilitas spiral aktif, makronukleus berbentuk ginjal tampak jelas."

NEGATIF:

"Tidak ditemukan trofozoit maupun kista Balantidium coli pada pemeriksaan langsung (salin + lugol) dan metode konsentrasi sedimentasi formalin-ether. Pemeriksaan ulang disarankan bila gejala menetap."

INKLUSIF:

"Ditemukan struktur bulat berdinding tebal ($\pm 60 \mu\text{m}$) yang menyerupai kista Balantidium coli. Konfirmasi dengan pewarnaan trichrome atau serial stool examination direkomendasikan."

10

Keselamatan Kerja (K3) & Standar Laboratorium

APD, penanganan spesimen, dekontaminasi, dan manajemen limbah

K3 Laboratorium – Pemeriksaan Feses Ciliata

APD Wajib

- Sarung tangan lateks/nitril (disposable)
- Jas laboratorium lengan panjang (kancing semua)
- Masker medis bedah (minimum)
- Kacamata pelindung / goggles
- Sepatu tertutup anti-slip
- Jangan lepas APD sebelum meninggalkan area kerja
- Ganti sarung tangan setiap ganti spesimen

Penanganan Spesimen Aman

- Anggap SEMUA spesimen feses infeksius (BSL-2)
- Jangan sentuh wajah saat bekerja
- Jangan pipet/menyedot dengan mulut
- Buka tutup tabung menghadap jauh dari muka
- Gunakan biosafety cabinet jika prosedur aerosol
- Desinfeksi meja kerja sebelum & sesudah (klorin 10%)
- Tumpahan: tutupi kertas koran + klorin 30 menit

Limbah & Dekontaminasi

- Limbah feses + wadah: kantong kuning → autoklaf
- Kaca objek bekas: rendam lysol 5% 30 menit → buang kontainer
- Jarum/lancet: sharps container (JANGAN recapping)
- APD bekas pakai: kantong merah/kuning → insinerasi
- Cuci tangan 6 langkah WHO wajib setelah kerja
- Ref: Permenkes 52/2018; WHO Laboratory Biosafety Manual 4th Ed (2020)
- Biosafety Level: BSL-2 untuk B. coli

Ringkasan Materi

Diagnosis Laboratorium Infeksi Ciliata

- ✓ *Balantidium coli* adalah SATU-SATUNYA Ciliata patogen manusia; reservoir utama adalah babi (60–90% babi terinfeksi).
- ✓ Morfologi khas: trofozoit 50–200 μm (terbesar), motilitas spiral, makronukleus ginjal; kista 45–65 μm , dinding ganda, refraktil.
- ✓ Spesimen feses: ambil 3 kali (hari berbeda), segar ≤ 30 menit atau fiksasi (formalin/PVA/SAF).
- ✓ Pemeriksaan langsung: salin (deteksi trofozoit motil) + lugol (detail kista & nukleus) dilakukan BERSAMAAN.
- ✓ Teknik konsentrasi: sedimentasi formalin-ether (pilihan utama *B. coli*) atau flotasi ZnSO_4 (kista ringan).
- ✓ Pelaporan: nama ilmiah lengkap + stadium + jumlah + interpretasi + tanda tangan ATLM.
- ✓ K3: BSL-2, APD lengkap, limbah autoklaf, cuci tangan 6 langkah WHO wajib setelah bekerja.