

**SURVEILANS MIGRASI UNTUK MENDETEKSI *Plasmodium*  
Spp. PADA PENDATANG DARI DAERAH ENDEMIC MALARIA  
DENGAN METODE MIKROSKOPIK, RDT, DAN PCR**

***MALARIA MIGRATION SURVEILLANCE TO DETECT  
Plasmodium Spp. IN MIGRANTS FROM MALARIA ENDEMIC  
AREAS BY MICROSCOPIC, RDT, AND PCR METHODS***

**RISMA MALASARI**

**P062181018**



**SEKOLAH PASCASARJANA  
PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2022**

**SURVEILANS MIGRASI UNTUK MENDETEKSI *Plasmodium*  
Spp. PADA PENDATANG DARI DAERAH ENDEMIS MALARIA  
DENGAN METODE MIKROSKOPIK, RDT, DAN PCR**

Karya Akhir

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Magister Biomedik  
(M.Biomed)

Program Studi Ilmu Biomedik

Sekolah Pasca Sarjana

Disusun dan diajukan oleh

**RISMA MALASARI**

Kepada

**SEKOLAH PASCA SARJANA  
PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2022**

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

**SURVEILANS MIGRASI UNTUK MENDETEKSI *Plasmodium*  
Spp. PADA PENDATANG DARI DAERAH ENDEMIS MALARIA  
DENGAN METODE MIKROSKOPIK, RDT, DAN PCR**

**RISMA MALASARI**  
Nomor Pokok P062181018

Telah dipertahankan di hadapan Panitia ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Magister Program Studi Ilmu Biomedik  
Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin  
Pada Tanggal 09 Februari 2022  
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama

dr. Isra Wahid, Ph.D  
Nip : 19581227 199802 1 002

Pembimbing Pendamping

dr. Rivalinda, M.Sc., Ph.D  
Nip : 19690918 199603 2 001

Ketua Program Studi  
Ilmu Biomedik

Dr. dr. Ika Yustisia, M.Sc  
Nip : 19770121 200312 2 003

Dekan Sekolah Pascasarjana  
Universitas Hasanuddin



Prof. dr. W. Jamaluddin Jompa, M.Sc  
Nip : 19520306 199003 1 001

## PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan dibawah ini :

**Nama** : Risma Malasari  
**Nomor Mahasiswa** : P062181018  
**Program studi** : Ilmu Biomedik Konsentrasi  
Mikrobiologi.

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Februari 2022  
Yang Menyatakan,



Risma Malasari

## PRAKATA

Assalamu'laikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang senantiasa melimpahkan rahmat, taufik dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan hasil penelitian ini. Penulisan ini merupakan salah satu persyaratan dalam rangka penyelesaian Program Magister S2 pada Pascasarjana Ilmu Biomedik Konsentrasi Mikrobiologi Universitas Hasanuddin Makassar. Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada berbagai pihak yang telah memberikan bantuan baik moril maupun materil langsung atau tidak langsung. Oleh karena itu dengan rasa hormat penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Rektor dan Direktur Pascasarjana Universitas Hasanuddin atas kesediannya menerima penulis sebagai peserta pendidikan di Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin.
2. Dr. dr. Ika Yustisia, M.Sc selaku ketua program studi Ilmu Biomedik Universitas Hasanuddin yang senantiasa memantau kelancaran pendidikan penulis.
3. dr. Isra Wahid, Ph.D selaku ketua Komisi Penasehat dan dr. Rizalinda, M.Sc., Ph.D selaku Sekretaris Komisi Penasehat yang telah meluangkan waktu untuk memberi bimbingan, arahan dan nasehat kepada penulis
4. dr. Firdaus Hamid, Ph.D sebagai penguji yang selalu meluangkan waktu dan pikiran beliau untuk membantu penulis dalam menyelesaikan

penulisan hasil penelitian ini.

5. dr. Joko Hendarto, Ph.D sebagai penguji yang ditengah kesibukannya telah memberikan waktu dan pikiran beliau untuk membantu penulis dalam menyelesaikan penulisan hasil penelitian ini.
6. Dr. dr. A. Alfian Zainuddin, M.KM selaku penguji yang telah memberikan banyak masukan dan perbaikan tesis ini.
7. Dosen-dosen dan Staf Program Studi Ilmu Biomedik yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah berupaya memberikan bimbingan dan pelajaran agar menjadikan penulis mempunyai ilmu pengetahuan mengenai biomedik khususnya bidang mikrobiologi menjadi lebih terarah dan berkualitas.
8. Kedua Orang Tua tercinta Ayahanda H. Mustam, Ibunda Hj. Salma serta suami tercinta Ilham Surono Arief, ST. M.Ak yang senantiasa memberikan kasih sayang yang tak ternilai dan selalu menghadirkan ananda di setiap do'anya dan selalu memberikan motivasi, doa dan dukungan dalam mendampingi penulis dalam proses penyelesaian studi.
9. Dinas Kesehatan Provinsi Sulawesi Selatan, Dinas Kesehatan Kabupaten Tana Toraja, Dinas Kesehatan Toraja Utara dan Dinas Kesehatan Kota Makassar terkhusus bagian Pencegahan dan Pengendalian Penyakit Menular langsung, yang selalu membantu memberikan data dan informasi penyakit yang dibutuhkan penulis.

10. Seluruh teman-teman di laboratorium Entomologi Fakultas kedokteran UNHAS, Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK), Makassar dan teman konsentrasi Mikrobiologi angkatan 2018 UNHAS yang tidak dapat saya sebutkan namanya satu persatu, atas dukungan dan motivasi kepada penulis

Penulis menyadari bahwa penyusunan tesis ini jauh dari kata sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan masukan berupa kritik dan saran yang sifatnya membangun demi kesempurnaan tesis ini.

Semoga Allah SWT memberikan balasan atas semua kebaikan yang telah Bapak, Ibu dan Saudara/i berikan dan semoga tesis ini bermanfaat untuk ilmu pengetahuan terkhusus dalam bidang Mikrobiologi, Parasitologi.

Makassar, Februari 2022

Risma Malasari

## ABSTRAK

**RISMA MALASARI.** *Surveilans Migrasi untuk Mendeteksi Plasmodium Spp. pada Pendatang dari Daerah Endemis Malaria dengan Metode Mikroskopik, RDT dan PCR (dibimbing oleh Isra Wahid dan Rizalinda Sjahril)*

Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi keberadaan *Plasmodium Spp.* pada pendatang dari daerah endemis malaria dengan metode pemeriksaan mikroskopik, RDT, dan PCR.

Penelitian ini dilakukan pada bulan September s.d November 2019 di tiga kabupaten/kota di Sulawesi Selatan yaitu Kota Makassar, Tana Toraja atau Toraja Utara. Populasi pada penelitian ini adalah pendatang dari daerah endemis Malaria (*native Papua dan non-papua*) yang menetap di daerah tersebut minimal selama 2 tahun dan berkunjung ke wilayah kota Makassar, Tana Toraja, atau Toraja Utara. Semua sampel dilakukan pemeriksaan parasit malaria dengan menggunakan tiga metode yaitu mikroskopik, RDT, dan PCR, yang kemudian dianalisis dengan menggunakan uji *Chi-square*.

Pemeriksaan dengan metode mikroskopik tidak menunjukkan sampel positif. Hasil deteksi RDT dan PCR menunjukkan prevalensi parasit malaria yang tinggi ditemukan pada pendatang tanpa gejala, baik pada *native Papua* maupun *non-Papua* di Sulawesi Selatan. Mikroskop cahaya tidak dapat mendeteksi keberadaan parasit malaria. Sementara hasil uji RDT terhadap 256 sampel pendatang (*native Papua dan non-Papua*) terdeteksi 18,75% positif malaria. Hasil ini tidak jauh berbeda dengan tes PCR yang ditemukan 19,53% positif malaria. Pada sampel *native Papua*, tingkat positif malaria lebih tinggi pada RDT daripada tes PCR, dan sampel *non-Papua* menunjukkan kemampuan deteksi sebaliknya. Hal ini mungkin karena tes RDT adalah tes untuk antigen, tetapi tidak untuk parasit malaria. Dapat disimpulkan bahwa pendatang asimtomatik dari daerah endemis seperti Papua perlu dilakukan skrining sejak dini karena kemungkinan masih memiliki parasit malaria dalam darahnya dan menjadi *carrier* sehingga berpotensi menyebabkan terjadinya penularan lokal. Tes PCR dapat mendeteksi secara spesifik keberadaan DNA *Plasmodium*, karena kebutuhannya untuk peralatan pendukung, metode RDT masih dapat diandalkan.

**Kata kunci:** mikroskopik, PCR, Pendatang, *Plasmodium*, RDT

 <b>GUGUS PENJAMINAN MUTU (GPM) SEKOLAH PASCASARJANA UNHAS</b>	
Abstrak ini telah diperiksa.  Tanggal : _____	Panel Ketua / Sekretaris, 
Tanggal : 02/03/2022	



## ABSTRACT

**RISMA MALASARI.** *Migration Surveillance to Detect Plasmodium spp in Migrants from Malaria Endemic Areas by Microscopic, RDT and PCR Methods* (supervised by **Isra Wahid** and **Rizalinda Sjahril**)

This study aims to detect the presence of *Plasmodium* spp. parasites among immigrants from malaria endemic areas by microscopic examination, RDT, and PCR methods.

This research was conducted from September to November 2019 in three districts/cities in South Sulawesi, namely Makassar City, Tana Toraja and North Toraja. The population in this study were immigrants from malaria endemic areas (native Papua and non-Papua) who lived in the area for at least 2 years before visiting the cities of Makassar, Tana Toraja, or North Toraja. All samples were examined for malaria parasites using three methods, namely microscopic, RDT, and PCR, which were then analyzed using the chi-square test.

Microscopic examination did not show any positive samples. RDT and PCR detection showed that a high prevalence of malaria parasites was found among asymptomatic immigrants, both native Papuans and non-Papuans in South Sulawesi. The light microscope could not detect the presence of malaria parasites. The results of the RDT test on 256 samples of migrants (native Papuan and non-Papuan) detected 18.75% positive for malaria. This result is not much different from the PCR test which found 19.53% positive for malaria. In the Papuan native sample, the malaria positive rate was higher on the RDT than the PCR test, and the non-Papuan sample revealed detection ability the opposite. This may be due to the RDT is to the antigen, but not to the malaria parasite. It can be concluded that the asymptomatic immigrants from endemic areas such as Papua need to be screened early because they may still have malaria parasites in their blood and become carriers, leading potential to cause local transmission. PCR can detect specifically the presence of *Plasmodium* DNA, due to its requirement for supporting equipments, the RDT is still reliable method.

**Keywords:** *microscopic, PCR, Plasmodium, RDT, migrant*

 <b>GUGUS PENJAMINAN MUTU (GPM) SEKOLAH PASCASARJANA UNHAS</b>	
Abstrak ini telah dipertah.	Para/ Ketua / Sekretaris,
Tanggal: <u>02/03/2022</u>	

## DAFTAR ISI

	halaman
DAFTAR ISI .....	x
DAFTAR TABEL .....	xiii
DAFTAR GAMBAR .....	xiv
BAB I PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	6
C. Tujuan Penelitian .....	7
1. Tujuan Umum.....	7
2. Tujuan Khusus .....	7
D. Manfaat Penelitian .....	8
1. Manfaat Teoritis .....	8
2. Manfaat Praktis .....	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	9
A. Landasan Teori	
1. Definisi dan sejarah malaria .....	9
2. Siklus hidup parasit <i>Plasmodium</i> .....	10
3. Penemuan kasus malaria .....	14
4. Gejala klinis malaria .....	16
5. Diagnosis malaria .....	18

B. Kerangka Teori .....	28
C. Kerangka Konseptual .....	29
D. Hipotesis .....	29
BAB III METODE PENELITIAN .....	30
A. Rancangan Penelitian .....	30
B. Lokasi dan Waktu Penelitian .....	30
C. Populasi, Sampel, Teknik <i>Sampling</i> dan Besar Sampel .....	30
D. Definisi Operasional .....	31
E. Alat dan Bahan .....	32
1. Alat .....	32
2. Bahan .....	32
F. Prosedur Kerja .....	33
1. Pemeriksaan gejala klinis .....	33
2. Mikroskopik .....	33
3. <i>Rapid diagnostic test</i> (RDT) .....	33
4. <i>Polimeration chain reaction</i> (PCR) .....	34
G. Analisis Data .....	35
H. Alur Penelitian .....	36
BAB IV PEMBAHASAN.....	37
A. Hasil Penelitian .....	37
B. Pembahasan.....	42
BAB V SIMPULAN DAN SARAN .....	54

A. Simpulan .....	54
B. Saran .....	54
DAFTAR PUSTAKA .....	55

**DAFTAR TABEL**

Nomor		halaman
1	Perbandingan positif malaria antara mikroskopik, RDT, PCR pada orang sehat yang tinggal 2 tahun di daerah endemik malaria	37
2	Perbandingan tes RDT dan PCR pada pada semua sampel pendatang	38
3	Perbandingan tes RDT dan PCR pada sampel <i>native</i> Papua	39
4	Perbandingan tes RDT dan PCR pada sampel non-Papua	40

**DAFTAR GAMBAR**

Nomor		halaman
1	Peta endemisitas malaria di Indonesia tahun 2018	3
2	Rencana verifikasi eliminasi malaria	4
3	Siklus hidup <i>Plasmodium</i>	11
4	Cara kerja RDT	21
5	Komponen dan proses PCR	24
6	Kerangka teori	28
7	Kerangka konseptual	29
8	Alur penelitian	36
9	Hasil perbandingan Tes RDT dan PCR pada sampel pendatang	38
10	Hasil perbandingan tes RDT dan PCR pada sampel non-Papua dan <i>native</i> Papua	39
11	Hasil perbandingan non-Papua dan <i>native</i> Papua pada masing-masing tes malaria	40

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Malaria merupakan penyakit tular vektor yang sampai saat masih menjadi masalah kesehatan masyarakat di dunia. Penyakit ini dapat menimbulkan berbagai masalah sosial dan ekonomi karena terjadi penurunan kualitas sumber daya manusia. WHO melaporkan terdapat kurang lebih 219 juta kasus malaria dengan jumlah kasus kematian sekitar 435 ribu orang di seluruh dunia pada tahun 2019. Upaya pencegahan dan penanggulangan malaria masih terus dilakukan dan sejauh ini telah memperlihatkan hasil yang cukup signifikan (WHO 2019).

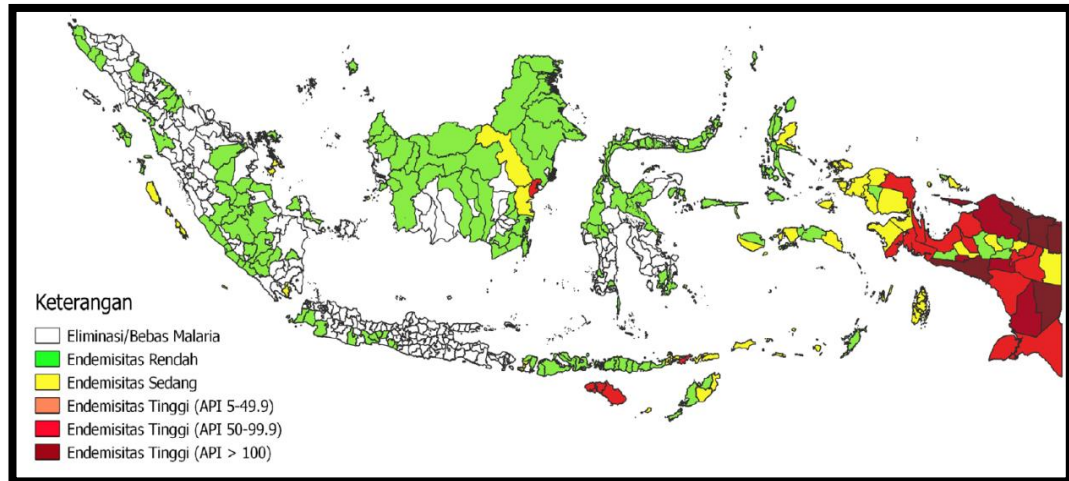
*Millenium Development Goals* (MDGs) merupakan salah satu program WHO yang memiliki target yaitu untuk menekan jumlah kasus malaria di seluruh dunia. Penurunan terbesar terjadi di wilayah di Asia Tenggara dengan penurunan insiden malaria sebesar 54%. Tingkat kejadiannya turun dari 17 kasus penyakit per 1000 populasi berisiko pada 2010 menjadi 7 pada 2017. Sementara itu, tingkat kematian akibat penyakit malaria di seluruh dunia sampai dengan tahun 2017 berhasil ditekan, diperkirakan terdapat 435.000 kematian akibat malaria secara global, dibandingkan dengan 451.000 kematian di 2016, dan 607.000 di 2010. Sekitar 6,2 juta jiwa bisa diselamatkan berkat upaya *scale-up* intervensi malaria yang dilakukan oleh seluruh negara di dunia (WHO 2019).

Kasus malaria di Asia tenggara telah terjadi penurunan, namun pemerintah Indonesia memandang penyakit malaria masih perlu diwaspadai penularannya terutama di daerah reseptif. Penyakit malaria di Indonesia yang memiliki jumlah kasus yang masih cukup tinggi ditemukan di Kawasan Timur Indonesia terutama di provinsi Papua dan Papua Barat (Kemenkes RI 2019).

Sebagai antisipasi, Pemerintah Indonesia di dalam Peraturan Presiden Nomor 2 tahun 2015 tentang Rencana Pembangunan Jangka Menengah Nasional (RPJMN) tahun 2015-2019, menetapkan malaria termasuk penyakit prioritas yang perlu ditanggulangi dan harus dieliminasi atau dihilangkan. Pemerintah Indonesia menarget eliminasi malaria tercapai selambat-lambatnya tahun 2030 hal tersebut tertuang pada keputusan Menteri Kesehatan Nomor 293/Menkes/SK/IV/2009. Hal ini telah ditindaklanjuti oleh Ditjen P2P (Direktorat Pencegahan dan Pengendalian Penyakit) Kemenkes RI dengan mengeluarkan keputusan Nomor: HK.02.02/IV/1813/2017 tentang penilaian Eliminasi Malaria, yang menjadi pedoman dasar program Pengendalian malaria untuk mencapai eliminasi malaria sebagai upaya mewujudkan masyarakat yang hidup sehat, yang terbebas dari penyakit malaria. Eliminasi malaria dilakukan secara bertahap dari Kabupaten/Kota, Provinsi, dari satu pulau ke pulau yang lebih luas sampai seluruh wilayah Indonesia, sesuai dengan situasi malaria dan ketersediaan sumber daya yang tersedia, dalam upaya mencapai eliminasi malaria yang dilakukan secara terpadu oleh pemerintah bersama lintas

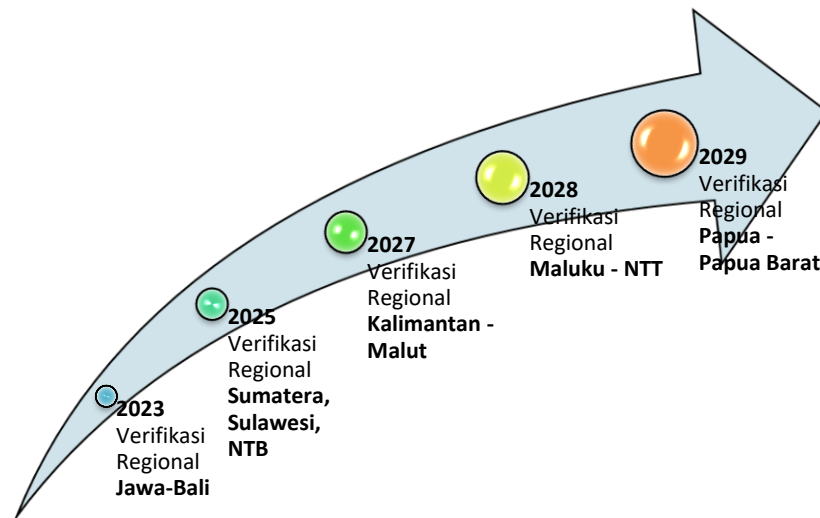


sektor (Kemenkes RI, 2018).



Gambar 1. Peta *Endemisitas* Malaria di Indonesia Tahun 2018  
(Sumber: Kemenkes RI, 2018)

*Annual Parasite Incidence* (API) yang menjadi keberhasilan upaya pengendalian malaria cenderung menurun dari tahun ke tahun. Tingkat pencapaian eliminasi di tingkat kabupaten/kota pada tahun 2018 adalah 285 kabupaten/kota sedangkan pada eliminasi tingkat provinsi belum ada yang pencapaian, meskipun terdapat tiga provinsi yang seluruh kabupaten/kotanya mengalami pencapaian eliminasi. penilaian sertifikasi eliminasi malaria akan diajukan oleh Kemenkes untuk Indonesia kepada WHO pada tahun 2030. Proses ini didahului dengan penilaian eliminasi untuk Jawa dan Bali pada tahun 2023; penilaian untuk Sumatera, NTB dan Sulawesi pada tahun 2025; penilaian untuk Kalimantan dan Maluku Utara pada tahun 2027; penilaian untuk NTT dan Maluku pada tahun 2028 dan penilaian untuk Papua Barat dan Papua pada tahun 2029 (Kemenkes RI, 2018).



Gambar 2. Rencana Verifikasi Eliminasi Regional  
(Sumber: Kemenkes RI, 2018)

Permasalahan yang berkaitan dengan naik turunnya angka penderita malaria disebabkan oleh *migrant worker* yang kemungkinan di dalam darahnya masih terdapat parasit malaria yang tidak terdeteksi, yang dapat menjadi sumber penularan malaria di daerah asalnya. Secara alamiah, penularan malaria terjadi karena adanya interaksi antara *agent* (*Plasmodium spp*), *host definitif* (*Anopheles spp*), *host intermediate* (manusia) dan *enviroment*. Penularan malaria dipengaruhi oleh keberadaan vektor serta sumber parasit *Plasmodium spp*. atau penderita di samping adanya *host* yang rentan (Sutrisna, 2004).

Tingginya angka mobilitas penduduk yang bepergian ke daerah yang masih endemis malaria, menyebabkan meningkatnya malaria impor dan menjadi masalah di daerah non atau *low*-endemis malaria (Yangzom *et al.* 2012). Kegiatan penemuan kasus malaria pada penduduk yang bermigrasi dari daerah endemis malaria ke daerah non-endemis malaria

ataupun sebaliknya telah dibentuk oleh Kementerian Indonesia melalui surveilans migrasi. Kegiatan tersebut dilakukan dengan melakukan pemeriksaan melalui skrining terhadap kelompok berisiko malaria dan kemungkinan dapat menjadi sumber penular di daerah non-endemis. Kegiatan surveilans ini dilakukan utamanya pada daerah reseptif di wilayah kabupaten/kota khususnya yang telah berada pada tahap eliminasi malaria dan pemeliharaan, serta yang penduduknya banyak migrasi ke daerah endemis malaria, seperti nelayan, pekerja tambang, pekerja perkebunan, pedagang, mahasiswa, TNI, peneliti lapangan, wisatawan, dan transmigrant (Kemenkes, 2017).

Surveilans adalah kegiatan pemantauan kasus secara terus menerus sehingga kegiatan ini sangat mendukung program eliminasi malaria dan pemeliharaan setelah eliminasi malaria. Sistem surveilans akan menyediakan informasi mengenai angka mortalitas, morbiditas, penyebaran, faktor yang mempengaruhi, serta pola perubahan risiko malaria. Daerah yang telah masuk tahap eliminasi perlu melaksanakan kegiatan penyelidikan epidemiologi terhadap setiap kasus positif malaria. Surveilans migrasi merupakan surveilans yang dilakukan untuk deteksi dini kasus malaria serta mencegah masuknya kasus impor, sehingga dapat dilakukan upaya pencegahan dan pengendalian malaria yang tepat (Kemenkes, 2017).

Penegakkan diagnosis untuk penyakit malaria khususnya pada kegiatan deteksi dini terhadap penduduk yang bermigrasi dari daerah

endemis malaria ke daerah non-endemis malaria ataupun sebaliknya selama ini menggunakan pemeriksaan mikroskopik sebagai *gold standard*. Namun masih terdapat kasus malaria yang tidak ditemukan dengan pemeriksaan secara mikroskopik. Hal ini juga telah dilaporkan oleh Kang *et al* (2017) bahwa pemeriksaan sediaan darah dengan menggunakan mikroskopik tidak dapat mendeteksi parasit malaria pada sampel asimtomatik di Myanmar.

Berdasarkan data di atas maka penulis bermaksud melakukan penelitian dengan judul Surveilans Migrasi Malaria untuk mendeteksi *Plasmodium Spp* pada Pendatang dari Daerah Endemis Malaria dengan membandingkan tiga Metode Pemeriksaan yaitu mikroskopik, RDT, dan PCR.

## **B. Rumusan Masalah**

Daerah yang sudah dinyatakan eliminasi malaria oleh pemerintah tetap harus melaksanakan pemeliharaan dan tidak boleh ada penularan setempat, karena 1 (satu) kasus malaria yang disebabkan penularan setempat maka daerah tersebut dinyatakan Kejadian Luar Biasa (KLB), sementara daerah yang belum mendapatkan sertifikat eliminasi malaria, persyaratan yang harus dipenuhi salah satunya adalah tidak ada kasus malaria yang disebabkan penularan setempat selama tiga (3) tahun berturut-turut. Oleh karena itu menemukan penderita malaria ataupun orang yang membawa parasit malaria dari luar wilayah, sedini mungkin harus ditemukan untuk mencegah terjadinya penularan setempat baik di

wilayah yang sudah mendapatkan sertifikat eliminasi malaria maupun wilayah yang belum mendapatkan sertifikat malaria. Penegakkan diagnosis untuk penyakit malaria selama ini menggunakan pemeriksaan mikroskopik sebagai standar emas. Tetapi masih terdapat kasus malaria yang tidak terdeteksi dengan pemeriksaan secara mikroskopik dan atau uji diagnostik cepat (*Rapid Diagnostic Test/RDT*). Metode pemeriksaan yang akurat untuk mengidentifikasi adalah *Polymerase Chain Reaction (PCR)*, yang mengidentifikasi mikroorganisme penyebab infeksi sampai pada tingkatan DNA. Metode ini terbukti sensitif dan spesifik dibandingkan dengan metode mikroskopik.

### **C. Tujuan Penelitian**

#### **1. Tujuan Umum**

Penelitian ini secara umum bertujuan untuk mengidentifikasi keberadaan *Plasmodium* pada pendatang tanpa gejala dari daerah endemis malaria.

#### **2. Tujuan Khusus**

- a. Kemampuan mendeteksi *Plasmodium* melalui pemeriksaan PCR, RDT, dan mikroskopik pada pendatang dari daerah endemis malaria.
- b. Membandingkan hasil pemeriksaan *Plasmodium* dengan menggunakan mikroskop, RDT, dan PCR pada pendatang dari daerah endemis malaria.

## **D. Manfaat Penelitian**

### **1. Manfaat Teoritis**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang deteksi dini *Plasmodium Spp.* pada migran dari daerah endemis malaria.

### **2. Manfaat Aplikatif**

- a. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangsih ilmu pengetahuan dan menambah data mengenai kasus malaria impor.
- b. Hasil penelitian ini dapat mempermudah tindakan penanggulangan dan pencegahan penyebaran infeksi baru, serta menentukan tindakan pemberian pengobatan.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Landasan teori

##### 1. Definisi dan Sejarah Malaria

Malaria merupakan penyakit yang disebabkan oleh parasit dari genus *Plasmodium* yang menyerang sel darah merah yang ditularkan kepada manusia melalui gigitan nyamuk *Anopheles* betina yang terinfeksi. Istilah malaria diambil dari bahasa Italia mal'aria atau 'bad air' yang artinya udara kotor. Penyakit ini banyak ditemukan di daerah tropis seperti Asia Tenggara, Afrika, Amerika Tengah dan Selatan (Harijanto 2000; Sembel 2009).

Spesies parasit *Plasmodium* malaria pada manusia terdiri dari lima spesies yaitu *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*, dan *P. knowlesi*. *P. knowlesi* merupakan parasit yang baru-baru ini dikonfirmasi dengan PCR dan pertama kali ditemukan di Sabah (Malaysia), dan reservoir utama parasit ini adalah kera (*Macaca* sp.). Seorang penderita dapat terinfeksi lebih dari satu jenis *Plasmodium* yang disebut infeksi campuran (*mixed infection*). Infeksi campuran yang paling sering terjadi yaitu infeksi campuran *P. falciparum* dengan *P. vivax* atau *P. malariae* (Kemenkes RI 2015).

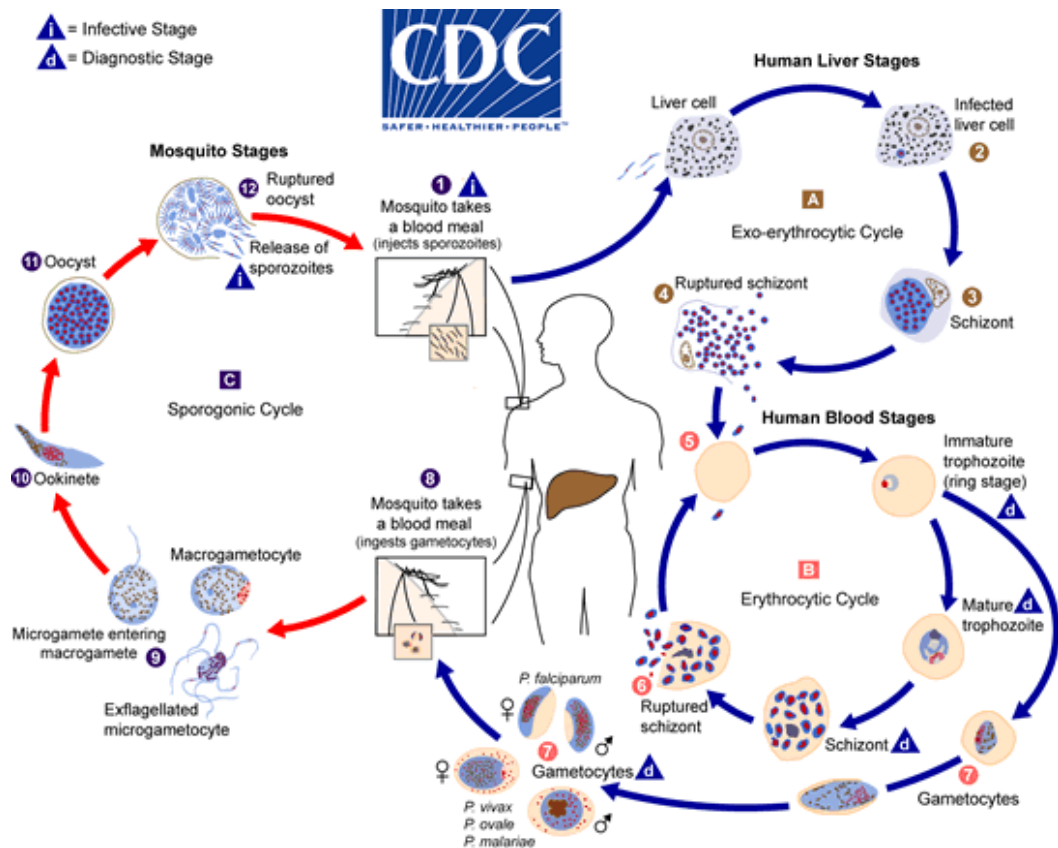
Parasit malaria pada darah manusia ditemukan oleh Laveran di Aljazair pada tahun 1880. Selanjutnya Golgi di Italia pada tahun 1886

menemukan *P. vivax* dan *P. malariae*, serta Celli dan Marchiava pada tahun 1890 menemukan *P. falciparum*. Siklus hidup parasit pada nyamuk ditemukan oleh Ross pada tahun 1897-1898 di India, kemudian dilanjutkan oleh Grassi, Bignami, dan Bastianelli di Italia yang menguraikan siklus hidup parasit manusia pada nyamuk *Anopheles*. Raffaele pada tahun 1934 menguraikan tentang siklus skizogoni pada eritrosit, kemudian pada tahun 1947-1953 Garnham, Shortt, Malamos, Covell, dan Shute menguraikan eksoeritrositik dari berbagai spesies *Plasmodium* pada jaringan hati manusia (Harijanto 2000).

## **2. Siklus Hidup parasit *Plasmodium***

Siklus hidup parasit *Plasmodium* terjadi di tubuh manusia dan nyamuk *Anopheles* betina. Ada dua siklus hidup *Plasmodium* dalam berkembang biak yaitu siklus seksual (sporogoni) yang berlangsung pada nyamuk *Anopheles*, dan siklus aseksual (schizogoni) yang berlangsung pada manusia yang terdiri dari fase eritrosit dan fase yang berlangsung di dalam parenkim sel hepar (Harijanto 2000).





Gambar 3. Siklus hidup *Plasmodium*

(Sumber: <https://www.cdc.gov/dpdx/malaria/index.html>)

#### a. Siklus hidup *Plasmodium* di tubuh manusia (siklus aseksual)

Sporozoit masuk ke dalam peredaran darah saat nyamuk *Anopheles* betina menghisap darah. Sebagian sporozoit tersebut akan difagositosis dan yang tidak difagositosis akan mencapai sel hati dalam waktu setengah jam. Di dalam sel hati, sporozoit tumbuh dan berkembang biak dengan cara skizogoni. Pada akhir fase skizogoni akan terbentuk ribuan merozoit. Proses skizogoni yang terjadi di hati disebut skizogoni preeritrositer atau eksoeritrositer primer. Setiap spesies *Plasmodium* akan

membentuk merozoit dalam jumlah berbeda-beda. Sel hati yang penuh dengan merozoit akan pecah kemudian masuk ke dalam peredaran darah dan menyerang eritrosit (Rahmad and Purnomo 2010).

Sporozoit dalam sel hati tidak semua langsung tumbuh dan berkembang biak, pada *P. vivax* dan *P. ovale* sebagian sporozoit ini tidak berkembang biak dalam kurun waktu tertentu, sporozoit yang tidak berkembang ini disebut hipnozoit. Setelah beberapa bulan atau beberapa tahun kemudian mengalami skizogoni. Proses ini disebut skizogoni eksoeritrositer sekunder. Proses ini dianggap sebagai penyebab timbulnya relaps jangka panjang (Rahmad and Purnomo 2010).

Merozoit yang berasal dari skizon hati yang pecah, menyerang eritrosit dan mengalami skizogoni. Proses ini disebut skizogoni eritrositer. Stadium awal skizogoni eritrositer adalah bentuk ring yang mempunyai satu inti dengan sitoplasma tipis seperti cincin (ring muda), kemudian sitoplasma tumbuh menebal dan masih dalam bentuk ring (ring tua). Selanjutnya sitoplasma bertambah kompak atau amuboid dan terdapat pigmen, ukuran sitoplasma masih kurang dari setengah eritrosit. Stadium ini disebut trofosoit muda dan apabila sitoplasmanya melebihi setengah eritrosit disebut trofosoit tua. Apabila inti sudah membelah disebut stadium skizon. Dari stadium skizon muda, kemudian tumbuh menjadi skizon tua dan akhirnya terbentuk skizon matang yang masing-masing inti sudah dikelilingi sitoplasma dan terbentuk merozoit (Rahmad and Purnomo 2010).

Eritrosit yang mengandung skizon matang akan pecah dan

merozoit keluar bersama toksin serta sisa-sisa metabolisme parasit. Merozoit yang keluar kemudian menyerang eritrosit yang ada disekitarnya. Setelah melewati beberapa siklus eritrositer, sebagian dari merozoit membentuk makrogametosit (gametosit betina) dan mikrogametosit (gametosit jantan) yang disebut proses gametogoni. Makrogametosit dan mikrogametosit ini tidak berkembang di dalam tubuh manusia, tetapi akan berkembang biak secara seksual dan membentuk sporozoit di dalam tubuh nyamuk (Rahmad and Purnomo 2010).

**b. Siklus hidup *Plasmodium* di tubuh nyamuk (perkembang biakan seksual/ sporogoni)**

Di dalam lambung nyamuk, satu makrogametosit tumbuh menjadi satu makrogamet yang kemudian membentuk tonjolan kecil tempat masuk mikrogametosit. Mikrogametosit tumbuh dan berkembang menjadi 4-8 mikrogamet yang bentuknya seperti benang yang menonjol dan bergerak-gerak dari sel induk. Mikrogamet melepaskan diri dari sel induk (eksflagelasi) dan masuk melalui tonjolan kecil membuahi makrogamet lalu terbentuk zigot yang berbentuk bulat, kemudian berubah menjadi bentuk panjang yang disebut ookinet. Ookinet ini menembus dinding lambung nyamuk. Pada dinding luar lambung nyamuk ookinet akan menjadi ookista dan selanjutnya menjadi sporozoit. Sporozoit ini bersifat infeksius dan siap ditularkan ke manusia (Rahmad and Purnomo 2010).

### 3. Penemuan Kasus Malaria

Penemuan kasus (*case detection*) adalah kegiatan rutin untuk menemukan penderita malaria dengan gejala klinis demam, sakit kepala, menggigil, berkeringat lebih, mual atau muntah, melalui pengambilan sampel darah untuk dilakukan pemeriksaan malaria (Kemenkes RI 2016). Tujuannya adalah untuk melakukan pengobatan yang cepat dan tepat sesuai standar, dan mencegah terjadinya penularan yang lebih luas. Selain itu penemuan kasus malaria digunakan untuk memantau fluktuasi kasus malaria, mengetahui adanya kasus penularan setempat (*indigenous*), dan kewaspadaan dini terhadap kemungkinan terjadinya KLB (Kejadian Luar Biasa). Adapun bentuk kegiatan yang dilakukan adalah (Kemenkes RI, 2015):

#### a. *Active Case Detection* (ACD)

ACD merupakan penemuan kasus malaria aktif yang dilakukan oleh petugas Kesehatan ataupun kader Kesehatan yang telah dilatih untuk mencari kasus dengan mendatangi rumah penduduk secara rutin dalam waktu tertentu berdasarkan tingkat insiden kasus malaria di daerah tersebut.

#### b. *Passive Case Detection* (PCD)

PCD adalah kasus malaria yang ditemukan pada penderita yang datang berobat di unit pelayanan kesehatan (UPK) dengan melakukan pemeriksaan malaria.

c. *Mass Fever Survey* (MFS)

MFS adalah kegiatan pengambilan sampel darah pada semua orang yang memiliki gejala demam di suatu wilayah yang diikuti dengan pemberian obat malaria terhadap kasus yang positif sesuai dengan spesies *Plasmodium* yang ditemukan.

d. *Malariometric Survey* (MS)

MS adalah kegiatan untuk mengukur endemisitas dan prevalensi malaria di suatu wilayah untuk mendapatkan data dasar dan stratifikasi masalah malaria di suatu wilayah.

e. *Mass Blood Survey* (MBS) atau Survei Darah Massal (SDM)

MBS adalah upaya pencarian dan penemuan kasus malaria melalui pengambilan sampel darah secara massal di suatu daerah yang diduga daerah endemis, daerah yang belum terjangkau oleh unit pelayanan Kesehatan, dan daerah yang sedang terjadi peningkatan kasus.

f. Surveilans Migrasi

Surveilans migrasi adalah kegiatan penemuan kasus malaria melalui pengambilan sampel darah pada pendatang dari daerah endemis malaria.

g. Survei Kontak (*contact survey*)

Survei kontak adalah kegiatan pengambilan sampel darah pada orang yang tinggal serumah atau orang yang tinggal di dekat rumah (berjarak  $\pm$  5 rumah) penderita malaria.

#### 4. Gejala klinis malaria

Infeksi parasit malaria dapat ditemukan pada orang yang tidak memiliki gejala klinis maupun yang memiliki gejala klinis. Periode dari masuknya parasit sampai menimbulkan gejala klinis disebut masa inkubasi intrinsik, masa inkubasi ini tergantung pada spesies *Plasmodium*. *P. falciparum* memiliki masa inkubasi 12 hari, *P. malariae* 28-30 hari, dan untuk *P. vivax* dan *P. ovale* 13-17 hari. Perjalanan penyakit malaria berbeda antara orang non-imun (tinggal di daerah non-endemis) dan orang yang semi-imun atau imun (tinggal di daerah endemis malaria). Kesalahan atau keterlambatan diagnosis malaria pada orang non-imun berisiko tinggi malaria berat atau malaria dengan komplikasi (Sutanto *et al.* 2008).

Pada orang non-imun biasanya demam terjadi kurang lebih dua minggu setelah terinfeksi parasit malaria. Pada permulaan penyakit biasanya demam tidak bersifat periodik dan terjadi setiap hari. Selain itu, demam biasanya disertai gejala klinis yang spesifik seperti menggigil, keringat banyak, sakit otot, sakit kepala, dan biasanya disertai dengan gejala yang tidak spesifik seperti mual, muntah, dan diare. Jika tidak dilakukan pengobatan dapat mengakibatkan malaria berat hingga menyebabkan kematian. Pada orang semi-imun atau imun yang tinggal di daerah endemis malaria, biasanya memiliki gejala klinis yang ringan bahkan tanpa gejala klinis (asimtomatik), sehingga setiap penderita demam tanpa diikuti gejala klinis yang spesifik tetap patut dicurigai malaria dan harus dilakukan pemeriksaan parasit malaria (Sutanto *et al.* 2008; Kemenkes RI,

2015).

#### **a. Demam periodik**

Priodisitas demam pada infeksi malaria berhubungan dengan waktu pecahnya skizon dan keluarnya merozoit yang masuk ke peredaran darah dan menginfeksi eritrosit. Demam periodik khas malaria terdiri atas tiga stadium yaitu (Sutanto *et al.* 2008):

- Stadium menggigil dimulai dengan perasaan dingin sekali, sehingga menggigil. Nadi penderita cepat, jari tangan dan bibir menjadi pucat, dan kadang-kadang disertai mual dan muntah. Pada anak-anak sering disertai kejang-kejang.
- Stadium puncak demam dimulai pada saat rasa dingin sekali berubah menjadi panas sekali. Muka dan mata menjadi merah, tubuh terasa panas seperti terbakar, sakit kepala hebat, biasanya disertai mual dan muntah, nadi berdenyut kencang. Perasaan haus sekali pada saat suhu naik 41°C atau lebih.
- Stadium berkeringat dimulai dengan penderita berkeringat banyak. Suhu tubuhnya turun dengan cepat, kadang-kadang sampai di bawah ambang normal.

#### **b. Splenomegali (pembesaran limpa)**

Pembesaran limpa merupakan gejala khas pada malaria kronis. Limpa merupakan organ retikuloendotelial, parasit dihancurkan oleh sistem kekebalan tubuh inang. Pada keadaan akut limpa membesar, penderita merasa nyeri di perut kwadran kiri atas. Pada malaria menahun konsistensi

limpa menjadi keras (Sutanto *et al.* 2008).

### **c. Anemia**

Anemia terjadi pada penderita malaria. Derajat anemia tergantung spesies parasit yang menginfeksi. Pada serangan akut kadar hemoglobin turun secara mendadak (Sutanto *et al.* 2008).

### **d. Malaria berat**

Diagnosis klinis malaria berat yaitu adanya satu atau lebih komplikasi, seperti malaria serebral, anemia berat, gagal ginjal akut, edema paru, hipoglikemia, syok, pendarahan spontan dari hidung, gusi, dan saluran cerna, kejang berulang, asidemia dan asidosis (penurunan pH darah karena gangguan asam-basa di dalam tubuh), serta hemoglobinuria makroskopik (adanya darah dalam urine) (Harijanto, 2000).

## **5. Diagnosis malaria**

Penegakan diagnosis infeksi malaria dilakukan dengan pemeriksaan parasit di dalam darah, dengan beberapa metode yaitu metode pemeriksaan mikroskopik, RDT, dan PCR.

### **a. Mikroskopik**

Metode pemeriksaan apusan darah dengan menggunakan mikroskop masih menjadi *gold standard* untuk penegakan diagnosis malaria (Sutanto *et al.* 2008). Tingkat akurasi pemeriksaan parasit malaria pada apusan darah dengan menggunakan mikroskop bergantung pada beberapa factor yaitu pemeriksa yang terlatih dan berpengalaman, pewarnaan slide yang tepat, perawatan mikroskop yang tepat, dan waktu yang dihabiskan



untuk memeriksa setiap slide (Hariyanto *et al.* 2009). Kekurangan pemeriksaan mikroskopik adalah salah diagnosis pada infeksi campuran dan tidak dapat mendeteksi parasit malaria pada infeksi dengan parasit yang rendah seperti pada penderita malaria tanpa gejala (Kang *et al.*, 2017; Naeem *et al.*, 2018).

Pada pemeriksaan apusan darah tipis maupun tebal untuk parasit malaria digunakan mikroskop dengan pembesaran ocular 10x dan pembesarah objektif 100x. Oleh karena itu untuk memeriksa apusan darah harus ditetaskan minyak imersi pada tempat yang akan diperiksa. Sebelum ditetaskan, harus yakin bahwa preparat sediaan darah sudah kering sempurna. Penggunaan minyak imersi tidak boleh banyak, dan posisi meja mikroskop tidak boleh miring agar imersi tidak mengalir. Pemeriksaan dimulai dari pembesaran okuler 10x dan objektif 10x, apabila objek sudah focus baru lensa objektif 100x diputar, kalau kurang focus yang diputar mikrometernya sampai objek terlihat jelas. Memutar micrometer harus dilakukan perlahan-lahan dan jangan memutar micrometer dengan paksa (Rahmad and Purnomo, 2011).

*Plasmodium* dengan pewarnaan Giemsa mempunyai ciri-ciri yaitu (Rahmad and Purnomo, 2011):

- inti berwarna merah, jumlah inti satu atau lebih
- sitoplasma berwarna biru muda, bentuk beragam seperti ring, kompak, amuboid, berbentuk seperti pita, nyala api (*flame form*), bulat, oval, atau seperti pisang, tergantung stadium atau spesies

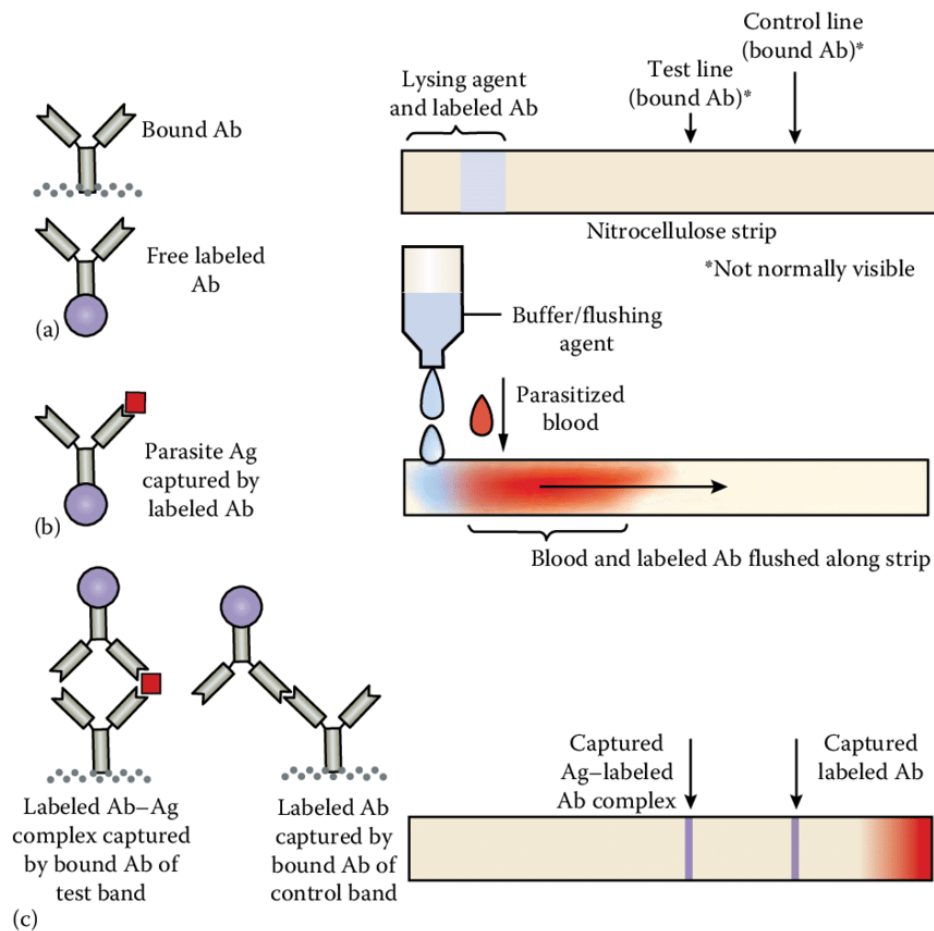
- pigmen dalam sitoplasma berwarna beragam, kuning tengguli, tengguli tua, coklat tua atau hitam, tergantung spesies.

Pada apusan darah tipis dapat dilihat eritrosit yang terinfeksi parasit malaria membesar atau tidak, berubah bentuk atau tidak, terdapat titik atau tidak, titik yang ditemukan halus atau kasar. Apusan darah tipis dapat lebih mudah untuk mengidentifikasi spesies *Plasmodium* karena eritrosit masih terlihat utuh, struktur parasit lebih jelas tetapi jumlahnya lebih sedikit.

Pada apusan darah tebal, jumlah darah lebih banyak, sehingga jumlah parasit lebih padat dan lebih mudah ditemukan. Eritrosit tidak tampak karena sengaja dibuat lisis pada proses pembuatan preparat malaria. Pemeriksaan mikroskopik dengan sediaan darah tebal mampu mendeteksi *Plasmodium* tunggal maupun campuran karena parasit berkumpul sehingga mudah untuk dilihat namun tidak dapat melihat spesies dan stadium parasit (Rahmad and Purnomo, 2011; Sutanto *et al.*, 2008).

#### **b. Rapid Diagnostic Test (RDT)**

RDT merupakan metode imunokromatografi, dimana pada beberapa titik di kertas nitroselulosa diletakkan antibodi monoklonal terhadap beberapa antigen malaria yang spesifik sehingga pada penderita positif akan terjadi reaksi antigen-antibodi yang tervisualisasi dalam bentuk garis. Ada tiga macam antigen malaria yang digunakan yaitu *histidine rich protein-2* (HRP-2), *lactate dehydrogenase* (LDH), dan aldolase (Harijanto *et al.*, 2009).



Gambar 4. Cara kerja RDT malaria

(Sumber: WHO 2011)

*Histidine rich protein-2* merupakan protein yang disekresikan oleh gametosit dan berbagai stadium aseksual *P. falciparum*. HRP-2 dapat mendiagnosis secara spesifik adanya infeksi *P. falciparum* karena protein ini tidak ditemukan pada spesies lain *Plasmodium*. Antigen lain berupa enzim pLDH dan aldolase ditemukan dalam *glycolytic pathway* parasit malaria yang disekresikan oleh stadium seksual dan aseksual semua jenis *Plasmodium* manusia (*P. falciparum*, *P. ovale*, *P. vivax*, dan *P. malariae*).

LDH dapat dikombinasikan dengan HRP-2 untuk mendeteksi infeksi campuran (Hariyanto *et al.*, 2009; Sutanto *et al.*, 2008).

Penggunaan RDT sederhana dan cepat karena hasilnya dapat dibaca dalam waktu  $\pm 15$  menit. Selain itu tes ini tidak memerlukan keterampilan khusus, hanya memerlukan sedikit latihan. Alatnya sederhana, kecil, dan tidak memerlukan aliran listrik (Sutanto *et al.*, 2008).

Kelemahan RDT adalah (Sutanto *et al.*, 2008):

- a. kurang sensitif bila jumlah parasit dalam darah sedikit ( $<100$  parasit/ $\mu\text{L}$  darah),
- b. tidak dapat mengukur densitas parasit (secara kuantitatif),
- c. antigen yang masih beredar beberapa hari atau minggu setelah parasit hilang memberikan reaksi positif palsu,
- d. gametosit muda mungkin masih dapat dideteksi,
- e. tidak stabil pada suhu ruang  $> 30^\circ\text{C}$ .

Hasil positif palsu (*false positive*) yang disebabkan antigen residual yang beredar dan gametosit muda dalam darah biasanya ditemukan pada penderita tanpa gejala. Selain itu positif palsu juga ditemukan pada orang yang mengandung faktor rheumatoid dalam darahnya (Sutanto *et al.* 2008).

Hasil negatif palsu (*false negative*) juga dapat ditemukan pada penderita baik dengan jumlah parasit rendah ( $<100$  parasit/ $\mu\text{L}$ ) atau bahkan dengan jumlah parasit yang tinggi ( $>10.000$  parasit/ $\mu\text{L}$ ). Pada penderita dengan parasitemia rendah, antigen yang diproduksi kurang sehingga tidak terdeteksi. Sebaliknya pada penderita dengan jumlah parasit yang tinggi,

terjadi reaksi *prozona* yang mengakibatkan ikatan Ag-Ab tidak optimal karena antibodi yang ada tidak cukup banyak untuk berikatan dengan antigen. Sehingga pemeriksaan parasit malaria dengan menggunakan metode RDT bukanlah pemeriksaan yang dapat berdiri sendiri, karena itu RDT hanya merupakan komponen tambahan pada pemeriksaan mikroskopik (Harijanto *et al.*, 2009).

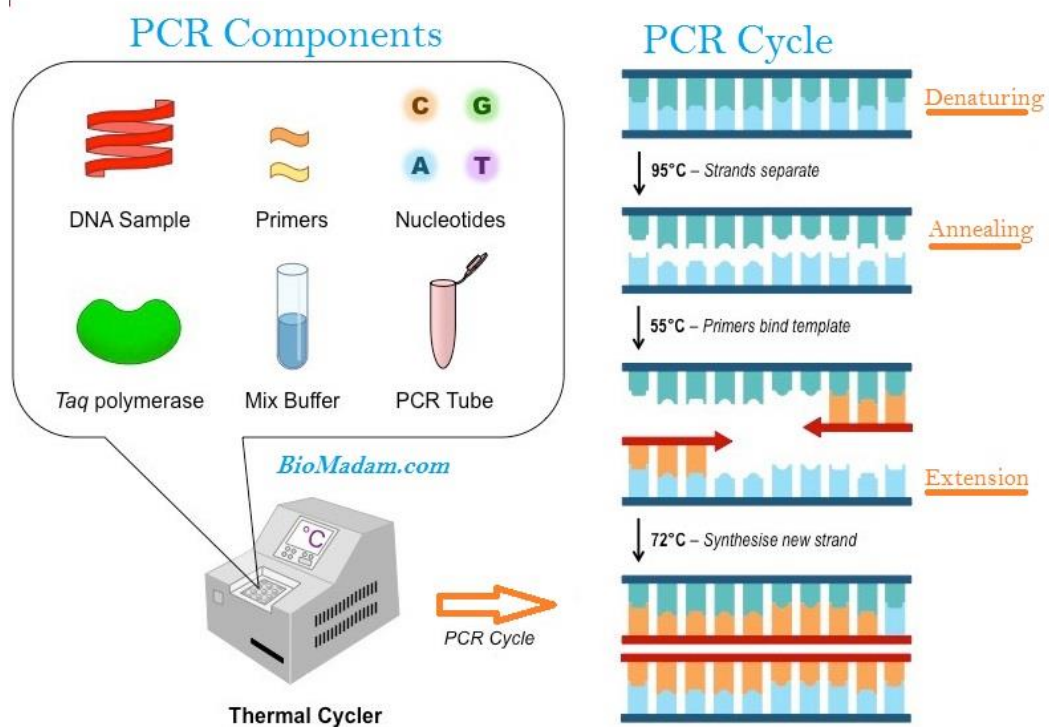
### **c. Polymerase Chain Reaction (PCR)**

*Polymerase Chain Reaction* (PCR) merupakan suatu metode enzimatik untuk mengamplifikasi segmen DNA secara invitro. Ada tiga tahap reaksi dalam metode PCR yaitu (Harijanto, 2000):

- a. Tahap denaturasi merupakan tahap pemisahan DNA untai ganda menjadi DNA untai tunggal.
- b. Tahap *annealing* merupakan tahap penempelan primer spesifik dengan DNA *template*.
- c. Tahap pemanjangan (*extension*) merupakan tahap yang berfungsi memperbanyak DNA untai ganda yang terbentuk pada tahap *annealing* menjadi ribuan kali lebih banyak dengan katalisator enzim polimerase.

PCR membutuhkan beberapa substansi sebagai bahan baku, yaitu sepasang primer, DNA target (DNA yang akan dilipatgandakan), enzim polimerase, dNTP, *kation divalent* seperti magnesium klorida, dan buffer. Primer merupakan oligonukleotida yang komplemen terhadap DNA target berjumlah dua buah atau sepasang. Enzim polimerase merupakan enzim yang berperan dalam proses sintesis atau pemanjangan untai DNA baru,

umumnya menggunakan enzim Taq Polimerase. dNTP merupakan molekul bahan baku pembentuk untai DNA baru, terdiri atas dATP, dTTP, dGTP, dan dCTP. Magnesium klorida menyediakan molekul  $Mg^{2+}$  yang berfungsi sebagai kofaktor enzim polimerase. Buffer yang digunakan dalam PCR umumnya adalah Tris-HCl (Loeffelholz, 2006).



Gambar 5. Komponen dan proses PCR

(Sumber: <https://www.biomadam.com/types-of-pcr>)

Gen small-subunit rRNA mengandung sekuens yang spesifik, baik untuk genus maupun spesies sehingga dapat digunakan untuk membedakan spesies *Plasmodium* manusia. Snousnou *et al.* 1993 menggunakan primer oligonukleotida yang spesies spesifik dengan amplifikasi PCR untuk diagnosis keempat spesies *Plasmodium*.

Peningkatan sensitivitas dilakukan dengan melakukan nested PCR, yaitu amplifikasi tahap-2 dengan menggunakan rangkaian primer dalam target sekuens yang pertama (Snousnou *et al.*, 1993).

Diagnosis dengan PCR merupakan metode yang paling sensitif dalam mendeteksi parasit malaria dalam darah dan dapat mendeteksi malaria dengan parasitemia rendah (1 parasit/ $\mu$ L). Selain itu dengan PCR ketepatan dalam diagnosis spesies lebih dapat dipercaya. Beberapa laporan mendeteksi malaria tunggal dengan pemeriksaan mikroskopik, namun dengan pemeriksaan PCR mendeteksi adanya infeksi campuran. Dengan menggunakan small-subunit 18S rRNA sebagai primer, berbagai spesies Plasmodium manusia dapat dibedakan. Kekurangan PCR yaitu biaya yang mahal (Harijanto *et al.*, 2009).

Beberapa variasi teknik PCR yaitu:

1. Nested PCR; variasi dari PCR yang menggunakan 2 pasang primer untuk mengamplifikasi fragmen DNA. Pasangan primer pertama mengamplifikasi fragmen DNA dengan cara kerja yang mirip dengan PCR pada umumnya sedangkan pasangan primer kedua akan mengamplifikasi fragmen DNA dari produk PCR pertama sehingga hasil fragmen yang diperoleh lebih pendek dari yang pertama. Kelebihan menggunakan nested PCR adalah jika terdapat fragmen yang salah teramplifikasi maka kemungkinan bagian tersebut diamplifikasi untuk kedua kalinya oleh primer yang kedua sangat rendah, oleh karena itu nested PCR lebih spesifik dalam melakukan

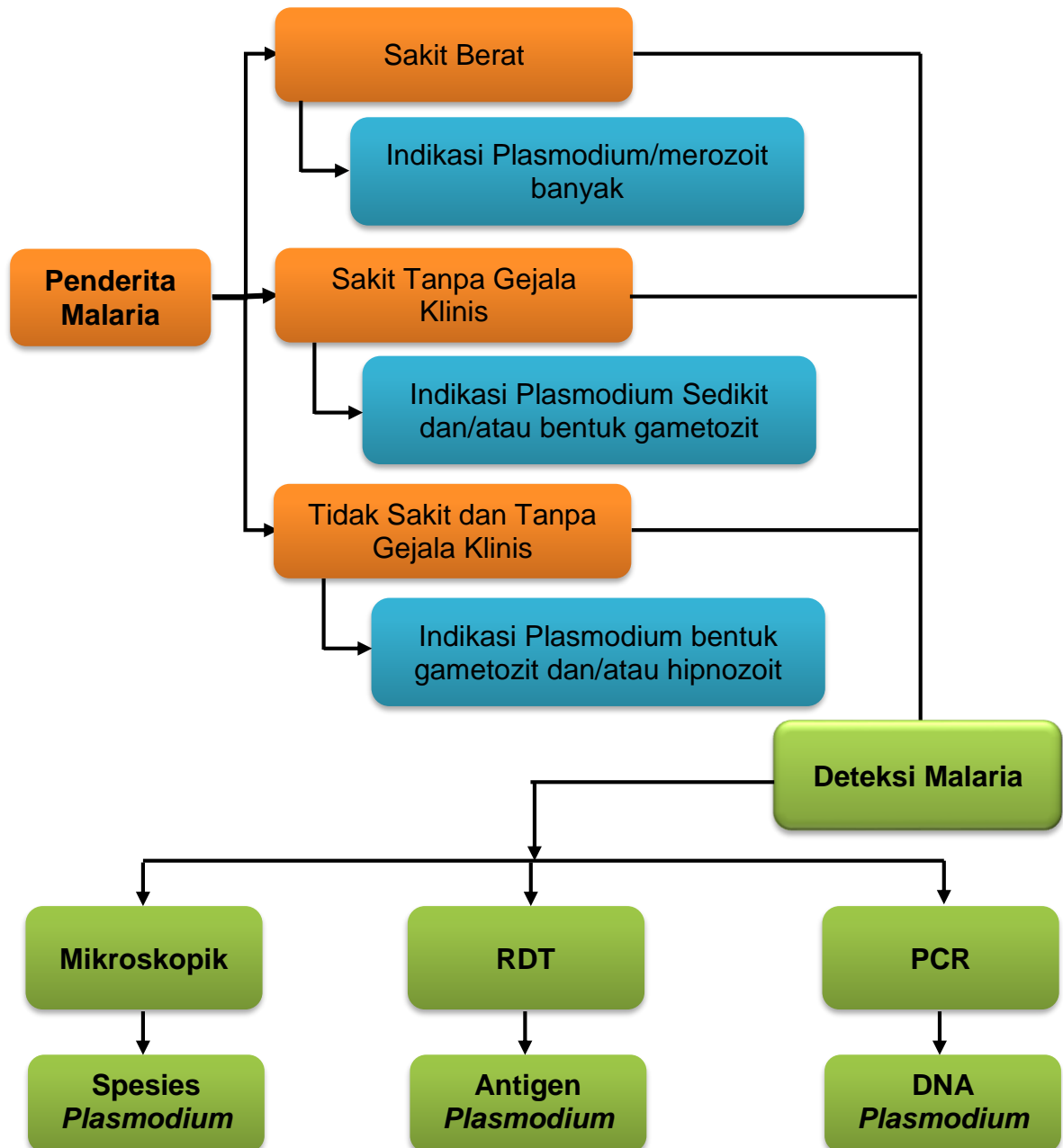
amplifikasi. Nested PCR merupakan modifikasi dari PCR yang dirancang untuk meningkatkan sensitivitas dan spesifisitas (Car et al. 2010; Wanger et al. 2017).

2. Quantitative-PCR atau Real Time PCR; teknik ini memiliki kemampuan untuk mengukur jumlah produk gen dalam sampel selama reaksi siklus PCR. qPCR dapat digunakan secara kualitatif (menentukan apakah ada produk DNA), semikuantitatif (menentukan apakah jumlah DNA target lebih atau kurang dari ambang batas tertentu), atau kuantitatif (sebenarnya mengukur jumlah DNA target). qPCR juga dapat dilaporkan dalam hal kuantifikasi absolut versus relatif. Dalam kuantifikasi absolut, kurva yang dihasilkan oleh qPCR dibandingkan dengan kurva qPCR yang dihasilkan oleh standar DNA, dan kurva akan memberikan nomor salinan absolut dari urutan yang ditargetkan selama setiap siklus qPCR. Kuantifikasi relatif dilakukan dengan membandingkan kuantitas sekuens target dengan sekuens referensi kontrol (atau dikenal sebagai *gen house keeping*) yang dijalankan pada waktu yang sama dengan sekuens target pada qPCR. Salah satu nilai penting yang perlu diketahui pada qPCR adalah nilai *cycle threshold* (Ct), yaitu jumlah siklus PCR yang diperlukan sinyal fluoresen untuk melewati ambang batas untuk menyebut reaksi positif. Nilai Ct yang rendah berarti ada lebih banyak nukleotida target dalam sampel dan nilai Ct yang tinggi berarti ada lebih sedikit nukleotida target dalam sampel (Wanger et al. 2017).



3. *Reverse Transcriptase (RT-PCR)*; informasi genetik yang digunakan adalah RNA dan *reverse transcriptase* digunakan untuk mengcover RNA menjadi DNA komplementer (cDNA) dan kemudian cDNA dijalankan pada mesin PCR (Wanger et al. 2017).
4. *Multipleks PCR*; memungkinkan amplifikasi beberapa target berbeda dalam satu tube secara bersamaan. Metode PCR ini menggunakan beberapa pasang primer. Beberapa pasang primer akan menargetkan beberapa sekuens dalam *DNA template* dan menghasilkan beberapa ampikon yang berbeda. Dengan multipleks PCR beberapa ampikon dapat diidentifikasi dalam satu reaksi, bukan hanya satu ampikon dalam setiap reaksi. Sehingga metode ini lebih menghemat waktu, reagen, dan sampel, serta membandingkan beberapa ampikon secara simultan (Wanger et al. 2017).

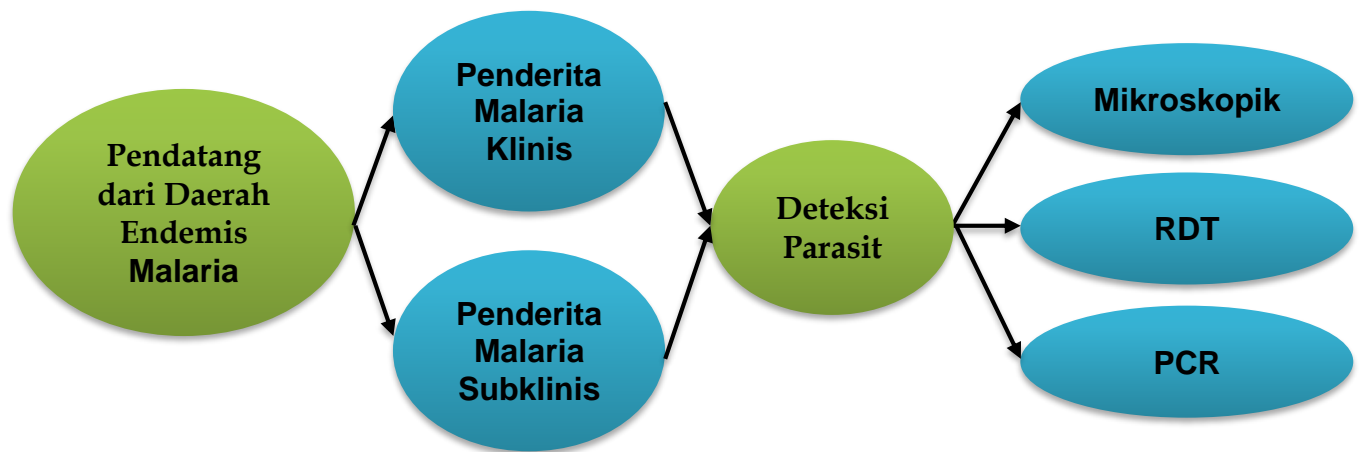
## B. Kerangka Teori



Gambar 6. Kerangka Teori

### C. Kerangka Konseptual

Berdasarkan dari uraian dan latar belakang, tinjauan pustaka, dan teori-teori sebagaimana telah dijelaskan, maka sebagai Kerangka Pemikiran dari penelitian ini dapat digambarkan sebagai berikut:



Gambar 7. Kerangka Konseptual

### D. Hipotesis

Adapun hipotesis dalam penelitian ini yaitu ditemukan *Plasmodium Spp.* pada pendatang dari daerah endemis yang tidak terdeteksi melalui pemeriksaan mikroskopik, RDT dan PCR.