

MAJALAH KEDOKTERAN

# SRIWIJAYA



---

ISSN 0852-3835

MKS, Th. 45 No. 1, Januari 2013

*MKS, Th. 45, No. 1, Januari 2013*



**MAJALAH KEDOKTERAN SRIWIJAYA**  
**ISSN 0852-3835**

---

Penanggung Jawab : Prof. dr. Zarkasih Anwar, SpA(K)  
Pemimpin Umum : dr. Erial Bahar, MSc  
Ketua Penyunting : Prof. dr. Hermansyah, SpPD-KR  
Wakil Ketua Penyunting : dr. Syarif Husin, MS  
Anggota Penyunting : Prof. Dr. dr. H.M.T. Kamaluddin, MSc  
Prof. dr. H. Rusdi Ismail, SpA(K)  
Prof. dr. KHM. Arsyad, DABK, Sp.And  
Prof. dr. A. Kurdi Syamsuri, M.MedEd, SpOG(K)  
Prof. dr. Chairil Anwar, DAP&E, Sp.Park, PhD  
Prof. dr. Akmal Sya'roni, DTM, SpPD-KTI  
Prof. dr. Ali Ghanie, SpPD, KKV  
Prof. dr. Theresia L. Toruan, SpKK(K)  
Prof. dr. Hardi Darmawan, DTM&H, MPH, FR, RSTM  
Prof. dr. Tan Malaka, MOH, PhD  
Dr. dr. Yuwono, M. Biomed  
dr. Mutiara Budi Azhar, SU, M.MedSc  
Pelaksana Tata Usaha : Masito Meiliani, A.Md  
Alamat Redaksi : Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya  
Jln. Dr. Moh. Ali Kompleks RSMH Palembang 30126  
Telp. 0711-352342, Fax. 0711-373438  
Email : [jurnalfkunsri@yahoo.co.id](mailto:jurnalfkunsri@yahoo.co.id)

Daftar Isi

Artikel Penelitian

Nilai Diagnostik <i>Rapid Yeast Test</i> Untuk Diagnosis Kandidiasis Vulvovaginal Pada Wanita Pekerja Seks Komersial di Klinik Graha Sriwijaya Palembang. <i>R.M. Suryadi Tjekyan, Athuf Thaha</i> .....	1
Efek Pemberian Serbuk Teripang ( <i>Stichopus Variegatus</i> ) Jangka Panjang Terhadap Kadar Gula Darah Tikus Putih Jantan Galur Wistar Model Hiperqlikemik. <i>Fitriah, Theodorus, M.T. Kamaluddin</i> .....	5
Efektivitas Serum Otolog Intramuskular Pada Pasien Urtikaria Kronik di RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang. <i>M. Athuf Thaha, R.M. Suryadi Tjekyan</i> .....	11
Pengaruh Pemberian Ekstrak Pare ( <i>Momordica Charantia,L</i> ) Terhadap Struktur Histologi Prostat dan Vesikula Seminalis Tikus Jantan ( <i>Rattus Norvegicus</i> ) Strainsprague Dawley. <i>Meirinda Handayani, Arsyad, Salni</i> .....	25
Spesifikasi Pola Dermatoglifi Penderita Retardasi Mental Pada Siswa SLB YPAC Palembang <i>Rita Kustiati, Triwani, Herman Yasin, Joko Marwoto</i> .....	34
Sensitivitas dan Spesifisitas Metode Polymerase Chain Reaction Pada Pemeriksaan <i>Brugia Malayi</i> di Desa Sungai Rengit Murni Kabupaten Banyuasin <i>Rini Pratiwi, Chairil Anwar, Mgs.Irsan Saleh, Theodorus</i> .....	41
Efek Nefrotoprotektif Teripang Emas ( <i>Stichopus Variegatus</i> ) Pada Tikus Jantan Dewasa Galur Wistar Yang Diinduksi Parasetamol Dosis Toksik. <i>Ismantoro, Kamaludin, M.T., Theodorus, Sulastri, H.</i> .....	52
Pengaruh Pemberian Jus Buah Tomat ( <i>Solanum Lycopersicum</i> ) Terhadap Kadar Antioksidan Pada Ibu Hamil Trimester Ketiga Pasca Seram Hamil <i>Abdul Kadir Hasan</i> .....	59
<b>Tinjauan Pustaka</b>	
Aspek Imunologi Hepatitis B <i>Yusmala, Aryuni</i> .....	65
Nt-ProBNP Sebagai Biomarker Pada Gagal Jantung Anak <i>Zakaria Mukalla, Ria Nova</i> .....	71
<i>Millenium Developmental Goals</i> : Pencapaian Indonesia di Bidang Kesehatan Anak <i>Desmansyah, Rismarini</i> .....	77
Filer Dermal <i>Efi Sandri, Tantawi Djauhari</i> .....	88

## Sensitivitas dan Spesifisitas Metode Polymerase Chain Reaction Pada Pemeriksaan *Brugia Malayi* di Desa Sungai Rengit Murni Kabupaten Banyuasin

Rini Pratiwi<sup>1</sup>, Chairil Anwar<sup>2</sup>, Mgs.Irsan Saleh<sup>3</sup>, Theodorus<sup>3</sup>

1. Program Studi Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya, Palembang
2. Bagian Parasitologi, Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya, Palembang
3. Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya, Palembang

### Abstrak

Filariasis limfatik merupakan penyakit disebabkan oleh parasit filaria menyerang kelenjar dan pembuluh getah bening, yang ditularkan melalui berbagai jenis nyamuk. Kabupaten Banyuasin merupakan daerah endemis filariasis. Jumlah penderita kronis filariasis hingga tahun 2011 sebanyak 142 orang. Sampai dengan saat ini, filariasis masih menjadi masalah kesehatan di Kabupaten Banyuasin. Baku emas pemeriksaan parasit *Brugia malayi* adalah menemukan parasitnya, yaitu dengan menggunakan metode pengecatan Giemsa. Perbedaan mendasar antara metode Giemsa dengan metode Polymerase Chain Reaction (PCR) terletak pada kemampuan mendeteksi parasit. Metode Giemsa hanya mampu mendeteksi mikrofilaria secara utuh sedangkan metode PCR dapat mendeteksi parasit *Brugia malayi* melalui DNA parasit *Brugia malayi* yang terdapat dalam sistem peredaran darah. Tujuan penelitian ini secara umum ialah untuk mengetahui sensitivitas dan spesifisitas metode PCR dibandingkan sediaan darah tepi dengan pengecatan Giemsa dalam mendeteksi mikrofilaria *Brugia malayi*. Penelitian ini merupakan uji diagnostik yang dilakukan di Desa Sungai Rengit Murni Kecamatan Talang Kelapa Kabupaten Banyuasin, UPT Puskesmas Sukajadi dan Laboratorium Mikrobiologi RSMH Palembang. Subyek penelitian ini berjumlah 164 orang yang diambil secara Simple Random Sampling. Semua subyek diambil sampel darahnya yang berasal dari darah jari dan darah vena. Metode pemeriksaan dilakukan dengan cara pewarnaan Giemsa dan metode PCR. Semua data yang diperoleh diolah dan dianalisis dengan menggunakan SPSS versi 18.0 dan Med calc statistic software versi 12.5.0.

Berdasarkan hasil penelitian, dari 164 sampel yang diperiksa dengan metode Giemsa 1 orang (0,6%) positif dan dengan metode PCR sebanyak 4 orang (2,4%). Metode PCR dibandingkan metode Giemsa sensitivitasnya 100%, spesifisitas 98,16%, nilai duga positif 25% dan nilai duga negatif 100%.

**Kata kunci:** Filariasis, Mikrofilaria, DNA parasit *Brugia malayi*, Giemsa, PCR.

### Abstract

Sensitivity and Specificity of Polymerase Chain Reaction Methods for Detection *Brugia malayi* in Sungai Rengit Murni village Banyuasin Regency South Sumatera Province. Lymphatic filariasis is a disease caused by filarial parasites invade lymph nodes and vessels, which transmitted by various species of mosquitoes. Banyuasin Regency is an endemic filariasis areas. Number of patients with chronic filariasis in year 2011 were 142. Until now, filariasis still remains a health concern in Banyuasin. Gold standard detection was founded parasite *Brugia malayi* by Giemsa staining method. Fundamental difference between Giemsa and Polymerase Chain Reaction (PCR) is the ability to detect parasites. Giemsa detect only microfilariae intact whereas PCR detect parasite *Brugia malayi* through the DNA contained in the circulatory system. This study was purposed to determine the sensitivity and specificity of the PCR compared to blood slide with Giemsa in detection of *Brugia malayi*. This study was diagnostic test conducted in Sungai Rengit Murni Village Banyuasin Regency, UPT Puskesmas Sukajadi and Laboratorium Mikrobiologi RSMH Palembang. Study subjects were 164 subjects who fulfilled inclusion criteria collected by Simple Random Sampling. Blood samples taken from finger blood and venous blood. Detection of *Brugia malayi* used Giemsa and PCR method. All data was analyzed by SPSS version 18.0 and Med cal statistic software version 12.5.0 **Result.** Detection *Brugia malayi* from 164 subjects, Giemsa founded 1 subject (0.6%) was positive and PCR 4 subjects (2.4%) were positive. The sensitivity of PCR was 100%, specificity was 98.16%, positive predictive value was 25% and negative predictive value was 100%.

**Keywords:** Filariasis, Microfilariae, DNA parasite of *Brugia malayi*, Giemsa, PCR.

No. REG. PUBLIKASI DOSEN UPKK FAKULTAS KEDOKTERAN UNSRI	
TGL	23 OKTOBER 2014
No REG	014 09 06 01 13 04 - 01412



## 1. Pendahuluan

Filariasis limfatik merupakan penyakit disebabkan oleh parasit filaria menyerang kelenjar dan pembuluh getah bening, yang ditularkan melalui berbagai jenis nyamuk. Terdapat tiga spesies cacing penyebab filariasis limfatik di Indonesia yaitu: *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* dan *Brugia timori*, namun lebih dari 70% kasus filariasis di Indonesia disebabkan *Brugia malayi*.<sup>1</sup>

Cacing tersebut hidup di kelenjar dan saluran getah bening sehingga menyebabkan kerusakan pada sistem limfatik yang menimbulkan gejala akut dan kronis. Untuk menimbulkan gejala klinis penyakit filariasis diperlukan beberapa kali gigitan nyamuk terinfeksi filaria dalam waktu yang lama. Gejala akut berupa peradangan kelenjar dan saluran getah bening (*adenolimfangitis*) terutama di daerah pangkal paha dan ketiak tapi dapat pula di daerah lain. Gejala kronis terjadi akibat penyumbatan aliran limfe terutama di daerah yang sama dengan terjadinya peradangan dan menimbulkan gejala seperti kaki gajah (*elephantiasis*) dan *hidrokel*.<sup>2</sup>

Di dunia 90% kasus filariasis yang disebabkan oleh *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* dan *Brugia timori*. Diperkirakan terdapat lebih dari 23 spesies vektor nyamuk penular filariasis terdiri dari genus *Anopheles*, *Aedes*, *Culex*, *Mansonia* yang dapat mendukung perkembangan filariasis *bancrofti* dan *brugia*. Pada filariasis *bancrofti* vektor potensial adalah *Anopheles sp.*, *Aedes sp.* dan *Culex sp.*, sedangkan filariasis *brugia* adalah *Anopheles sp.* dan *Mansonia sp.*<sup>3</sup>

Ada 115 juta manusia terinfeksi cacing filaria di daerah tropis dan subtropis, meliputi Asia Pasifik, Afrika, Amerika Selatan serta Kepulauan Karibia. Spesies dengan periodisitas subperiodik ditemukan di Kepulauan Pasifik dengan vektor *Aedes*, sebagian besar memiliki periodisitas nokturnal dengan vektor *Culex fatigans* dan *Culex quinquefasciatus*. Menurut Daniel (2006)<sup>4</sup> dan Hasrul (2008) di Indonesia vektor *Culex* juga biasanya ditemukan didaerah urban, sedangkan vektor *Aedes* dapat ditemukan di daerah rural.<sup>4</sup>

WHO (2004) menyatakan, saat ini diperkirakan larva cacing filaria telah menginfeksi lebih dari 700 juta orang di dunia, dimana 60 juta orang diantaranya (64%) terdapat di regional Asia Tenggara. Dari 11 negara yang endemis di Asia Tenggara, Indonesia dengan jumlah penduduk terbanyak dan wilayah yang luas memiliki masalah filariasis yang kompleks.<sup>5</sup>

Filariasis menyebar hampir di seluruh wilayah Indonesia. Dari tahun ke tahun jumlah provinsi yang melaporkan kasus filariasis terus bertambah. Bahkan di beberapa daerah mempunyai tingkat endemisitas yang cukup tinggi. Berdasarkan laporan Ditjen PP&PPL Depkes RI tahun 2009, tiga propinsi dengan jumlah kasus

terbanyak filariasis adalah Nanggroe Aceh Darussalam (2.359 orang), Nusa Tenggara Timur (1.730 orang) dan Papua (1.158 orang). Tiga propinsi kasus terendah adalah Bali (18 orang), Maluku Utara (27 orang) dan Sulawesi Utara (30 orang).<sup>2</sup>

Tingkat endemisitas di Indonesia berkisar 0%-40%. Dengan demikian endemisitas setiap propinsi dan kabupaten berbeda-beda. Untuk menentukan endemisitas dilakukan survei darah jari yang dilakukan di setiap kabupaten/kota. Dari hasil survei tersebut, hingga tahun 2009 kabupaten/kota yang endemis filariasis adalah 356 kabupaten/kota dari 495 kabupaten/kota yang ada di Indonesia (71,9%) dan 139 kabupaten/kota tidak endemis (28,1%).<sup>2</sup>

Hasil pemetaan yang dilakukan oleh Dinas Kesehatan Propinsi Sumatera Selatan terdapat 185 kasus filariasis yang tersebar di 12 kabupaten/kota dan kasus tertinggi terdapat di Kabupaten Banyuasin.<sup>4</sup>

Kabupaten Banyuasin merupakan daerah endemis filariasis. Tingkat endemisitasnya berdasarkan survei tahun 1983-2002 cukup tinggi dengan rata-rata *mikrofilaria rate* 2,02%. Jumlah penderita kronis filariasis hingga tahun 2011 sebanyak 142 orang. Sampai dengan saat ini, filariasis masih menjadi masalah kesehatan di Kabupaten Banyuasin, sehingga program eliminasi kaki gajah (ELKAGA) dengan pemberian DEC (*Diethylcarbamazine*) terus berjalan.<sup>6</sup>

Berdasarkan laporan survei penyakit kaki gajah Kabupaten Banyuasin tahun 2009, pada pemeriksaan survei darah jari yang dilakukan di Kecamatan Talang Kelapa ditemukan 2 orang teridentifikasi positif mikrofilaria dan 19 orang kronis filariasis. Tahun 2010 ditemukan 2 orang positif mikrofilaria, dan 21 orang kronis filariasis. Tahun 2011 tidak ditemukan mikrofilaria positif, namun kronis filariasis sebanyak 20 orang.<sup>6</sup>

Penelitian pendahuluan yang penulis lakukan di desa Sungai Rengit Murni Kecamatan Talang Kelapa Kabupaten Banyuasin pada tanggal 03 Maret 2012, dari 38 orang responden didapatkan 1 orang mikrofilaria positif dan 2 orang filariasis kronis. Sementara di desa Gasing Kecamatan Talang Kelapa, dilakukan pemeriksaan pada 71 responden dan 3 ekor kucing namun tidak satupun mikrofilaria positif tetapi dijumpai 3 orang filariasis kronis.

Saat ini diagnosis filariasis masih dilakukan secara konvensional dengan menemukan mikrofilaria dalam darah yang diambil pada malam hari. Pemeriksaan mikrofilaria dilakukan pada sediaan darah tebal dan diwarnai dengan pewarnaan Giemsa.<sup>7</sup>

Baku emas untuk menentukan penyakit akibat infeksi parasit adalah menemukan parasit tersebut dalam

keadaan hidup maupun mati. Pada filariasis, parasit berupa cacing dewasa hampir tidak mungkin ditemukan secara utuh karena terletak di dalam pembuluh limfe yang dalam dan berkelok-kelok. Karenanya diagnosis filariasis ditegakkan dengan penemuan mikrofilaria di darah tepi malam hari atau lazim dikenal sediaan darah malam. Tapi tak jarang pula orang yang diperkirakan memiliki diagnosis filariasis ternyata tidak ditemukan mikrofilaria di darah. Kemungkinan hal ini akibat pengambilan sediaan darah yang kurang tepat atau memang stadium parasit sudah selesai melewati mikrofilaria dan beranjak menjadi cacing dewasa.<sup>7 dkk,</sup>

Infeksi yang ditandai adanya mikrofilaria atau adanya cacing dewasa dapat dideteksi dengan pemeriksaan antigen, *Polymerase Chain Reaction* (PCR) atau dengan *ultrasonografi*. Dengan cara ini dapat ditemukan penderita filariasis yang tidak dapat didiagnosis dengan cara konvensional.<sup>4</sup>

Alat untuk diagnostik, monitoring dan evaluasi program filariasis nasional tergantung pada sensitivitas dan spesifisitas alat, kemudahan membawa alat ke lapangan, teknik dan keunggulan alat serta biaya. Diantaranya adalah: *blood film* untuk mendeteksi mikrofilaria, tes urtik mendeteksi antigen *Wuchereria bancrofti* contohnya *Immunochromatography* (ICT) dan *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), deteksi antibodi filaria untuk *Brugia spp* contohnya *Brugia Rapid* tes dan teknik PCR untuk mendeteksi DNA parasit pada manusia dan nyamuk.<sup>8,9</sup>

Dengan berkembangnya teknik biomolekuler, DNA dapat digunakan untuk mendeteksi adanya *Brugia malayi* dalam darah penderita filariasis maupun dalam nyamuk. *Polymerase chain reaction* adalah suatu teknik *in vitro* untuk memperbanyak DNA spesifik secara enzimatis pada suatu siklus DNA yang telah diketahui. Teknik tersebut mampu mendeteksi DNA *Brugia malayi* murni dalam 50 µl darah.<sup>7</sup>

Perbedaan mendasar antara metode konvensional dan metode PCR terletak pada kemampuan mendeteksi parasit filaria. Metode konvensional hanya mampu mendeteksi mikrofilaria secara utuh, sedangkan metode PCR dapat mendeteksi parasit *Brugia malayi* melalui DNA parasit yang berada dalam sistem peredaran darah. DNA yang terdeteksi dapat berasal dari sel tubuh mikrofilaria dan sel tubuh cacing filaria dewasa hidup yang lepas atau yang mati karena proses imunologi dan pengobatan.<sup>7</sup>

Diperlukan tes yang tidak memerlukan waktu lama dalam mendeteksi parasit filaria *Brugia malayi* karena metode konvensional memakan waktu lama dan spesifisitasnya kecil. Metode PCR dengan menggunakan *Hha I family* sebagai *spesifik primer* dari *DNA sequens*

*Brugia malayi*, hasil yang didapatkan bahwa metode ini memberikan sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi.<sup>10</sup>

Pada *real time PCR* yang didasarkan pada analisis *kurva primer spesifik* yang dipakai untuk mendeteksi *Wuchereria bancrofti* adalah 188bp *SSI DNA repeat sequens* sedangkan *Brugia malayi* adalah 153bp *Hha I repeat DNA sequens*. Pengujian ini bisa membedakan kedua DNA filarial dalam vektor terinfeksi. Teknik ini menunjukkan 100% sensitivitas dan spesifisitas serta merupakan prosedur cepat dan handal untuk mengidentifikasi filariasis limfatik.<sup>11,12</sup>

Deteksi *Wuchereria bancrofti* menggunakan PCR dilakukan dengan mengambil 100µL darah pada sampel. Dari 42 sampel yang diperiksa, 40 yang hasilnya positif dan 2 negatif.<sup>13</sup>

Pada daerah endemis filariasis *Brugia malayi* dengan periodisitas nokturnal di Sulawesi Tengah Indonesia, dilakukan pemeriksaan darah malam pada 36 sampel *mikrofilaremia* (1->50mf/ml) dan 21 *amikrofilaremia*, menggunakan metode PCR. Hasil yang didapatkan sebagai berikut: dengan C-PCR 35 sampel positif, dengan *TagM assay* 34 sampel positif dan *Eclipse MGB assay* 38 positif. Hasil ini menunjukkan bahwa daerah yang kepadatan mikrofilariannya moderat sampai tinggi, dengan 3 pemeriksaan PCR mempunyai sensitivitas yang sama, walaupun jumlah sampel darahnya kecil/sedikit.<sup>14</sup>

Pemeriksaan parasit filaria *Brugia malayi* di daerah endemis Sulawesi Tengah Indonesia, dari 138 sampel darah malam, 44 sampel positif dengan pemeriksaan filtrasi sementara menggunakan teknik PCR-ELISA sebanyak 58 sampel yang positif. Hasil ini menunjukkan bahwa metode PCR-ELISA sensitivitasnya tinggi dibandingkan pemeriksaan filtrasi.<sup>15</sup>

Kontrol internal digunakan pada teknik PCR-ELISA untuk mendeteksi *Hha-I DNA Sequens repeat* pada parasit filaria *Brugia malayi*. PCR dengan primer *Hha I* dapat mendeteksi *Brugia malayi* yang merupakan agen penyebab filariasis limfatik, memiliki sensitivitas tinggi di laboratorium dibandingkan mikroskopik dan sangat berguna pada pengukuran perubahan transmisi penyakit di lapangan.<sup>16</sup>

Kucing rumah dan monyet merupakan hewan hospes reservoir untuk *Brugia malayi* subperiodik. *Brugia pahangi* adalah mikrofilaria terdapat pada kucing. Secara rutin diagnosis ditegakkan dengan menemukan mikrofilaria (pewarnaan *Giemsa*) menggunakan mikroskop. Namun cukup sulit untuk membedakan *Brugia malayi* dan *Brugia pahangi*. Pemeriksaan DNA dengan PCR merupakan alternatif untuk identifikasi filaria parasit.<sup>17,18</sup>

Dari survei sebanyak 326 sampel darah manusia di daerah endemis Surat Thani dan Narathurath Thailand

diperoleh 5 sampel yang positif *Brugia malayi*. Lima puluh tiga (53) sampel darah kucing yang diperiksa, 15 yang positif.<sup>19</sup>

Berdasarkan latar belakang tersebut, penulis tertarik untuk meneliti lebih lanjut pemeriksaan mikrofilaria menggunakan PCR yang sebelumnya belum pernah dilakukan di Kabupaten Banyuwasin Sumatera Selatan.

## 2. Metode Penelitian

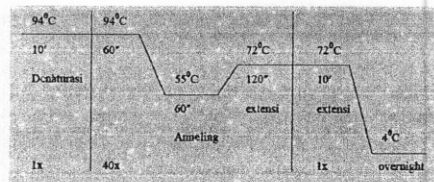
Penelitian ini merupakan uji diagnostik untuk menentukan sensitivitas dan spesifisitas pemeriksaan mikrofilaria dengan menggunakan metode *Polymerase chain reaction/PCR*, sebagai pembanding digunakan baku emas adalah pemeriksaan mikrofilaria dengan metode pengecatan *Giemsa*.

Pada penelitian ini sampel darah diambil dari warga Desa Sungai Rengit Murni Kecamatan Talang Kelapa Kabupaten Banyuwasin, selanjutnya pemeriksaan dilakukan di Laboratorium UPT Puskesmas Sukajadi, Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya dan Laboratorium Mikrobiologi RSMH Palembang.

Populasi adalah warga desa Sungai Rengit Murni yang merupakan populasi terjangkau dan dapat dilakukan sampling untuk dijadikan sampel penelitian.

Ekstraksi DNA yang didapat dari darah dilakukan dengan menggunakan reagen Chelex (katalog number 142-1253 merk Biorad). Hasil ekstraksi akan dilakukan PCR. Sebelumnya dibuat PCR mixed dengan volume total PCR 25µl, terdiri dari 9µl ddH<sub>2</sub>O, 10µl Go Taq Green, 0,5µl Primer Bm forward, 0,5µl Primer Bm reverse, 5µl DNA template. Campuran tersebut diampifikasi menggunakan mesin PCR i-cycler Biorad T 100 (Biorad system, USA).

Pasangan primer reaksi ini:  
reverse: 5' GCG CAA AAC TTA ATT ACA AAA GC 3'  
forward: 5' GCG CAT AAA TTC ATC AGC 3'



Gambar 1. Tahap pemeriksaan PCR Biorad T100

## Optimalisasi PCR

Optimalisasi suhu pada proses amplifikasi DNA dilakukan dengan 8 gradien suhu. Hal ini penting untuk mendapatkan hasil gambaran pita yang maksimal. Adapun gradien suhu yang dilakukan sebagai berikut:



Gambar 2. Optimalisasi dengan 8 gradien suhu

Untuk amplifikasi selanjutnya dilakukan pada suhu 55°C sesuai dengan penelitian sebelumnya oleh Supali dkk (2010).

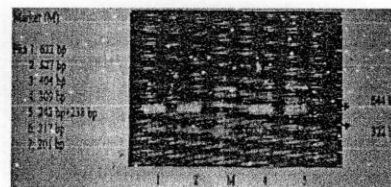
## Elektroforesis dan dokumentasi

Hasil amplifikasi DNA disebut amplicons *Brugia malayi* dapat dideteksi dengan dilakukan *elektroforesis* selama 55 menit dengan menggunakan agarosa 2% (bubur agar 1 gram) dalam larutan dapar TBE 50ml dan ditambahkan ethium bromide 2µl.

Amplicons dari sampel, kontrol positif (berasal dari sampel yang telah diketahui mengandung *Brugia malayi*) dielektroforesis dan DNA hasil *elektroforesis* dapat dilihat di bawah sinar ultraviolet pada apparatus *gel doc Biorad*.

## Pembacaan hasil PCR

Pembacaan hasil PCR dilakukan dengan hasil positif bila terdapat pita pada 322bp atau kadang-kadang 644bp (bentuk *dimer*) dan 966bp (bentuk *trimer*).<sup>7</sup>



Gambar 3. Hasil positif DNA *Brugia malayi* ada pita 322bp, 644bp.<sup>7</sup>

### 3. Hasil dan Pembahasan

#### Karakteristik Subjek Penelitian

Subyek yang datang dan mengikuti penelitian adalah subyek yang memenuhi kriteria inklusi serta sampel darahnya terpenuhi untuk dapat diikutkan pada penelitian adalah sebanyak 164 orang.

Berdasarkan data yang diperoleh, karakteristik subjek penelitian (subyek) dapat dikelompokkan sebagai berikut: karakteristik berdasarkan jenis kelamin, karakteristik berdasarkan usia, karakteristik berdasarkan status pernikahan, karakteristik berdasarkan tingkat pendidikan, karakteristik berdasarkan pekerjaan, karakteristik berdasarkan agama, karakteristik berdasarkan alamat, karakteristik berdasarkan riwayat makan obat profilaksis/Pemberian Obat Massal Pencegahan (POMP) filariasis dan frekuensi makan obat POMP filariasis.

#### 1. Karakteristik Subyek Berdasarkan Jenis Kelamin

Dari 164 orang subyek, jenis kelamin laki-laki yang mengikuti penelitian ini sebanyak 70 orang (42,7%) dan perempuan sebanyak 94 orang (57,3%). Distribusi berdasarkan jenis kelamin secara terinci dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Distribusi Subyek Berdasarkan Jenis Kelamin (n=164)

Jenis kelamin	Jumlah	Persentase
Laki-laki	70	42,7
Perempuan	94	57,3
<b>Jumlah</b>	<b>164</b>	<b>100,0</b>

Berdasarkan data yang diperoleh pada penelitian ini, menunjukkan jenis kelamin perempuan yaitu 94 orang (57,3%) lebih banyak daripada laki-laki 70 orang (42,7%) yang berpartisipasi mengikuti penelitian. Dari wawancara yang dilakukan diketahui bahwa kaum laki-laki baru pulang dari sawah/kebun pada waktu sore menjelang maghrib bahkan ada yang bekerja menjelang malam yaitu mencari katak untuk dijual. Selain itu ada yang menyatakan karena sudah pernah dilakukan pemeriksaan darah jari.

Hasil pemeriksaan, 4 orang yang dinyatakan positif dengan metode PCR, 3 orang diantaranya berjenis kelamin perempuan dan 1 orang laki-laki. Kebiasaan masyarakat di Desa Sungai Rengit Murni pada malam hari beragam seperti mengobrol di luar, menonton televisi, pengajian, tidur tidak menggunakan kelambu, ajang kumpul pemuda-pemudi di luar rumah serta harus bangun pada dini hari untuk bekerja ke sawah/kebun. Hal ini sesuai dengan penelitian Uloli dkk (2008), bahwa di Kabupaten Bonebolango Kecamatan Boneraya distribusi Subyek menurut jenis kelamin terbanyak pada

kelompok jenis kelamin perempuan yaitu 72 (51,4%) dan jenis kelamin laki-laki 68 orang (48,6%).<sup>16</sup> Jumlah kasus filariasis pada jenis kelamin perempuan sebanyak 36 orang dan jumlah kasus filariasis pada jenis kelamin laki-laki sebanyak 34 orang. Dimana sebagian besar mempunyai kebiasaan nonton bersama di luar rumah dan keluar malam hari berkumpul bersama dalam kelompoknya seperti kelompok pengajian, kelompok pemuda untuk mencari hiburan dan untuk kegiatan lainnya, juga masih mempunyai kepercayaan yaitu mencari pertolongan pengobatan ke dukun atau paranormal dan stigma bahwa filarial disebabkan oleh kutukan ataupun faktor keturunan.

Perilaku merujuk kepada kebiasaan keluar rumah pada malam hari. Subyek yang memiliki kebiasaan keluar rumah pada malam hari memiliki peluang 5,4 kali lebih besar untuk menderita penyakit filariasis dibandingkan dengan subyek yang tidak memiliki kebiasaan seperti itu. Pola kebiasaan waktu menggigit nyamuk dewasa yang membentuk dua kali puncak pada malam hari yaitu sesaat setelah matahari terbenam dan menjelang matahari terbit dapat dijelaskan bahwa kondisi tersebut dipengaruhi oleh suhu dan kelembaban udara yang dapat menambah atau mengurangi aktivitas menggigit nyamuk dewasa. Oleh sebab itu, subyek yang memiliki kebiasaan untuk keluar pada malam hari lebih berisiko dibandingkan dengan yang tidak memiliki kebiasaan tersebut.<sup>21</sup>

#### 2. Karakteristik Subyek Berdasarkan Usia

Dari 164 orang yang mengikuti penelitian ini, kelompok usia termuda yaitu 5-9 tahun sebanyak 6 orang (3,7%) dan kelompok usia tertua yaitu 80-84 tahun sebanyak 1 orang (0,6%). Distribusi berdasarkan usia secara terinci dapat dilihat Tabel 2.

Tabel 2. Distribusi Subyek Berdasarkan Usia (n=164)

Usia	Jumlah	Persentase
0-4 tahun	0	0
5-9 tahun	6	3,7
10-14 tahun	18	11,0
15-19 tahun	15	9,1
20-24 tahun	10	6,1
25-29 tahun	8	4,9
30-34 tahun	23	14,0
35-39 tahun	18	11,0
40-44 tahun	21	12,8
45-49 tahun	9	5,5
50-54 tahun	12	7,3
55-59 tahun	10	6,1
60-64 tahun	7	4,3
65-69 tahun	1	0,6
70-74 tahun	4	2,4
75-79 tahun	1	0,6
80-84 tahun	1	0,6
<b>Jumlah</b>	<b>164</b>	<b>100,0</b>



**Gambaran kelompok umur dari subyek yang mengikuti penelitian ini** terbanyak pada usia 30-34 tahun yaitu 23 orang (14%), usia 40-44 tahun sebanyak 21 orang (12,8%). Hal ini sesuai dengan gambaran pada penelitian yang dilakukan Lasbudi dkk (2005) kelompok usia terbanyak yaitu usia 25-50 tahun 111 orang (67,3%).<sup>22</sup> Begitu juga yang dilakukan Santoso dkk (2007) menunjukkan bahwa usia dewasa dan produktif yang lebih banyak yaitu usia 31-46 tahun sebanyak 256 subyek (26,7%).<sup>23</sup> Ini perlu menjadi perhatian sebab hasil penelitian ini juga didapatkan 1 orang berusia 20 tahun, 2 orang berusia 55 tahun dan 1 orang berusia 62 tahun. Penelitian Hermansyah (2009), dari 145 orang yang mengikuti penelitian, 5 orang diantaranya positif filariasis diperiksa dengan metode ELISA, merupakan kelompok usia 20-50 tahun.<sup>4</sup>

Menurut Riftiana dan Soeyoko (2010) orang yang mempunyai umur produktif diperkirakan akan mendapatkan risiko terjadinya filariasis sebesar 1,607 kali lebih besar dari orang yang berumur tidak produktif.<sup>24</sup>

### 3. Karakteristik Subyek Berdasarkan Tingkat Pendidikan

Dari 164 orang subyek, yang mengikuti penelitian ini sebanyak 18 orang (11,0%) tidak sekolah/tidak tamat SD. Sementara sebanyak 109 orang (66,4%) tingkat pendidikannya tamat SD, 27 orang (16,5%) tamat SMP/MTs dan tamat SMA sebanyak 10 orang (6,1%). Distribusi berdasarkan tingkat pendidikan secara terinci dapat dilihat Tabel 3.

**Tabel 3. Distribusi Subyek Berdasarkan Tingkat Pendidikan (n=164)**

Tingkat Pendidikan	Jumlah	Persentase
Tidak Sekolah/Tidak tamat SD	18	11,0
SD	109	66,4
SMP/MTs	27	16,5
SMA	10	6,1
<b>Jumlah</b>	<b>164</b>	<b>100,0</b>

Distribusi subyek berdasarkan tingkat pendidikan pada penelitian ini terbanyak adalah Sekolah Dasar (SD) yaitu 109 orang (66,4%). Subyek yang berpartisipasi pada penelitian ini 4 orang dengan hasil positif, keempatnya berpendidikan SD. Distribusi ini juga sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Lasbudi dkk (2005) bahwa subyek dengan tingkat pendidikan tamat SD yaitu sebanyak 64 orang (38,8%), demikian pula yang dilakukan Santoso dkk (2007) Subyek terbanyak adalah dengan tingkat pendidikan tamat SD sebanyak 240 orang (24,8%).

Menurut Uloli dkk (2008) pengetahuan rendah akan memberi peluang dua kali lebih besar terjadi filariasis dibandingkan dengan yang mempunyai pengetahuan tinggi.

### 4. Karakteristik Subyek Berdasarkan Pekerjaan

Dari 164 orang Subyek, yang mengikuti penelitian ini sebanyak 5 orang (3,0%) tidak memiliki pekerjaan. Sementara 11 orang (6,7%) pekerjaannya buruh, 46 orang (28,1%) ibu rumah tangga, 17 orang (10,4%) swasta dan 53 orang (32,3%) pekerjaannya bertani. Distribusi Subyek berdasarkan pekerjaan secara terinci dapat dilihat Tabel 4.

**Tabel 4. Distribusi Subyek Berdasarkan Pekerjaan (n=164)**

Pekerjaan	Jumlah	Persentase
Tidak kerja	5	3,0
Buruh	11	6,7
Ibu Rumah Tangga	46	28,1
Pelajar	32	19,5
Swasta	17	10,4
Tani	53	32,3
<b>Jumlah</b>	<b>164</b>	<b>100,0</b>

Jenis pekerjaan terbanyak dari subyek yang mengikuti penelitian ini adalah tani yaitu 53 orang (32,3%) dan Ibu Rumah Tangga (IRT) sebanyak 46 orang (28,1%). Gambaran ini serupa dengan yang diteliti oleh Lasbudi dkk (2005) pekerjaan terbanyak adalah petani yaitu 131 (79,4%) dan Hermansyah (2009) jenis pekerjaan terbanyak tani yaitu 76 orang (49%). Dari penelitian ini 4 orang positif diketahui 1 orang tidak bekerja, 2 orang IRT dan 1 orang tani. Menurut Santoso dkk (2007) sebagian besar penderita filariasis tidak bekerja yaitu 365 orang (37,7%).

Riftiana dan Soeyoko (2010) pada penelitiannya mendapatkan bahwa orang yang mempunyai pekerjaan selain petani yang dilakukan pada malam hari di luar rumah/ruangan diperkirakan akan mendapatkan risiko terjadinya filariasis sebesar 3,519 kali lebih besar daripada orang yang bekerja siang hari.

### 5. Karakteristik Subyek Berdasarkan Alamat

Pada tabel di bawah terlihat bahwa dari 164 subyek yang datang/hadir beralamat di RT 1 sebanyak 31 orang (18,9%), RT 2 sebanyak 21 orang (12,8%), RT 3 10 orang (6,1%), RT 7 orang (4,3%), RT 5 2 orang (1,2%), RT 6 23 orang (14,0%), RT 7 13 orang (7,9%), RT 8 6 orang (3,7%), RT 9 1 orang (0,6%), RT 10 18 orang (11,0%), RT 11 17 orang (10,4%) dan RT 12 sebanyak 5 orang (9,1%). Distribusi subyek berdasarkan alamat tempat tinggal secara terinci dapat dilihat Tabel 5.

Tabel 5. Distribusi Subyek Berdasarkan Alamat (n=164)

Alamat (RT)	Jumlah	Persentase
RT 1	31	18,9
RT 2	21	12,8
RT 3	10	6,1
RT 4	7	4,3
RT 5	2	1,2
RT 6	23	14,0
RT 7	-13	7,9
RT 8	6	3,7
RT 9	1	0,6
RT 10	18	11,0
RT 11	17	10,4
RT 12	15	9,1
<b>Jumlah</b>	<b>164</b>	<b>100,6</b>

Subyek yang mengikuti penelitian ini terbanyak beralamatkan di RT 1 sebanyak 31 orang (18,9%), RT 6 sebanyak 23 orang (14%) dan RT 2 sebanyak 21 orang (12,8%). Sebagaimana diketahui subyek dengan hasil positif, 1 orang beralamat di RT 1, 2 orang di RT 2 dan 1 orang di RT 6. Hal ini didukung oleh lingkungan ketiga RT ini berada di dekat sungai dan rawa yang banyak terdapat tanaman air, merupakan tempat perindukan nyamuk. Demikian pula dengan banyaknya kandang ternak. Menurut Agustina (2011) hasil penelitiannya menyatakan bahwa lingkungan RT 1, 2 dan 7 sebagian besar terdapat sungai, rawa dan banyak tanaman air seperti enceng gondok dan lempuyang. Dimana ketiga lingkungan RT tersebut banyak terdapat nyamuk *Mansonia*.



Gambar 4. Lingkungan RT 1 tampak genangan dan tanaman air di sekitar rumah warga

6. Karakteristik Subyek Berdasarkan Riwayat Makan Obat POMP Filariasis

Dari 164 orang subyek yang mengikuti penelitian ini sebanyak 123 orang (75,0%) yang belum pernah makan obat POMP (Pemberian Obat Massal Pencegahan) filariasis dan sebanyak 41 orang (25,0%) yang sudah pernah. Distribusi subyek berdasarkan riwayat makan obat POMP filariasis secara terinci dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Distribusi Subyek Berdasarkan Riwayat Makan Obat POMP Filariasis (n=164)

Riwayat makan obat	Jumlah	Persentase
Belum	123	75,0
Sudah	41	25,0
<b>Jumlah</b>	<b>164</b>	<b>100,0</b>

Dari 41 subyek yang pernah makan obat POMP filariasis, yang hanya 1 kali makan obat sebanyak 29 orang (70,8%), 2 kali makan obat sebanyak 4 orang (9,8%), 3 kali makan obat sebanyak 3 orang (7,3%), 4 kali makan obat hanya 1 orang (2,4%), 5 kali makan obat 3 orang (7,3%) dan yang telah 6 kali makan obat 1 orang (2,4%). Distribusinya secara terinci dapat dilihat Tabel 7.

Tabel 7. Distribusi Subyek Berdasarkan Frekuensi Makan Obat POMP Filariasis (n=41)

Frekuensi makan obat	Jumlah	Persentase
1 kali	29	70,8
2 kali	4	9,8
3 kali	3	7,3
4 kali	1	2,4
5 kali	3	7,3
6 kali	1	2,4
<b>Jumlah</b>	<b>41</b>	<b>100,0</b>

Riwayat makan obat massal POMP filariasis pada subyek yang mengikuti penelitian ini, sebanyak 123 orang (75%) belum pernah makan obat dan 41 orang (25%) sudah pernah. Seperti diketahui Desa Sungai Rengit Murni telah melaksanakan program makan obat massal ini sejak tahun 2008 sampai sekarang. Hingga tahun ini memasuki tahun ke 6. Dari 41 orang yang sudah makan obat hanya 1 (2,4%) orang yang sudah 6 kali, dan 29 orang (70,8%) hanya 1 kali. Dari wawancara diketahui alasan subyek beragam, diantaranya mengatakan khawatir atas efek samping obat, malas dan tidak dapat obat. Hal ini tentu menjadi perhatian mengingat masih adanya kasus mikrofilaria positif, lingkungan tempat tinggal penduduk yang mendukung untuk perkembangan nyamuk, perilaku masyarakat keluar rumah malam hari serta adanya kebiasaan tidur tidak menggunakan kelambu atau lotion anti gigitan nyamuk.

7. Karakteristik Subyek Berdasarkan Hasil Pemeriksaan Metode *Giemsa*

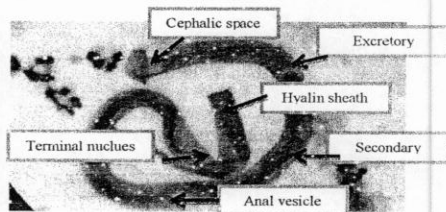
Dari 164 orang subyek yang mengikuti penelitian ini, didapatkan hasil positif (ditemukan mikrofilaria) pada pemeriksaan dengan metode *Giemsa* sebanyak 1 orang (0,6%) dan hasil negatif (tidak ditemukan mikrofilaria) sebanyak 163 orang (99,4%). Distribusi subyek berdasarkan hasil pemeriksaan metode *Giemsa* secara terinci dapat dilihat pada Tabel 8.

**Tabel 8. Distribusi Subyek Berdasarkan Hasil Pemeriksaan Metode Giemsa (n=164)**

Metode Giemsa	Jumlah	Persentase
Positif	1	0,6
Negatif	163	99,4
<b>Jumlah</b>	<b>164</b>	<b>100,0</b>

Pemeriksaan mikroskopis sediaan apus darah jari menggunakan metode *Giemsa* pada 164 orang subyek, hanya 1 orang (0,6%) ditemukan mikrofilaria *Brugia malayi*. Penelitian yang serupa dilakukan oleh Hermansyah (2009) dari 145 subyek hanya 1 orang ditemukan mikrofilaria positif. Meski sampai saat ini baku emas untuk menentukan filariasis adalah dengan menemukan mikrofilaria dalam darah. Namun metode ini dipengaruhi oleh periodisitas dan densitas dari mikrofilaria.

Tidak dijumpainya mikrofilaria dapat dikarenakan bila pada tubuh subyek baru terdapat cacing betina yang belum produktif atau hanya cacing jantan saja. Rendahnya hasil metode *Giemsa* ini dapat pula karena adanya program makan obat massal POMP filariasis yang sudah berlangsung sejak tahun 2008. Selain itu faktor teknis seperti cara pengambilan sampel darah atau waktu pengambilan sampel darah yang kurang tepat sehingga saat pengambilan cacing filaria belum keluar menuju darah perifer. Pada penelitian sebelumnya diketahui periodisitas mikrofilaria di Desa Sungai Rengit Murni adalah subperiodik nokturnal.



**Gambar 5. Mikrofilaria positif pada sampel no 178**

**8. Hasil Pemeriksaan Metode PCR**

Pada pemeriksaan ini dari 164 subyek, didapatkan 4 orang (2,4%) hasilnya positif dan 160 orang (97,6%) negatif. Dimana 3 diantaranya pada pemeriksaan metode *Giemsa* tidak dijumpai mikrofilaria.

Dari 164 orang subyek yang mengikuti penelitian ini, didapatkan hasil positif (terdapat gambaran pita pada 322bp) pada pemeriksaan dengan metode PCR sebanyak 4 orang (2,4%) dan hasil negatif (tidak terdapat gambaran pita pada 322bp) sebanyak 160 orang (97,6%). Distribusi subyek berdasarkan hasil pemeriksaan metode PCR secara terinci dapat dilihat pada Tabel 9.

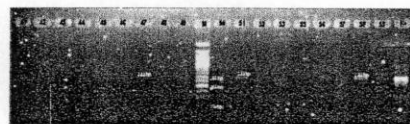
**Tabel 9. Distribusi Subyek Berdasarkan Hasil Pemeriksaan Metode PCR (n=164)**

Metode PCR	Jumlah	Persentase
Positif	4	2,4
Negatif	160	97,6
<b>Jumlah</b>	<b>164</b>	<b>100,0</b>

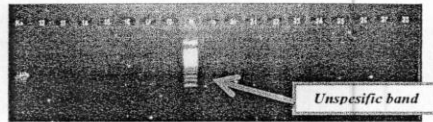
Pemeriksaan menggunakan metode PCR dengan cara mengamplifikasi DNA *Brugia malayi* dan primer spesifik yang digunakan adalah *Hha I* serta suhu optimal yang digunakan adalah 55°C (sesuai penelitian Supali dkk (2000)) maka akan didapatkan gambaran pita pada 322bp. Pada penelitian ini sampel 178 yang secara mikroskopis ditemukan mikrofilaria, setelah diperiksa didapatkan gambaran pita 322bp dan dijadikan kontrol positif selama penelitian berlangsung dan selanjutnya dalam melakukan pemeriksaan sampel-sampel lain.

Namun pada penelitian ini didapatkan pada suhu 55°C dijumpai *unspecific band*. Hal ini dikarenakan kepekaan/sensitivitas alat yang sangat tinggi sehingga kemungkinan terdeteksi gen atau produk yang lain dapat saja terjadi. Untuk itu diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai hal ini. Dalam meminimalisir atau menghilangkan *unspecific bands* dapat dilakukan dengan menaikkan suhu annealing yaitu pada suhu 60°C.

Dalam prakteknya, PCR dapat gagal karena berbagai alasan, sebagian karena kepekaan terhadap kontaminasi amplifikasi DNA menyebabkan produk palsu. Karena itu, sejumlah teknik dan prosedur telah dikembangkan untuk mengoptimalkan kondisi PCR. Kontaminasi dengan DNA asing ditujukan dengan protokol dan prosedur laboratorium yang memisahkan pra-PCR campuran dari kontaminan DNA potensial. Hal ini biasanya melibatkan pemisahan pengaturan spasial PCR untuk analisis atau pemurnian produk PCR, penggunaan *plasticware* sekali pakai dan secara menyeluruh membersihkan permukaan kerja antara pengaturan reaksi. Teknik desain primer yang penting dalam meningkatkan hasil produk PCR dan dalam menghindari pembentukan produk palsu, dan penggunaan komponen penyangga alternatif atau enzim polimerase dapat membantu dengan amplifikasi daerah panjang atau sebaliknya DNA bermasalah. Penambahan reagen, seperti formamida dalam sistem penyangga dapat meningkatkan spesifisitas dan hasil PCR.<sup>25</sup>



**Gambar 6. Hasil positif DNA *Brugia malayi* sampel no 47, 51, 58 dan 178 (kontrol positif)**



Gambar 7. Hasil negatif pada pemeriksaan PCR

Uji Diagnostik

Uji diagnostik pemeriksaan filariasis terhadap 164 orang subyek, pemeriksaan dengan metode *Giemsa* didapatkan 1 orang Subyek positif dan 163 subyek negatif. Hasil pemeriksaan dengan metode PCR dijumpai 4 orang subyek positif dan 160 orang negatif. Secara terinci dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Uji Diagnostik Hasil Pemeriksaan *Giemsa* dan PCR (n=164)

Hasil uji PCR	Hasil uji dengan <i>Giemsa</i>		Jumlah
	Positif	Negatif	
Positif	1	3	4
Negatif	0	160	160
<b>Jumlah</b>	<b>1</b>	<b>163</b>	<b>164</b>

Hasil uji diagnostik berupa *sensitivitas, spesifisitas, positive predictive value* dan *negative predictive value*. Berdasarkan tabel di atas maka didapatkan sebagai berikut:

$$\begin{aligned}
 \text{Sensitivitas} &= a/(a+c) \\
 &= 1/(1+0) \\
 &= 100\% \\
 \text{Spesifisitas} &= d/(b+d) \\
 &= 60/(3+160) \\
 &= 98,16\% \\
 \text{Positive predictive value} &= a/(a+b) \\
 \text{(nilai duga positif)} &= 1/(1+3) \\
 &= 25\% \\
 \text{Negative predictive value} &= d/(c+d) \\
 \text{(nilai duga negatif)} &= 160/(0+160) \\
 &= 100\%
 \end{aligned}$$

Analisis hasil pemeriksaan metode *Giemsa* sebagai baku emas dengan metode PCR menggunakan pirantik lunak PASW<sup>®</sup> versi 18.0 (SPSS, Inc., Chicago, Illinois) dan *Med Calc* versi 12.5.0.

Hasil uji diagnostik pemeriksaan filariasis dengan metode PCR pada penelitian ini didapatkan nilai sensitivitas 100% dibandingkan metode pengecatan *Giemsa*, nilai spesifisitas 98,16%, nilai duga positif 25% dan nilai duga negatif 100%.

Nilai sensitivitas metode PCR adalah 100%, artinya metode ini memiliki kepekaan/sensitivitas yang sangat tinggi sehingga dapat digunakan untuk mendiagnosis filariasis secara dini. Hal ini serupa dengan penelitian yang dilakukan Supali dkk (2000), dimana sensitivitas metode PCR 100%.

Nilai spesifisitas metode PCR dibandingkan pemeriksaan metode *Giemsa* cukup tinggi yaitu 98,16%, namun kemungkinan bukan filariasis *Brugia malayi* terdiagnosis adalah sebesar 1,84%. Spesifisitas penelitian ini tidak jauh berbeda dibandingkan penelitian yang dilakukan oleh Ramakrishna dkk (2006) yaitu 90,48%.

Nilai duga positif metode PCR adalah 25%. Nilai yang rendah ini dapat disebabkan karena jumlah subyek positif dengan metode *Giemsa* rendah yaitu hanya 1 subyek. Hal ini dapat disebabkan oleh waktu pengambilan sampel pada malam hari dimana banyak warga berkeberatan diambil darahnya pada tengah malam. Sebagaimana diketahui periodisitas mikrofilaria di desa ini adalah *subperiodik nokturnal*. Penelitian yang dilakukan oleh Santoso dkk (2006) di Desa Sungai Rengit diketahui bahwa waktu keluarnya mikrofilaria ke dalam kapiler darah mulai jam 16.00 WIB dan puncak aktifitas mikrofilaria terjadi pada pukul 22.00 sampai pukul 02.00 WIB. Rata-rata puncak kepadatan mikrofilaria terjadi pada pukul 00.00 WIB.

Nilai duga negatif metode PCR pada penelitian ini adalah 100%. Ini menunjukkan bahwa kemungkinan besar subyek benar-benar tidak menderita filariasis adalah 100%. Penelitian serupa dilakukan Supali dkk (2000), dimana nilai duga negatifnya adalah 100%.

Secara keseluruhan metode PCR dibandingkan metode *Giemsa* memberikan nilai diagnostik yang cukup baik dengan nilai sensitivitas 100% dan nilai spesifisitas 98,16% dalam mendeteksi mikrofilaria *Brugia malayi*. Namun demikian ada beberapa pertimbangan dalam melakukan metode ini diantaranya pemeriksaan harus dilakukan pada laboratorium yang memiliki pemeriksaan biomolekuler, biaya primer dan biaya pemeriksaan yang cukup mahal, ekstraksi DNA yang harus tepat untuk menghindari kontaminasi, optimalisasi suhu yang tepat untuk mendapatkan gambaran pita yang tajam serta memerlukan waktu paling tidak 2-3 hari untuk mendapatkan hasil. Dengan demikian metode *Giemsa* masih merupakan baku emas dalam mendeteksi mikrofilaria. Tetapi metode PCR dapat dijadikan uji diagnostik alternatif dalam mendeteksi filariasis terutama pada *amikrofilaremia* ataupun pada *mikrofilaremia* yang kepadatannya sedikit.

4. Kesimpulan dan saran

Berdasarkan hasil penelitian, analisis hasil penelitian dan pembahasan dapat ditarik simpulan dan saran sebagai berikut:

### Kesimpulan

1. Hasil pemeriksaan mikrofilaria *Brugia malayi* dengan metode pengecatan *Giemsa* didapatkan 1 positif (0,6%) dan dengan metode PCR didapatkan 4 positif (2,4%) dari 164 responden yang mengikuti penelitian ini
2. Metode PCR dibandingkan dengan metode pengecatan *Giemsa* sensitivitasnya 100%
3. Metode PCR dibandingkan dengan metode pengecatan *Giemsa* spesifisitasnya 98,16%
4. Metode PCR dibandingkan dengan metode pengecatan *Giemsa* nilai duga positifnya 25%
5. Metode PCR dibandingkan dengan metode pengecatan *Giemsa* nilai duga negatifnya 100%

### Saran

1. Deteksi DNA *Brugia malayi* dengan menggunakan metode PCR dapat digunakan sebagai alternatif pemeriksaan *Brugia malayi* dan sebagai alat untuk skrining.
2. Kepada Dinas Kesehatan Banyuwangi pentingnya menggalakkan penyuluhan, pemeriksaan darah jari, memantau pelaksanaan Pemberian Obat Massal Pencegahan (POMP) filariasis dan memastikan warga meminum obat tersebut serta memodifikasi lingkungan untuk mendukung program ELKAGA.

### Daftar Acuan

1. Kurniawan, L. (1994). Filariasis-aspek klinis, diagnosis, pengobatan dan pemberantasannya. Cermir Dunia Kedokteran, hal. 5.
2. Pangribo, S., Triyadi, A., & Indah, I. S. (2010). Filariasis di Indonesia. (D. P. RI, Penyunt) Buletin Jendela Epidemiologi, 1, hal. 1.
3. Haryuningtyas, D., & Subekti, D. T. (2008). Deteksi Mikrofilaria/Larva Cacing *Brugia malayi* pada Nyamuk dengan Polimerase Chain Reaction.
4. Hermansyah, H. (2009). Thesis : Sensitivitas dan Spesifisitas Pemeriksaan Cacing filaria di Daerah Endemis Menggunakan Metode Enzym Linkes Immunosorbent Assay (ELISA). Palembang: Program Pascasarjana Universitas Sriwijaya (Unpublished Thesis).
5. Wahyono, T. Y. (2010). Analisis Epidemiologi Deskriptif Filariasis di Indonesia. Buletin Jendela Epidemiologi, 1, hal. 9.
6. Dinas Kesehatan Banyuwangi, (2009-2011). Laporan Hasil Survei Eliminasi Kaki Gajah Dinas Kesehatan Banyuwangi. Pangkalan Balai : 2009-2011
7. Supali, T., Tuda, Y & Wibowo, H. (2000). Deteksi Parasit *Brugia malayi* Dengan Polymerase Chain Reaction (PCR) Darah Siang Penduduk Daerah Endemis Filariasis.
8. Gracia, L., & Bruckner, D. (1994). Diagnostik Parasitologi Kedokteran. (R. Makimian, Penerjemah) Jakarta, Indonesia: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
9. WHO. (2011). Lymphatic Filariasis. Geneva, Switzerland: WHO.
10. Lizotte, M, Supali, T., & Williams, S. (1994). A PCR Assay for the Detection of *Brugia malayi* in Blood. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.
11. Chansiri, K., & Phantama, S. (2002, 10). A Polymerase Chain Reaction Assay for the Survey of Bancroftian Filariasis. The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health.
12. Pewpan, I. M., Thanchomng, T., Tamand, V. L., & Malewang, W. (2009). Rapid Detection of *W. bancrofti* dan *B. malayi* in Mosquito vector (Diptera: Culicidae) Using a Real Time Fluorescence Resonance Energy Transfer Multiplex PCR dan Melting Curve Analysis. Journal of Medical Entomology.
13. Ottesen, E. A., William, S. A., & Natnan, T. B. (1996). Evaluation of A PCR-Based Assay for Diagnosis of *Wuchereria bancrofti* Infection. Journal of Infectious Disease.
14. Ramakrishna, Rao, G. J, Kerstin, F, Supali, T., & Fischer, P. (2006). Detection of *Brugia* Parasite DNA in Human Blood by Real-Time PCR. Journal of Clinical Microbiology.
15. Fischer, P, Supali, T, Wibowo, H, Bonow, I & Williams, S. A. (2000). Detection of DNA Nocturnally Periodic *Brugia malayi* in Night and Day Blood Samples by a PCR ELISA Based Method Using an Internal Control DNA. Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 291-296.
16. Hoti, S, Vasuki, V, & Lizotte, M. (2001). Detection of *Brugia malayi* in Laboratory and Wild Caught *Mansonioides* Mosquitos (Diptera: Culicidae) Using Hha I PCR Assay. Buletin of Entomology Research.
17. Yen, P.K.F. (1983). Taxonomy of Malaysian Parasite. dalam J.W.MAK (Penyunt.), Filariasis (hal. 17-35). Kuala Lumpur, Malaysia: Institute for Medical Research.
18. Nuchprayoon, S. (2009). DNA-Based Diagnosis of Lymphatic Filariasis. Southeast Asian Journal Tropical Medicine Public Health 40, page 905.
19. Tejangkura, K, T, Kwaosak, P, Sarataphan, N, Phantana, S, & Sukhumsirichart, W. (2002). PCR Based Method for Identification of Zoonotic *Brugia malayi* microfilariae in Domestic Cats. Molecular and Cellular Probe, 129-135.
20. Uloli, R, Soeyoto, Sumarni. (2008). Analisis Faktor-faktor Risiko Kejadian Filariasis, Berita Kedokteran Masyarakat Vol. 24 No.1.
21. Juriastuti, P, Kartika, M, Djaja, IM, Susanna, D. (2010). Faktor Risiko Kejadian Filariasis di Kelurahan Jati Sampurna. Makara Kesehatan Vol 14 no.1 hal 31-36.

22. Lasbudi, P, Ambarita, Hotnida, Alwi, A, Betriyon. (2005). Peran Serta Masyarakat (PSM) dalam menemukan kasus Filariasis di Desa Endemis di Puskesmas Betung Kabupaten Banyuasin.
23. Santoso, Yenni, A, Mayasari, R. (2007). Faktor Risiko Kejadian Penyakit Filariasis pada Masyarakat di Indonesia, Baturaja: Lokalitbang Pemberantasan Penyakit Bersumber Binatang.
24. Riftiana, N, Soeyoko. (2010). Hubungan Sosiodemografi Dengan Kejadian Filariasis di Kabupaten Pekalongan, Yogyakarta : FKM Universitas Ahmad Dahlan.
25. Campbell, N. A, & Reece, J. B. (2008). Biologi (Kedelapan jilid 1 ed.) (S. H.Wibi Hardani, Penyunt, & S. Damaring Tyas Wulandari, Penerj.) Pearson Benjamin Cummings.