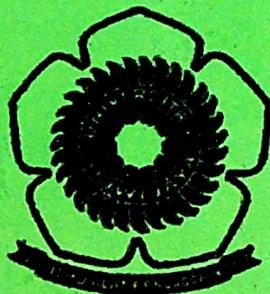


**IDENTIFIKASI MUTASI GEN DHFR *Plasmodium falciparum*
KODON S108N SEBAGAI MARKER RESISTENSI
MALARIA TERHADAP PIRIMETAMIN
DI SUMATERA SELATAN**

Skripsi

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat guna memeroleh gelar
Sarjana Kedokteran (S.Ked)**



**Oleh:
Rahmah Ramadhani Bara
04991001037**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
2013**

S
616. 930 7

Rah
i

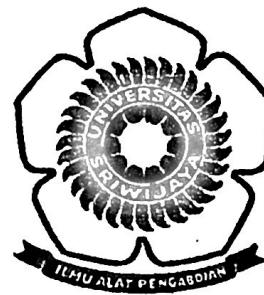
2013



**IDENTIFIKASI MUTASI GEN DHFR *Plasmodium falciparum*
KODON S108N SEBAGAI MARKER RESISTENSI
MALARIA TERHADAP PIRIMETAMIN
DI SUMATERA SELATAN**

Skripsi

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat guna memeroleh gelar
Sarjana Kedokteran (S.Ked)



Oleh:
Rahmah Ramadhani Bara
04091001037

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
2013**

HALAMAN PENGESAHAN

IDENTIFIKASI MUTASI GEN DHFR *Plasmodium falciparum* KODON S108N SEBAGAI MARKER RESISTENSI MALARIA TERHADAP PIRIMETAMIN DI SUMATERA SELATAN

Oleh:
Rahmah Ramadhan Bara
04091001037

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat guna memeroleh gelar Sarjana
Kedokteran

Palembang, 7 Januari 2013
Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya

Pembimbing I
Merangkap penguji I

Dr. dr. Mgs. Irsan Saleh, MBiomed
NIP.19660929 149601 1 001

Pembimbing II
Merangkap penguji II

dr.Tri Suciati, MKes
NIP.1983071 4200912 2 004

Penguji III

dra. Lusia Hayati, MSc
Nip. 19570630 198503 2 001

Mengetahui,
Pembantu Dekan 1



PERNYATAAN

Saya yang bertanda-tangan di bawah ini dengan ini menyatakan bahwa:

1. Karya tulis saya, skripsi ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik (sarjana, magister dan/atau doktor), baik di Universitas Sriwijaya maupun di perguruan tinggi lainnya.
2. Karya tulis ini murni gagasan, rumusan dan penelitian Saya sendiri, tanpa bantuan pihak lain, kecuali arahan verbal Tim Pembimbing.
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini Saya buat dengan sesungguhnya dan apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka Saya bersedia menerima sanksi akademik atau sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi ini.

Palembang, 7 Januari 2013
Yang membuat pernyataan

ttd



(Rahmah Ramadhani Bara)

HALAMAN PERSEMBAHAN

Secarik perjalanan hidup telah berlalu dan ini merupakan "akhir semu" untuk memulai perjuangan yang lebih lagi, mendalami peran sebagai orang yang ingin bermanfaat bagi semua

Alhamdulillah. Begitu banyak syukur yang ingin Saya panjatkan kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga Saya bisa menyelesaikan skripsi ini. Begitu banyak ucapan terima kasih yang ingin Saya sampaikan kepada orang-orang yang telah membantu dan senantiasa memberikan dorongan serta semangat kepada Saya.

Untuk Bapak dan Ibu, terima kasih telah senantiasa mendoakan anakmu yang selalu menyusahkan ini. Maaf belum ada yang bisa Adek berikan sebagai balasan atas kasih sayang dan didikan Ibu dan Bapak. Skripsi ini adalah salah satu usaha Adek untuk mewujudkan rasa terima kasih Adek kepada kalian. Suatu hari nanti pasti Adek bisa buat Ibu dan Bapak bangga. *Love you Mom, love you Dad!*

Untuk saudaraku, Putri Lamubra Bara dan Dary Dzakwan Bara terima kasih selalu memberi semangat dan menemani Saya selama ini. Kita harus sukses dan membanggakan Ibu dan Bapak.

Untuk pembimbing dan penguji, Dr. dr. Mgs. Irsan Saleh,M.Biomed, dr.Tri Suciati,M.Kes, Dra.Lusia Hayati,M.Sc yan telah memberikan bimbingan, masukan dan saran kepada Saya, mudah-mudahan semua ilmu yan dokter berikan bisa bermanfaat ya dok. Terima kasih banyak dok, maaf sudah banyak merepotkan.

Untuk Johan Peramana, terima kasih untuk waktu dan *support*-nya. Terima kasih telah mengajarkan banyak hal, memberi nasehat dan menjadi pendengar yang baik saat keluh kesah serta menemani dan membantu dalam penyelesaian skripsi ini.

Untuk teman-teman seperjuangan, PDU 2009 Reguler, Ulil Albab (Maya, Lathifah, Anita, Rika, Kiky, Vivi, Liska, Agus, Engki, Rangga) serta 3 orang lainnya yang juga tim PCR Malaria super (Oti, Rizka dan Febi) terima kasih untuk 3,5 tahun ini, belajar bareng dan berbagi ilmu bersama. Kapan kita bakal pulang malam gara-gara nge-lab lagi? :D

Untuk orang-orang yang telah banyak membantu, Mbak Venny, Mbak Ella, dr.Yanto, Mbak Tita, dan semua penderita malaria *P.falciparum* yang telah menjadi subjek penelitian skripsi ini, terima kasih banyak telah membantu penyelesaian skripsi ini. Terima kasih banyak semua. Kalian orang-orang hebat yang slalu menjadi kekuatan dan inspirasi Saya. Tanpa kalian Saya tidak akan sampai pada titik ini. Terima kasih!

-Rahmah Ramadhani Bara-

ABSTRAK

Identifikasi Mutasi Gen DHFR *Plasmodium falciparum* Kodon S108N sebagai Marker Resistensi Malaria terhadap Pirimetamin di Sumatera Selatan

(Rahmah Ramadhani Bara, 56 halaman, 2013)
Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya

Latar Belakang :Malaria masih merupakan penyebab morbiditas dan mortalitas yang tinggi pada bayi, anak-anak dan dewasa (terutama ibu hamil), khususnya pada negara tropis seperti Indonesia. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi mutasi pada gen DHFR *Plasmodium falciparum* terhadap Pirimetamin yang dipotong dengan enzim *Bsr1* pada penderita malaria *Plamodium falciparum* di Rumah Sakit dr. Mohammad Hoesin Palembang, RSUD Sekayu, Lahat dan Baturaja serta laboratorium poliklinik di Sumatera Selatan.

Metode :Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif terhadap 30 sampel penderita malaria *Plasmodium falciparum*. Identifikasi mutasi gen DHFR *Plasmodium falciparum* ini dilakukan dengan teknik *Polimerase Chain Reaction* (PCR) amplifikasi dan *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP) menggunakan enzim *Bsr1*.

Hasil :Pada penderita malaria *Plasmodium falciparum* di RSUP dr. Mohammad Hoesin Palembang, RSUD Sekayu,Lahat dan Baturaja serta laboratorium klinik yang dijadikan subjek penelitian, didapatkan hasil sebanyak 2 orang (33,3%) yang mengalami mutasi homozigot gen DHFR *Plasmodium falciparum* terhadap Pirimetamin, sedangkan 4 orang lainnya (66,6%) tidak mengalami mutasi (*wild type*) dari 30 isolat subjek penelitian.

Kesimpulan :Genotipe mutan 2 (33,3%), genotipe *wild-type* (normal) 4 66,6% dari 6 sampel yang positif diamplifikasi dari 30 isolat. Pirimetamin masih adekuat untuk pengobatan malaria *Plasmodium falciparum* di Sumatera Selatan.

Kata kunci :DHFR, malaria *Plasmodium falciparum*,mutasi

ABSTRACT

Identification of DHFR Gene *Plasmodium falciparum* Codon S108N Mutations as Markers of Malaria Resistance to Pyrimethamine in South Sumatra

(Rahmah Ramadhani Bara, 56 pages, 2013)
Medical Faculty University of Sriwijaya

Background: Malaria was still a cause of morbidity and mortality in infants, children and adults (especially pregnant women), especially in tropical countries such as Indonesia. This study aims to identified the mutation in the DHFR gene of *Plasmodium falciparum* to pyrimethamine were cut with enzymes *Bsr1* *Plamodium falciparum* malaria in patients in the dr. Mohammad Hoesin Palembang hospital, Sekayu hospital, Lahat hospitals, Baturaja hospital and clinic laboratories in South Sumatra.

Methods: This study was a descriptive study of 30 samples of patients with *Plasmodium falciparum* malaria. Identification of *Plasmodium falciparum* DHFR gene mutations was done by using Polymerase Chain Reaction (PCR) amplification and Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) using enzyme *Bsr1*.

Results: In patients with *Plasmodium falciparum* malaria in dr. Mohammad Hoesin Palembang hospital, Sekayu hospital, Lahat hospital and Baturaja hospital, and clinical laboratories who being the subjects of studies, the result were 2 people (33.3%) were homozygot mutated DHFR gene of *Plasmodium falciparum* to pyrimethamine, whereas 4 others (66.6%) without the mutation (wild-type) of the 30 isolates subjects of study.

Conclusion: Genotype of mutant 2 (33.3%), genotype wild-type (normal) 4 66.6% of the 6 positive samples amplified from 30 isolates. Pyrimethamine was still adequate for the treatment of *Plasmodium falciparum* malaria in South Sumatra.

Keywords: DHFR, *Plasmodium falciparum* malaria, mutations

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kehadirat Allah SWT karena atas rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Identifikasi Polimorfisme Gen DHFR *Plamodium falciparum* Kodon S108N sebagai Marker Resistensi Malaria terhadap Pirimetamin di Beberapa Daerah di Sumatera Selatan". Skripsi ini merupakan salah satu syarat guna memperoleh gelar Sarjana Kedokteran (S.Ked).

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada yang terhormat Dr. dr. H. Mgs. Irsan Saleh, M. Biomed selaku pembimbing I (pembimbing substansi) dan dr. Tri Suciati,M.Kes selaku pembimbing II (pembimbing metodologi) yang telah membimbing, memberi masukan, kritik, dan perbaikan dalam menyelesaikan skripsi ini, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik dan tepat waktu. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada yang terhormat:

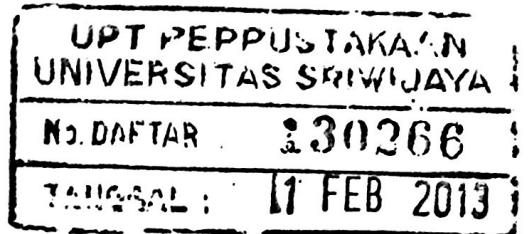
1. Dr. dr. M. Zulkarnain, M. Med. Sc, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya.
2. Dosen serta staf Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya dan petugas Laboratorium Mikrobiologi RSMH.
3. Orang Tua dan keluarga penulis serta Kak Johan Peramana yang selalu mendoakan dan memberikan dukungan baik moril maupun materil yang tiada ternilai.
4. Teman sejawat terutama PDU 2009 Reguler,Ulil Albab dan seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah banyak membantu menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dan kesalahan dalam skripsi ini. Hal ini disebabkan karena masih terbatasnya pengetahuan dan kemampuan penulis. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan untuk kesempurnaan di masa yang akan datang.

Akhirnya penulis berharap agar skripsi ini dapat bermanfaat dan berguna bagi kita semua serta dapat menjadi rujukan bagi penelitian-penelitian selanjutnya.

Palembang, 6 Januari 2013

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Judul	i
Lembar Pengesahan	ii
Lembar Pernyataan	iii
Halaman Persembahan.....	iv
Abstraks	v
Abstract.....	vi
Kata Pengantar.....	vii
Daftar Isi.	viii
Daftar Tabel	x
Daftar Gambar	xi
Daftar Singkatan	xii
Daftar Lampiran.....	xiii

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.	4
1.3.1 Tujuan Umum.	4
1.3.2 Tujuan Khusus.	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Teoritis	4
1.4.2 Manfaat Praktis	4

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Malaria dan Resistensi Terhadap Antimalaria Saat Ini.....	6
2.2 Pengobatan Malaria	8
2.2.1. Pengobatan Malaria Tanpa Komplikasi	8
2.2.2. Pengobatan Malaria Berat.....	10
2.2.3. Tindakan Umum	13
2.2.4. Pengobatan Simptomatis	13
2.2.5. Pemberian Obat Anti Malaria	15
2.3.Siklus Hidup <i>Plasmodium</i>	17
2.3.1 Siklus Aseksual	17
2.3.2 Siklus Seksual	17
2.3.3 <i>Plasmodium falciparum</i>	18
2.4.Pirimetamin	19
2.4.1 Pirimetamin dan Perannya dalam Biosintesis Folat.....	19
2.4.2 Biosintesis Folat dan Jalur Penyelamatannya (<i>Salvage Pathway</i>)	21
2.4.3 Mekanisme Resistensi Inhibitor <i>Dihidrofolat Reduktase (DHFR)</i>	22

2.4.4 Gen <i>DHFR</i> : Struktur dan Fungsi	22
2.4.5 Pengaruh Mutasi Gn <i>DHFR-TS</i>	23
2.6 Polymerase Chain Reaction (PCR)	24
2.7 Mutasi.....	26
2.8 Kerangka Teori.....	27
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Jenis Penelitian.....	28
3.2. Tempat dan Waktu Penelitian	28
3.3 Populasi dan Sampel	28
3.3.1 Populasi	28
3.3.2 Sampel.....	28
A. Besar Sampel.....	28
B. Cara Pengambilan Sampel.....	29
3.3 Kriteria Inklusi dan Ekslusi.....	29
3.4 Variabel Penelitian.....	29
3.5 Definisi Operasional	29
3.6 Cara Keja Prosedur Pemeriksaan	
3.6.1 Sediaan Apusan Darah Giemsa	30
3.6.2 Pemeriksaan Metode PCR	33
3.6.3 Kerangka Operasional.....	36
3.7 Rencana Cara Pengolahan dan Analisis Data.	36
3.7.1 Deteksi Hasil PCR.	37
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Hasil.	38
4.1.1 Visualisasi Elektroforesis Produk PCR Gen DHFR	38
4.1.2 RFLP Menggunakan Enzim <i>Bsr1</i> terhadap Gen DHFR <i>Plasmodium falciparum</i>	39
4.1.3 Profil Genotipe dan Variasi Alel Gen DHFR <i>Plasmodium falciparum</i> pada Penelitian.....	41
4.2 Pembahasan.....	41
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1Kesimpulan	43
5.2 Saran.....	43
Daftar Pustaka.....	44
Lampiran.....	47
Biodata Singkat dan Daftar Riwayat Hidup.....	56

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 2.1 Pengobatan lini pertama malaria <i>P.falciparum</i> menurut kelompok umur dengan arteresunat dan amodiakuin	8
Tabel 2.2 Pengobatan lini pertama malaria <i>P.falciparum</i> menurut kelompok umur dengan kombinasi Dihidroarteremisinin dan piperakuin (DHP).....	9
Tabel 2.3 Pengobatan lini kedua untuk malaria <i>P.falciparum</i> (Doksisiklin)	10
Tabel 2.4 Pengobatan lini kedua untuk malaria <i>P.falciparum</i>	10
Tabel 2.5 Manifestasi malaria berat pada anak dan dewasa.....	12
Tabel 2.6 Pemberian Dosis Awal Phenobarbital.....	14
Tabel 2.7 Efek Mutasi Gen DHFR <i>Plasmodium falciparum</i> pada Konstanta Inhibisi Sikloguanil dan Pirimetamin	24
Tabel 3.1 Sekuen oligonukleotida primer dan enzim restriksi yang digunakan	37
Tabel 3.2 Enzim Retriksi yang digunakan beserta situs pengenalannya.....	37
Tabel 4.1 Hasil Positif Amplifikasi dan Frekuensi Distribusi Alel Mutan	41
Tabel 4.2 Profil Genotipe Alel-Alel Mutan pada isolat <i>Plasmodium falciparum</i> dari Sumatera Selatan Juni-September 2012	42

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 2.1. Obat Anti Malaria Pirimetamin	7
Gambar 2.2. Siklus Hidup Plasmodium	19
Gambar 2.3. Struktur dari substrat (<i>dihydrofolic acid</i>), dan inhibitor (pirimetamin and cycloguanil) dari <i>P. falciparum</i> dihydrofolate reductase (DHFR).....	20
Gambar 4.1 Visualisasi elektroforesis hasil ekstraksi/isolasi DNA dan PCR gen DHFR terlihat pada posisi 592 bp pada media agarose 2% yang mengandung etidium bromide.....	39
Gambar 4.2 Hasil elektroforesis gen DHFR setelah direstriksi menggunakan enzim <i>BsrI</i>	40

DAFTAR SINGKATAN

<i>ACT</i>	: <i>artemisinin-based combination therapy</i>
<i>A</i>	: alanin
<i>API</i>	: <i>annual parasite index</i>
<i>N</i>	: asparagin
<i>C</i>	: cystein
<i>DHFR</i>	: <i>dihidrofolar reduktase</i>
<i>DHPS</i>	: <i>dihydropteroate synthase</i>
<i>HR</i>	: highly resistant
<i>I</i>	: isoleusin
<i>KLB</i>	: kejadian luar biasa
<i>L</i>	: leusin
<i>LR</i>	: low resistent
<i>MR</i>	: moderately resistent
<i>ORF</i>	: <i>open reading frame</i>
<i>PCD</i>	: <i>passive case detection</i>
<i>PCR</i>	: <i>polymerase Chain Reaction</i>
<i>PCR-RFLP</i>	: <i>polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism</i>
<i>PPPK</i>	: <i>cyclohydrolase, 6-hydroxymethyl-7,8 dihydropterinpyrophosphokinase</i>
<i>R</i>	: arginin
<i>S</i>	: sensitif
<i>S</i>	: serin
<i>T</i>	: treonin
<i>TS</i>	: <i>timidilat sintase</i>
<i>V</i>	: valin

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran

Lampiran Komposisi Campuran Reaksi PCR Nested	47
Lampiran Komposisi Campuran RFLP	47
Lampiran Kondisi PCR gen DHFR.....	47
Lampiran Kondisi PCR dan Nested PCR Amplifikasi Gen DHFR	48
Lampiran Prosedur Isolasi DNA	49
Lampiran Prosedur Penggunaan Mesin Sentrifuse	50
Lampiran Prosedur Penggunaan Mesin Elektroforesis	51
Lampiran Prosedur Penggunaan Mesin Visualisasi	52
Lampiran Prosedur Pembuatan Gel Agarose	53
Lampiran Surat Izin Penelitian.....	54
Lampiran Surat Keterangan Sudah Melakukan Penelitian.....	55



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Malaria masih merupakan penyebab morbiditas dan mortalitas pada anak-anak dan dewasa, khususnya pada negara tropis. Risiko kematian terutama pada kelompok risiko tinggi yaitu bayi, anak balita dan ibu hamil. Selain itu malaria secara langsung menyebabkan anemia dan dapat menurunkan produktivitas kerja. Menurut WHO, sekitar 3,3 miliar penduduk dunia berisiko terkena malaria dan setiap tahunnya terdapat 216 juta kasus malaria serta 655.000 diantaranya meninggal dunia (WHO, 2010).

Malaria merupakan penyakit yang disebabkan oleh infeksi parasit genus *Plasmodium*. Terdapat beberapa spesies *Plasmodium* yang lazim menyebabkan penyakit malaria di Indonesia yaitu *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. Malariae*, *P. ovale* dan campuran. Di antara keempat spesies tersebut, *Plasmodium falciparum* merupakan spesies yang mematikan, karena berpotensi menyebabkan komplikasi serebral. Berdasarkan data Riskedas 2010, penyebab malaria di Indonesia 86,4% adalah *Plasmodium falciparum*, 6,9% *P. vivax* dan sisanya adalah campuran *Plasmodium falciparum* dan *P. vivax*.

Di Indonesia, seperti yang tercantum dalam Lampiran Keputusan Menteri Kesehatan Nomor 239/Menkes/SK/IV/2009 Tanggal 28 April 2009, terdapat 424 kabupaten endemis Malaria dari 576 kabupaten yang ada, diperkirakan 45% penduduk Indonesia berisiko tertular Malaria. Laporan yang diterima oleh Subdit Malaria Ditjen PP & PL Dinkes RI tahun 2009, berdasarkan *annual parasite index* (API) tahun 2008-2009 terjadi penurunan kasus malaria sebesar 2,47 per 1000 penduduk menjadi 1,85 per 1000 penduduk. Bila dilihat per provinsi dari tahun 2008 – 2009 provinsi dengan API yang tertinggi adalah Papua Barat, NTT dan Papua. Selain itu, permasalahan lain yang berhubungan dengan kejadian

malaria di Indonesia adalah pada daerah dengan kasus malaria rendah sering terjadi kejadian luar biasa (KLB) sebagai akibat adanya kasus impor.

Upaya pemberantasan malaria telah dilakukan sejak tahun 1930 dan saat itu memberikan hasil yang cukup baik. Sementara dari semua obat malaria klorokuin merupakan obat anti malaria yang efektif untuk semua spesies malaria. Oleh karena itu klorokuin telah digunakan secara luas sejak Perang Dunia II. Kerjanya cepat, harganya murah dan efek sampingnya relatif lebih ringan serta dapat diberikan pada ibu hamil dan anak-anak. Resistensi *Plasmodium falciparum* terhadap klorokuin pertama kali ditemukan pada tahun 1961 di perbatasan Thailand dan Kamboja dan tahun 1962 di Kolumbia (Hunt dkk, 2005). Kemudian pola resistensi serupa segera diikuti di negara lain yakni Amerika Selatan dan Asia Tenggara (Hapuarachchi dkk, 12006). Di Indonesia telah dilaporkan pula adanya berbagai fokus resistensi *Plasmodium falciparum* terhadap klorokuin, pertama kali ditemukan di Kalimantan Timur pada tahun 1974, kemudian resistensi ini terus meluas dan pada tahun 1966, kasus-kasus malaria yang telah resisten terhadap klorokuin telah ditemukan di seluruh provinsi di Indonesia (Acang, 2002 ; Depkes RI, 1995; Laihad, 2000).

Pola resistensi terhadap klorokuin menyebabkan telah meningkatkan penggunaan obat-obatan anti malaria alternatif, misalnya golongan antifolat dan sulfa. Antifolat yang paling umum digunakan adalah Pirimetamin dan proguanil atau bentuk kombinasi Sulfadoksin dengan Pirimetamin yang digunakan sebagai *first drug* untuk malaria *Plasmodium falciparum* yang resisten terhadap klorokuin (Shretta dkk, 2000). Obat ini memiliki efek sinergis, serta relatif murah dan lebih efektif daripada penggunaan *single drug* lainnya (Nzila dkk, 2000). Obat ini juga dijadikan salah satu *partner artemisinin-based combination therapy* (ACT) yang saat ini digunakan untuk pengobatan malaria falciparum tanpa komplikasi di beberapa bagian dunia (WHO, 2008). Kombinasi obat ini telah digunakan secara luas di berbagai belahan dunia, akan tetapi resistensi *Plasmodium falciparum* terhadap kombinasi obat tersebut juga terjadi secara cepat segera setelah obat ini digunakan secara luas di beberapa daerah endemis yang telah resisten terhadap klorokuin. Saat ini resistensi obat tersebut telah tersebar luas di Asia Tenggara dan

kini mengancam Afrika dimana obat ini masih digunakan secara luas (WHO, 2008).

Resistensi terhadap Pirimetamin di Indonesia pertama kali dilaporkan di Irian Jaya dan telah menyebar luas hampir ke seluruh propinsi endemis malaria di Indonesia (Tjitra E, 2000). Timbulnya resistensi terhadap obat anti malaria Pirimetamin ini disebabkan adanya mutasi gen. Mutasi pada gen *dihidrofolat reduktase* (DHFR) telah diketahui berhubungan dengan resistensi terhadap kombinasi Pirimetamin dan dapat dijadikan *marker* molekuler untuk memantau *Plasmodium falciparum* yang resistensi terhadap obat Pirimetamin. Selain itu, dapat juga memprediksi hasil terapi dari obat tersebut atau mengetahui daerah target sasaran dimana uji *in vivo* tidak dapat dilakukan (Djimde dkk, 2004). Oleh karena itu, penelitian yang lebih luas yang meliputi beberapa daerah endemis malaria di Indonesia menjadi penting untuk dievaluasi tingkat resistensi *Plasmodium falciparum* terhadap obat anti malaria terutama Pirimetamin melalui uji *in vitro* pada kultur menggunakan teknik biologi molekuler. Melalui pendekatan teknologi biologi molekuler *Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP) diharapkan dapat memberikan gambaran yang akurat dan cepat mengenai pola resistensi terhadap obat tersebut.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

Apakah pada sampel yang diambil dari pasien yang didiagnosis sebagai penderita malaria dari daerah meso endemis dan endemis Sumatera Selatan sudah terjadi mutasi gen DHFR *Plasmodium falciparum* yang berhubungan dengan terjadinya resistensi terhadap Pirimetamin?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Melakukan evaluasi molekuler dengan menganalisis mutasi gen *DHFR* *Plasmodium falciparum* yang berhubungan dengan terjadinya resistensi terhadap Pirimetamin pada sampel yang diambil pada pasien yang didiagnosis sebagai penderita malaria dari daerah meso endemis dan endemis Sumatera Selatan

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mendapatkan gambaran genotipe S108N (S108S, S108N, N108N) gen *DHFR* *Plasmodium falciparum* pada sampel yang diambil pada pasien yang didiagnosis sebagai penderita malaria dari daerah meso endemis dan endemis Sumatera Selatan
2. Mendapatkan gambaran alel varian S108, N108 gen *DHFR* *Plasmodium falciparum* pada sampel yang diambil pada pasien yang didiagnosis sebagai penderita malaria dari daerah meso endemis dan endemis Sumatera Selatan

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Memberikan informasi teoritis tentang resistensi *Plasmodium falciparum* melalui analisis molekuler gen *DHFR* yang berhubungan dengan terjadinya resistensi terhadap anti malaria Pirimetamin dari sampel yang diambil dari pasien yang didiagnosis sebagai penderita malaria dari daerah meso endemis dan endemik Sumatera Selatan

1.4.2 Manfaat Praktis

1. Melengkapi data identifikasi polimorfisme gen *DHFR* di Sumatera Selatan
2. Sebagai informasi bagi klinisi dalam upaya memberikan obat anti malaria selain Pirimetamin bila diketahui *Plasmodium falciparum* di daerah tersebut telah resisten terhadap Pirimetamin

3. Sebagai salah satu acuan bagi Departemen Kesehatan tentang distribusi kasus resistensi terhadap Pirimetamin di daerah mesoendemis dan endemis malaria dalam menentukan langkah penatalaksanaan pasien malaria *Plasmodium falciparum* yang resisten terhadap Pirimetamin.

DAFTAR PUSTAKA

- Acang N. 2002. Kasus Malaria Resisten Klorokuin di Bagian Penyakit Dalam RS Dr. M. Djamil, Padang. Majalah Kedokteran Indonesia, 45(11): 383 – 389.
- Agnes dkk. 2003. DHFR and DHPS genotypes of *Plasmodium falciparum* isolates from Gabon correlate with *in vitro* activity of pyrimethamine and cycloguanil, but not with sulfadoxine–pyrimethamine treatment efficacy. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 52(3): 43–49.
- Amelia, R. 2012. *Identifikasi Mutasi Titik K76T Gen PRCRT Plasmodium falciparum sebagai Marker Resistensi Klorokuin pada Penderita Malaria di Sumatera Selatan*. Skripsi pada Jurusan Pendidikan Dokter Umum yang tidak dipublikasikan, hal. 50-57
- Damiyati,M.K. 2012. *Identifikasi Mutasi Gen PFMDR Kodon 86 sebagai Marker Resistensi Plasmodium falciparum terhadap Klorokuin pada Penderita Malaria di Sumatera Selatan*. Skripsi pada Jurusan Pendidikan Dokter Umum yang tidak dipublikasikan, hal. 46-54.
- Ardiansyah,F. 2012. *Identifikasi Mutasi A437G Gen DHPS sebagai Marker Resistensi Plasmodium falciparum terhadap Sulfadoksin di Sumatera Selatan*. Skripsi pada Jurusan Pendidikan Dokter Umum yang tidak dipublikasikan, hal. 43-50.
- CDC. 2004. Malaria Geograpgic Dtribution and Epidemiology. Medical Sciences. 32(1), ([Http://www.cdc.gov/malaria/biology](http://www.cdc.gov/malaria/biology), Diakses 10 Desember 2012).
- Departemen Kesehatan Ri. 1995. *Malaria : Tes Resistensi Malaria P.falciparum*. Direktorat Pemberantasan Penyakit Menular dan Penyehatan Lingkungan. Jakarta, hal 3 – 29.
- Departemen Kesehatan RI. 2008. *Pedoman Pentalaksanaan Kaus Malaria di Indonesia*. Jakarta, hal. 11 – 24.
- Departemen Parasitologi FKUI. 2008. *Buku Ajar Parasitologi Kedokteran Edii Keempat*. Balai Penerbit FKUI. Jakarta, hal. 189 – 211.
- Hankins, E. G., Warhurst, D. C. dan Sibley, C. H. 2001. Novel alleles of the *Plasmodium falciparum* dhfr highly resistant to pyrimethamine and chlorcycloguanil, but not WR99210. *Molecular and Biochemical Parasitology*. 117(5): 91–102.
- Hapuarachchi, HC dkk. 2006. Point mutations in the dihydrofolate reductase and dihydropteroate synthase genes of *Plasmodium falciparum* and

- resistance to sulfadoxine-pyrimethamine in Sri Lanka . *Am J Trop Med Hyg*, 74:198-204.
- Hunt, S.Y., Rezvani, B.B. and Sibley, C.H. 2005. Novel alleles of Plasmodium falciparum dhfr that confer resistance to chlorcycloguanil. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 139:25-32.
- Kusumaningtyas, A.M. 2008. *Frekuensi Alel-alel Resisten Plasmodium falciparum terhadap Obat Antimalaria Klorokuin dan Sulfadoksin-Pirimetamin di Kabupaten Sumba Barat,Nusa Tenggara Timur*. Skripsi pada Jurusan MIPA Biologi yang tidak dipublikasikan, hal. 31-36.
- Laihad FJ, Gunawan S. 2000. Malaria di Indonesia Dalam : Harijanto PN (editor) Malaria, Epidemiologi, Patogenesis, Manifestasi Klinis, & Penanganan (halaman 17 – 22.). Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Lampiran Keputusan Menteri Kesehatan Nomor 239/Menkes/SK/IV/2009.PT Balai Pustaka,Jakarta, hal. 17.
- Lynch C dkk. 2008. Emergence of a dhfr mutation conferring highlevel drug resistance in Plasmodium falciparum populations fromsouthwest Uganda. *J Infect Dis*, 197:1598-1604.
- Kublin, J. G., dkk. 2002. Molecular markers for failure of sulfadoxine-pyrimethamine and chlorproguanil-dapsone treatment of Plasmodium falciparum malaria. *Journal of Infectious Diseases*, 23(1): 34-39.
- Melisa dkk. 2011. The evolution of pyrimethamine resistant dhfr in Plasmodium falciparum of south-eastern Tanzania:comparing selection under SP alone vs SP+artesunate combination. *Malaria Journal*, 10 (1): 317.
- Nzila, A., dkk. 2000. Towards an understanding of the mechanism of pyrimethamine/sulfadoxine resistance in Plasmodium falciparum: the genotyping of dihydrofolate reductase and dihydropteroate synthase of Kenyan parasites. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44:991-996.
- Roper C dkk.2004. Intercontinental spread of pyrimethamine resistant malaria. *Science* , 305:1124.
- Subdit Malaria Dirjen PP dan PL. 2009. Epidemiologi Malaria di Indonesia. Departemen Kesehatan, Jakarta hal 17
- Sungano dkk. 2011. Malaria antifolate resistance with contrasting Plasmodium falciparum dihydrofolate reductase (DHFR) polymorphisms in humans and Anopheles mosquitoes 1 (2) (www.pnas.org/lookup/suppl/doi:10.1073/pnas.1116162108/-DCSupplemental. Diakses 2 Agustus 2012)
- Suryo. 2003. Genetika Manusia. Universitas Gajah Mada Press, Yogyakarta

- Syafruddin, D., P. B. S. Asih, J.E Siregar, & E. Tjitra. 2003. Molecular basis of Antimalarial drug resistance in Indonesia. *Dalam:* Marsuki, S., J. Verhoef & H. Snippe. 2003. *Tropical diseases: From molecule to bedside.* Kluwer Academic/Plenum Publisher, New York: 103-115.
- Syafruddin, D., P. B. S. Asih, S.L Anggarwal, & A.H. Shankar. 2003. Frequency distribution of antimalarial drug-resistant alleles among isolates of *Plasmodium falciparum* in Purwokerto district, Central Java Province, Indonesia. *Am. j. Trop. Med. Hyg.* 69(6):614-620.
- Syafruddin, D., P. B. S. Asih, G.J Casey, J.Maguire, J.K Baird, H.S. Nagesha, A.F. Cowman, & J.C. Reeder. 2005. Molecular epidemiology of *Plasmodium falciparum* resistance to antimalarial drugs in Indonesia. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 72(2): 174-181
- Syafruddin, D. dkk. 2006. Malaria in Wanokaka and Loli sub-district, West Sumba District, East Nusa Tenggraa Province, Indonesia. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 74(5):733-737. Penanganan. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, hal 194 - 223.
- Tjitra, E dkk. 2001. Therapy of uncomplicated *falciparum* Malaria : A Randomized trial comparing artesunate plus sulfadoxine-phylmetamine versus sulfadoxine-phylmetamine alone in Irian Jaya. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 65(4):309-317.
- Walliker,D., H. Babiker, L. Ranford-Cartwright. 1998. The Genetic Structure of Malaria Parasite Population. *Dalam :* Sherman,I.W. (ed.). 1998. *Malaria Parasite : Biology, pathogenesis and protection.* ASM Press, Washington D.C : 235-252.
- Wangai dkk. 2011. Prevalence of the *P. falciparum* mutant dhps/dhfr genes 10 years after introduction of sulfadoxine pyrimethamine in the main malarial zones in Kenya. 9 (17): 1-5
- WHO. 2000. *Expert Committee on Malaria. Twentieth report. Drug resistance of malaria parasites.* WHO, Geneva, 2000; 27-34. Saunders Company, Philadelphia, 614- 643.
- WHO. 2008. WHO-Malaria (<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs094/en/>. Diakses 16 Juli 2012)
- WHO. 2012. World Health Organisation - World Malaria Day 2012. (http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2012/malaria_20120424/en/index.html. Diakses 10 Juli 2012)