

2013

**IDENTIFIKASI MUTASI TITIK K76T GEN *pfcrt*
Plasmodium falciparum SEBAGAI MARKER
RESISTENSI KLOROKUIN PADA
PENDERITA MALARIA DI
SUMATERA SELATAN**

Skripsi

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



Oleh:
Rizka Amelia
04091001041

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
2013**

S
6/6.93
Riz
i
2013

Record : 21075
Reg : 21539



**IDENTIFIKASI MUTASI TITIK K76T GEN *pfCRT*
Plasmodium falciparum SEBAGAI MARKER
RESISTENSI KLOROKUIN PADA
PENDERITA MALARIA DI
SUMATERA SELATAN**

Skripsi

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



Oleh:
Rizka Amelia
04091001041

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
2013**

HALAMAN PENGESAHAN

IDENTIFIKASI MUTASI TITIK K76T GEN *pf crt* *Plasmodium falciparum* SEBAGAI MARKER RESISTENSI KLOROKUIN PADA PENDERITA MALARIA DI SUMATERA SELATAN

Oleh:

Rizka Amelia
04091001041

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat guna memeroleh gelar Sarjana Kedokteran

Palembang, 10 Januari 2013

Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya

Pembimbing I

Merangkap Penguji I

Dr. dr. Mgs. H. M. Irsan Saleh, MBiomed

NIP. 19660929 199601 1 001

Pembimbing II

Merangkap Penguji II

dr. Mutiara Budi Azhar, SU, MMedSc

NIP. 19520107 198303 1 001

Penguji III

dr. H. Syahril Azis, MKes, SpFK

NIP. 195004210 1976021 001



PERNYATAAN

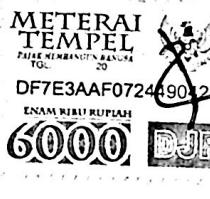
Saya yang bertanda-tangan di bawah ini dengan ini menyatakan bahwa:

1. Karya tulis saya, skripsi ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik (sarjana, magister dan/atau doctor*), 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, 10 Januari 2013

Yang membuat pernyataan



Rizka Amelia
04091001041

* Coret yang tidak perlu

ABSTRAK

IDENTIFIKASI MUTASI TITIK K76T GEN *pfcrt* *Plasmodium falciparum* SEBAGAI MARKER RESISTENSI KLOROKUIN PADA PENDERITA MALARIA DI SUMATERA SELATAN

(Rizka Amelia, Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya, 2013, 48 halaman)

Latar Belakang: Malaria adalah penyakit infeksi parasit yang disebabkan oleh *Plasmodium spp.* Diantara keempat spesies dari genus tersebut, *Plasmodium falciparum* menyebabkan penyakit malaria yang lebih serius dengan angka kematian tertinggi. Klorokuin telah menjadi obat pilihan untuk terapi (*first line drug*) dan kemoprofilaksis sejak tahun 1940-an. Akan tetapi, saat ini penggunaannya terhadap *Plasmodium falciparum* sangat berkurang setelah terjadinya resistensi klorokuin (CQR). CQR dihubungkan dengan terjadinya mutasi K76T gen *Plasmodium falciparum chloroquine resistance transporter* (*pfcrt*). Sejauh ini penelitian mengenai distribusi resistensi *Plasmodium falciparum* terhadap klorokuin di Sumatera Selatan baru dilaksanakan di Ogan Komering Ulu (OKU).

Tujuan: penelitian ini bertujuan untuk melakukan evaluasi molekuler sebagai marker mutasi titik K76T gen *pfcrt* *Plasmodium falciparum* yang berhubungan dengan resistensi klorokuin pada penderita malaria di Sumatera Selatan.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian laboratorium, yang juga merupakan penelitian deskriptif observasional dengan pendekatan *cross sectional* terhadap 30 subjek penderita malaria. Identifikasi mutasi titik K76T gen *pfcrt* *Plasmodium falciparum* dilakukan dengan teknik *Nested Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP).

Hasil: Pada penelitian ini dapat diidentifikasi bahwa tidak ada amplikon dengan genotip *wild type* KK (0%), 2 amplikon (8%) dengan genotip heterozigot KT dan 23 amplikon (92%) dengan genotip mutan homozigot TT (92%). Distribusi alel varian yang didapatkan adalah 2 alel K (4%) dan 48 alel T (96%).

Kesimpulan: Seluruh isolat yang diteliti ternyata membawa mutasi titik K76T gen *pfcrt* dengan tipe genotip yang paling dominan adalah genotip mutan homozigot. Hal ini membuktikan bahwa klorokuin sudah tidak adekuat lagi untuk mengobati malaria di Sumatera Selatan.

Kata Kunci: *Malaria, Mutasi Titik, K76T, Gen pfcrt.*

ABSTRACT

IDENTIFICATION OF POINT MUTATIONS K76T GENE *pfcrt* *Plasmodium falciparum* AS A MARKER ON RESISTANCE CHLOROQUINE PATIENTS MALARIA IN SOUTH SUMATRA

(Rizka Amelia, Medical Faculty of Sriwijaya University, 2013, 48 pages)

Background: Malaria is an infectious disease caused by the parasite *Plasmodium* spp. Among the four species of the genus, *Plasmodium falciparum* malaria causes more serious illness with the highest mortality rate. Chloroquine has been the drug of choice for treatment (first line drug) and chemoprophylaxis since the 1940's. However, the current use against *Plasmodium falciparum* greatly reduced after the chloroquine resistance (CQR). CQR linked to gene mutation K76T *Plasmodium falciparum* chloroquine resistance transporter (*pfcrt*). So far study about distribution of *Plasmodium falciparum* resistance to chloroquine in South Sumatra was only implemented in Ogan Komering Ulu (OKU).

Objective: This study aimed to evaluate a molecular marker gene *pfcrt* K76T point mutation associated with *Plasmodium falciparum* chloroquine resistance on malaria in South Sumatra.

Methods: This study is a laboratory research, which is also an observational descriptive study with cross-sectional design on 30 subjects with malaria. The identification of point mutations K76T gene *pfcrt* of *Plasmodium falciparum* was done by using the Nested Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP).

Results: There is no amplicon with wild-type genotype KK (0%), 2 amplicons (8%) with a heterozygous genotype KT and 23 amplicons (92%) with the homozygous mutant genotype TT (92%) was identified. Distribution of allele variant alleles obtained is 2 K (4%) and 48 T allele (96%).

Conclusion: All the isolates studied was carrying a point mutation K76T *pfcrt* genes with homozygous mutant genotype as the most dominant type genotype. It is proved that chloroquine is no longer an adequate drug to treat malaria in South Sumatra.

Key word: *Malaria, points mutation, K76T, Gene pfcrt.*

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT karena atas rahmat, karunia, dan kehendak-Nya jualah skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Skripsi yang berjudul “Identifikasi Mutasi Titik K76T Gen *pfcrt* *Plasmodium falciparum* sebagai Marker Resistensi Klorokuin pada Penderita Malaria di Sumatera Selatan” ini dibuat untuk memenuhi persyaratan guna memeroleh gelar Sarjana Kedokteran (S.Ked) di Universitas Sriwijaya.

Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih pada institusi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya, dekan, seluruh dosen dan karyawan FK Unsri. Melalui kepingan-kepingan ilmu yang saya dapatkan di fakultas tercinta inilah pada akhirnya saya dapat merasakan indahnya menjadi mahasiswa kedokteran dan menapaki mimpi-mimpi saya melalui karsa dan karya, yang salah satunya adalah skripsi ini.

Penulis mengucapkan terima kasih yang sedalam-dalamnya dan sebesar-besarnya kepada yang terhormat Dr. dr. H. Mgs. Irsan Saleh, MBiomed selaku pembimbing I yang telah memberi kepercayaan kepada penulis untuk melakukan penelitian di bidang biomolekuler dan meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, masukan, kemudahan, dan perbaikan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik dan tepat waktu.

Penulis juga mengucapkan terima kasih yang tiada tara kepada dr. Mutiara Budi Azhar, SU, MMedSc selaku pembimbing II yang telah berperan sebagai guru ilmiah sekaligus guru kehidupan bagi penulis. Banyak “pelajaran” yang secara tidak langsung penulis dapatkan dari beliau. Disiplin dan bersungguh-sungguh adalah “pelajaran” yang paling dominan penulis dapatkan. Terima kasih karena dokter selalu “ada” untuk kami. Dua kata yang mewakili beliau adalah *unforgettable* dan bersahaja.

Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada dr. H. Syahril Azis, M Kes, SpFK selaku dosen penguji dalam skripsi ini. Terima kasih atas masukan dan kritikan dokter yang bersifat sangat konstruktif bagi penulis.

Terimakasih juga penulis ucapkan kepada dr. Dwi Handayani yang sudah menjadi senior yang baik dan mengayomi adik-adik seniornya, dr.Ella Amalia dan mbak Venny yang sudah meluangkan waktu untuk mengajarkan dan membimbing teknik-teknik penelitian dengan sabar hingga penelitian selesai, rekan-rekan kelompok skripsi malaria (Febi, Khoti, dan Ama) yang sama-sama merasakan suka duka dalam pengerjaan penelitian, “galau” karena perizinan laboratorium, mencuri-curi waktu kuliah untuk melakukan penelitian hingga menjadi penghuni lab sejati, dari pagi sampe sore, dari senin sampe minggu.

Penulis juga berterimakasih kepada teman-teman 09 “Layo” dan “Bukit”, kelompok belajar penulis “Ulil Albab”, Irbas, sahabat yang selalu ada dikala suka dan duka penulis, Ridho dan Isni, teman sepermainan ping pong dikala jenuh dengan segala tantangan pembuatan skripsi, dan teman-teman lainnya yang telah mewarnai hidup penulis dengan beraneka ragam sifat, tingkah, dan kenangan, penulis ucapkan terima kasih. Nama kalian tidak tertulis disini, tetapi telah terukir di hati.

Persembahan terima kasih yang megabesarkan penulis berikan kepada kedua orang tua, ayahanda Ns. Umar, SKep, MKM dan ibunda Usmariati, AmKeb, atas limpahan kasih sayang dan doa tiada tara yang selalu tercurahkan kepada ananda, atas seluruh keringat, air mata, asa, dan harapan yang ditujukan kepada ananda. Kepada adinda Ridho Alfayet Umar beranilah untuk bermimpi besar dan berusahalah menggapai mimpi itu dengan sungguh-sungguh.

Terima kasih kepada seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu, yang telah banyak membantu menyelesaikan skripsi ini.

Akhirnya penulis mengharapkan kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan karya di masa yang akan datang. Semoga skripsi ini dengan segala keterbatasannya masih dapat memberikan manfaat bagi pembaca serta dapat menjadi rujukan bagi penelitian-penelitian selanjutnya.

Palembang, Januari 2013

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii

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.....	5
2.1.1 Definisi.....	5
2.1.2 Patogenesis.....	5
2.1.3 Diagnosis.....	6
2.2 <i>Plasmodium falciparum</i>	10
2.3 Obat Antimalaria	11
2.3.1 Obat Antimalaria Berdasarkan Susunan Kimia	11
2.3.2 Obat Antimalaria Menurut Stadium Parasit.....	14
2.4 Klorokuin	15
2.4.1 Spektrum Aktifitas Klorokuin.....	15
2.4.2 Penggunaan Klorokuin	15
2.4.3 Farmakokinetik.....	15
2.4.4 Toksisitas dan Efek Samping	16
2.4.5 Formulasi Obat.....	16
2.4.6 Kontra Indikasi.....	16
2.4.7 Interaksi Obat	17
2.4.8 Farmakologi Biokimiawi	17
2.4.9 Gen <i>pfcr1</i>	18
2.4.10 Resistensi Klorokuin.....	19
2.5 Uji Resistensi Klorokuin	22
2.6 Kerangka Teori.....	25

BAB III	METODE PENELITIAN	
3.1	Jenis Penelitian.....	26
3.2	Tempat dan Waktu	26
3.3	Populasi dan Sampel Penelitian	26
3.3.1	Populasi	26
3.3.2	Sampel	26
3.4	Kriteria Inklusi dan Kriteria Eksklusi	27
3.4.1	Kriteria Inklusi	27
3.4.2	Kriteria Eksklusi	27
3.5	Variabel Penelitian	28
3.6	Definisi Operasional.....	28
3.7	Pengumpulan Data	30
3.7.1	Sampel Darah.....	30
3.7.2	Isolasi DNA	31
3.7.3	Desain Primer yang Spesifik.....	32
3.7.4	<i>Nested PCR</i>	33
3.7.5	Deteksi Produk PCR dengan Elektroforesis Gel Agarose	35
3.7.6	Deteksi Polimorfisme K76T Gen <i>pfCRT</i> dengan Teknik RFLP.....	37
3.7.7	Pengolahan dan Analisis Data	37
3.7.8	Personalia Penelitian	37
3.8	Kerangka Operasional	39
BAB IV	HASIL PENELITIAN	
4.1	Hasil Visualisasi Elektroforesis Produk <i>Nested PCR</i> Gen <i>pfCRT</i>	40
4.2	Hasil Visualisasi RFLP Menggunakan Enzim <i>Apo I</i>	41
4.3	Profil dan Distribusi Genotip Gen <i>pfCRT</i>	42
4.4	Distribusi Alel Varian Mutasi Titik K76T Gen <i>pfCRT</i>	44
BAB V	PEMBAHASAN	45
BAB VI	KESIMPULAN DAN SARAN	
6.1	Kesimpulan	48
6.2	Saran	48
DAFTAR PUSTAKA		49
LAMPIRAN		52

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Derajat Resistensi Klorokuin dengan Uji Resistensi Secara <i>in vivo</i> ...	24
Gambar 2. Kerangka Teori.....	25
Gambar 3. Kondisi PCR Pertama untuk Amplifikasi Gen <i>pfCRT</i> K76T	34
Gambar 4. Kondisi PCR Kedua untuk Amplifikasi Gen <i>pfCRT</i> K76T.....	35
Gambar 5. Kerangka Operasional	39
Gambar 6. Visualisasi Gen <i>pfCRT</i> dengan Teknik <i>Nested PCR</i>	41
Gambar 7. Visualisasi Hasil Digesti Gen <i>pfCRT</i> dengan Enzim <i>Apo I</i>	42

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kondisi PCR Pertama untuk Amplifikasi Gen <i>pfcrt</i> K76T.....	34
Tabel 2. Sekuen Oligonukleotida Primer dan Enzim Retriksi yang Digunakan.....	35
Tabel 3. Hasil Positif Amplifikasi dan Amplikon Mutan.....	42
Tabel 4. Profil Genotip Gen <i>pfcrt</i>	43
Tabel 5. Distribusi Genotip Mutasi Titik gen <i>pfcrt</i> K76T pada Subjek Penelitian	44
Tabel 6. Distribusi Alel Varian Mutasi Titik K76T Gen <i>pfcrt</i>	44

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat-alat dan Proses Penelitian.....	52
Lampiran 2. Surat Izin Penelitian.....	55
Lampiran 3. Surat Keterangan Selesai Melakukan Penelitian	56
Lampiran 4. Biodata	57



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Malaria adalah penyakit infeksi parasit yang disebabkan oleh *Plasmodium spp.* Penularan penyakit ini terjadi melalui gigitan nyamuk *Anopheles* betina yang terinfeksi. Ada empat spesies *Plasmodium* yang secara khas menginfeksi manusia, yaitu: *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium vivax* dan *Plasmodium falciparum* (Jawetz, Melnick, dan Adelberg, 2007). Dua *Plasmodium* terakhir merupakan spesies yang biasanya menyebabkan malaria di Indonesia, yaitu *Plasmodium falciparum* (86,4%) dan *Plasmodium vivax* (6,9%) (Riskesdas, 2010). Diantara kedua spesies tersebut, *Plasmodium falciparum* menyebabkan penyakit malaria yang lebih serius dengan angka kematian tertinggi (Robbin, Kotran, dan Kumar, 2007).

Dalam skala dunia, kasus malaria telah terjadi sebanyak 216 juta kasus dan 655.000 kematian yang terjadi pada tahun 2010 (WHO, 2011). Di Indonesia, dalam kurun waktu 2005 hingga 2010, telah dilaporkan 1,25 hingga 2,5 juta kasus malaria, 45-50% diantaranya disebabkan oleh *Plasmodium falciparum* dan sekitar 500 kematian terjadi setiap tahunnya (WHO, 2010). Diperkirakan 35% penduduk Indonesia tinggal di daerah endemis malaria. Dari 484 kabupaten/kota yang ada di Indonesia, 338 kabupaten/kota merupakan wilayah endemis malaria (Depkes, 2008). Berdasarkan *Annual Paracite Incidence* (API) tahun 2008-2009, Papua Barat, NTT, dan Papua merupakan tiga provinsi di Indonesia dengan API tertinggi (Depkes, 2009).

Ada beberapa macam obat yang biasanya digunakan dalam terapi malaria. Salah satu diantaranya adalah klorokuin. Klorokuin telah menjadi obat pilihan untuk terapi (*first line drug*) dan kemoprofilaksis sejak tahun 1940-an karena obat ini efektif untuk semua spesies *Plasmodium*, efek obat cepat dalam menurunkan demam dan membersihkan parasit, aman digunakan walaupun dalam jangka panjang, mudah didapatkan, dan harganya murah (Katzung, 2010). Akan tetapi,

saat ini penggunaannya terhadap *Plasmodium falciparum* sangat berkurang setelah terjadinya resistensi klorokuin atau *chloroquine resistense* (CQR).

CQR pertama kali diidentifikasi pada tahun 1961 di Thailand dan tahun 1962 di Kolumbia. Dari kedua negara ini, resistensi meluas ke seluruh dunia, termasuk Indonesia. Kalimantan Timur merupakan daerah yang pertama kali ditemukan CQR pada tahun 1974, kemudian tahun 1996 kasus CQR ditemukan di seluruh provinsi di Indonesia (Acang, 2002).

Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan dalam beberapa tahun terakhir, telah diketahui bahwa CQR dihubungkan dengan mutasi gen *Plasmodium falciparum chloroquine resistance transporter (pfCRT)* yang terletak pada kromosom ke tujuh (Roepe, 2009). Substitusi *lysine* oleh *threonine* pada kodon 76 (K76T) gen *pfCRT* telah diidentifikasi berhubungan dengan CQR yang diisolasi secara *in vitro* dari Asia Tenggara, Amerika Selatan, Afrika, dan Papua New Guinea (Djimde *et al.*, 2001). Penelitian yang dilakukan oleh Maguire *et al.* (2001) melaporkan bahwa mutasi K76T gen *pfCRT* terkait dengan gejala klinis resistensi klorokuin dan digunakan sebagai marker molekuler yang memiliki sensitifitas sebesar 93% dan spesifitas sebesar 82%. Ada tiga jenis gambaran genotip pada gen *pfCRT*, yaitu K76 (*wild type*), K76T (mutasi heterozigot), dan 76T (mutasi homozigot).

Gen *pfCRT* merupakan salah satu gen yang terletak pada membran vakuola makanan *Plasmodium falciparum*. Mutasi pada gen *pfCRT* akan menyebabkan penurunan *influx* dan peningkatan *efflux* klorokuin, serta menurunkan pH vakuola makanan parasit (Fidock dan Valderamos, 2006). Secara keseluruhan, ketiga mekanisme ini menyebabkan *Plasmodium falciparum* resisten terhadap klorokuin.

Di Indonesia, penelitian telah dilakukan oleh Syafruddin *et al.* (2005) dengan tujuan untuk mengidentifikasi mutasi gen *pfCRT* di daerah endemik malaria di Indonesia. Mereka membagi menjadi dua daerah endemik, yaitu daerah endemik bagian barat (Nias, Lampung, Kokap, dan Kutai) dan daerah endemik bagian timur (Minahasa, Mamuju, Flores, dan Amopa). Dari hasil penelitian mereka dilaporkan bahwa di daerah endemik bagian timur, semua sampel yang diuji (85 sampel) menunjukkan adanya mutasi 76T gen *pfCRT*; di daerah endemik

bagian barat, 64 sampel dari 71 sampel yang diuji menunjukkan adanya mutasi 76T gen *pfcrt* dan satu sampel K76T gen *pfcrt* (Syafruddin *et al.*, 2005). Penelitian lain yang dilakukan oleh Marbun (2009) di Kabupaten Ogan Komering Ulu (OKU) Provinsi Sumatera Selatan melaporkan bahwa dari 100 penderita malaria falsiparum, 25 diantaranya mengalami resistensi klorokuin, dan dari 25 orang tersebut semuanya mengalami mutasi titik K76T.

Sejak tahun 2004, *drug of choice* untuk terapi malaria falsiparum adalah obat kombinasi derivat artemisinin yang dikenal dengan *Artemisinin-based Combination Therapy* (ACT) (Depkes, 2008). Namun, pada pelaksanaan di lapangan, masih ditemukan penggunaan klorokuin sebagai pilihan terapi utama, contohnya di Provinsi Sumatera Selatan. Dari 15 kabupaten/kota di Sumatera Selatan, 12 kabupaten/kota masih menggunakan klorokuin sebagai *first line therapy*, sedangkan tiga kabupaten lainnya (Kabupaten Muara Enim, Musi Banyuasin, dan Ogan Komering Ulu) sudah menggunakan ACT (Dinkes Sumsel. 2010).

Prevalensi malaria di daerah endemis Provinsi Sumatera Selatan masih cukup tinggi dengan populasi kasus pada daerah Baturaja 27,07%, Lahat 22,08%, Sekayu 15,42%, dan Kota Palembang (kasus import dari Banyuasin). Sejauh ini penelitian mengenai distribusi resistensi *Plasmodium falciparum* terhadap klorokuin di Sumatera Selatan baru dilaksanakan di OKU. Penelitian di daerah endemis lain di Sumatera Selatan perlu dilakukan untuk mengetahui distribusi resistensi resistensi *Plasmodium falciparum* terhadap klorokuin. Penelitian ini dilakukan dengan teknik *Nested PCR-RFLP* dengan tujuan untuk mengidentifikasi mutasi titik gen *pfcrt* *Plasmodium falciparum* pada penderita malaria di Sumatera Selatan. Data hasil penelitian dapat digunakan sebagai bahan pertimbangan dalam mengambil kebijakan pengobatan malaria di Sumatera Selatan.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

Bagaimana distribusi mutasi titik K76T gen *pfcrt Plasmodium falciparum* sebagai marker resistensi klorokuin pada penderita malaria di Sumatera Selatan?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Secara umum penelitian ini bertujuan untuk melakukan evaluasi molekuler sebagai marker mutasi titik K76T gen *pfcrt Plasmodium falciparum* yang berhubungan dengan resistensi klorokuin pada penderita malaria di Sumatera Selatan.

1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini adalah:

1. Mengidentifikasi genotip K76, K76T, 76T gen *pfcrt Plasmodium falciparum* pada penderita malaria di Sumatera Selatan.
2. Mengidentifikasi alel varian K76, K76T, 76T gen *pfcrt Plasmodium falciparum* pada penderita malaria di Sumatera Selatan.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Manfaat teoritis dalam penelitian ini adalah memberikan landasan teoritis mengenai distribusi mutasi titik K76T gen *pfcrt Plasmodium falciparum* sebagai marker resistensi klorokuin pada penderita malaria di Sumatera Selatan.

1.4.2 Manfaat Terapan

Manfaat terapan dalam penelitian ini adalah:

1. Sebagai bahan pertimbangan dalam penggunaan klorokuin sebagai *first line therapy* pada malaria.
2. Informasi mengenai distribusi kasus resistensi terhadap klorokuin di Sumatera Selatan yang dapat dijadikan masukan bagi Departemen Kesehatan dalam upaya penyusunan dan perumusan langkah antisipatif.

DAFTAR PUSTAKA

- Acang, N. 2002. *Kasus Malaria Resisten Klorokuin di Bagian Penyakit Dalam Rumah Sakit Dr. M. Djamil Padang*. Majalah Kedokteran Indonesia. 52(11): 383-389.
- Ardiansyah, Feby. 2013. *Identifikasi Mutasi A437 Gen dhps sebagai Marker Resistensi Plasmodium falciparum terhadap Sulfadoksin di Sumatera Selatan*. Draft Skripsi pada Program Studi Pendidikan Dokter Umum Fakultas Kedokteran Unsri.
- Bennett, et al. 2004. *Drug resistance-associated pfcrt mutations confer decreased plasmodium falciparum digestive vacuolar pH*. Mol Biochem Parasitol. 133: 99-114.
- Cooper, et al. 2005. *pfcrt is more than the Plasmodium falciparum chloroquine resistance gene: a functional and evolutionary perspective*. Acta Trop. 94: 170-180.
- Depkes 2008. *Pedoman Penatalaksanaan Kasus Malaria di Indonesia*. Jakarta. Hal 1.
- Depkes. 2009. *Epidemiologi Malaria di Indonesia*. Jakarta. Hal 2-3.
- Dinkes Sumsel. 2010. *Profil Kesehatan Sumatera Selatan Tahun 2010*. Palembang. Hal 18.
- Dittrich, et al. 2005. *Falciparum malaria in the North of Laos: the occurrence and implications of the Plasmodium falciparum chloroquine resistance transporter (pfcrt) gene haplotype SVMNT*. Trop Med Int Health. 10: 1267-1270.
- Djimde, et al. 2001. *A molecular marker for chloroquine-resistant Falciparum malaria*. N Engl J Med. 344: 257-263.
- Durand, et al. 2001. *Analysis of pfcrt point mutations and chloroquine susceptibility in isolates of Plasmodium falciparum*. Mol Biochem Parasitol. 114: 95-102.
- Farooq, U dan Mahajan, RC. 2004. *Drug resistance in malaria*. J Vect Born Dis. 41: 45-53.
- Fidock, AD dan Valderramos, GS. 2006. *Transporters involve in resistance to antimalarial drug*. NIH Public Access. 27(11): 594-601.

- Fidock, et al. 2000. *Mutations in the Plasmodium falciparum digestive vacuole transmembrane protein pfCRT and evidence for their role in chloroquine Resistance.* Mol Cell. 6: 861–871.
- Foley, M dan Tilley, L. 1997. *Quinoline antimalarials mechanisms of action and resistance.* Intl J Parasitol. 27: 231–240.
- Harijanto. PN. 2009. Malaria. Dalam: Sudoyo. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam.* Interna Publishing, Jakarta, Indonesia.
- Jawetz, Melnick, dan Adelberg. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran* (edisi 23). Terjemahan oleh: Ratna. (editor). EGC, Jakarta, Indonesia. Hal 690-694.
- Jiang, et al. 2006. *Current understanding of the molecular basis of chloroquine-resistance in Plasmodium falciparum.* Journal of Postgraduate Medicine. 52(4): 271-276.
- Johnson, et al. 2004. *Evidence for a central role for pfCRT in conferring Plasmodium falciparum resistance to diverse antimalarial agent.* Mol Cell. 15: 867-877.
- Katzung. G. 2010. *Farmakologi Dasar dan Klinik* (Edisi 10). Terjemahan oleh Nugroho, et al. (editor). EGC, Jakarta, Indonesia. Hal 874-875.
- Keputusan Menteri Kesehatan Nomor 044 Tahun 2007 tentang Pedoman Pengobatan Malaria. 2007. Jakarta, Hal 1-2; 13-16.
- Krogstad, et al. 1987. *Efflux of chloroquine from Plasmodium falciparum: mechanism of chloroquine resistance.* Science. 235: 331-336.
- Marbun, RDP. 2009. *Prediktor Resistensi Klorokuin terhadap Malaria Falciparum.* Disertasi doktor yang tidak dipublikasikan pada Program Studi Biomedik Fakultas Kedokteran Unair [Abstrak].
- Maguire et al. 2001. *The T76 mutation in the pfCRT gene of Plasmodium falciparum and clinical chloroquine resistance phenotypes in Papua, Indonesia.* Ann Trop Med Parasitol. 95: 559–572.
- Riskesdas. 2010. Prevalensi Malaria Tahun 2010. Jakarta. Hal 6.
- Robbins, Cotran, dan Kumar. 2007. *Buku Ajar Patologi* (edisi 7). Terjemahan oleh Prasetyo. (editor). EGC, Jakarta, Indonesia. Hal 458-459.
- Roepe, PD. 2009. *The molecular and physiologic basis of quinoline drug resistance in Plasmodium falciparum.* 4(4): 441-455.

- Sanchez, Stein, dan Lanzer. 2003. *Trans stimulation provides evidence for a drug efflux carrier as the mechanism of chloroquine resistance in Plasmodium falciparum*. Biochemistry. 42: 9383-9394.
- Sanchez, et al. 2005. *Evidence for a pfCRT-associated chloroquine efflux system in the human malarial parasite Plasmodium falciparum*. Biochemistry. 44: 9862-9870.
- Sanchez, et al. 2007. *Differences in trans-stimulated chloroquine efflux kinetics are linked to pfCRT in Plasmodium falciparum*. Mol Microbiol. 64(2): 407-420.
- Sutanto, et al. 2008. *Buku Ajar Parasitologi Kedokteran*. Balai Penerbit FKUI. Jakarta. Indonesia. Hal 211-213.
- Syaffrudin, Din, et al. 2005. *Molecular epidemiology of Plasmodium falciparum resistance to antimalarial drugs in Indonesia*. 72(2): 174-181.
- Theodorus. 2006. *Obat Malaria. Dalam*: Staf Pengajar Departemen Farmakologi, Kumpulan Kuliah Farmakologi (185-189). EGC: Jakarta.
- Ursos, LM, DuBay, KF dan Roepe PD. 2001. *Antimalarial drugs influence the pH dependent solubility of heme via apparent nucleation phenomena*. Mol Biochem Parasitol. 112: 11-17.
- Warhurst, DC. 2003. *Polymorphism in the Plasmodium falciparum chloroquine-resistance transporter protein links verapamil enhancement of chloroquine sensitivity with the clinical efficacy of amodiaquine*. Malar J. 2: 19.
- Wellem, et al. 1990. *Chloroquine resistance not linked to mdr-like genes in a Plasmodium falciparum cross*. Nature. 345: 253-255.
- WHO. 2011. *Malaria Fact Sheet*. USA.
- WHO. 2010. *Malaria Situation in SEAR Countries in Indonesia*. Asia Tenggara.
- Zhang, H, Howard EM dan Roepe PD. 2002. *Analysis of the antimalarial drug resistance protein pfCRT expressed in yeast*. J. Biol. Chem. 277: 49767-49775.
- Zhang, H, Pagio M dan Roepe PD. 2004. *The antimalarial drug resistance protein Plasmodium falciparum chloroquine resistance transporter binds chloroquine*. Biochemistry. 43(26): 8290-8296.