

## BAB 5

### ANALISIS HASIL PENELITIAN

#### 5.1 Gambaran umum lokasi penelitian

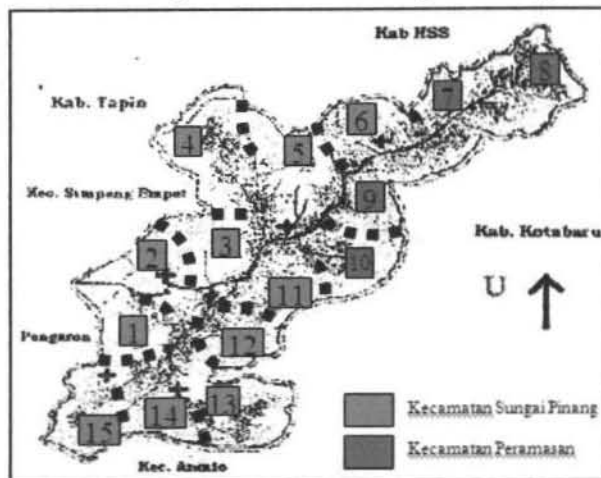
Secara geografis Kabupaten Banjar terletak antara  $2^{\circ} 49' 55''$  sampai  $3^{\circ} 43' 38''$  lintang selatan dan  $114^{\circ} 30' 20''$  sampai  $115^{\circ} 35' 37''$  bujur timur, mempunyai luas wilayah  $4668,5 \text{ km}^2$  yang terdiri dari 17 wilayah kecamatan, 7 kelurahan dan 281 desa.

Di Kabupaten Banjar, malaria masih menjadi permasalahan kesehatan masyarakat khususnya di daerah-daerah yang mempunyai kawasan hutan. Penyakit malaria lebih banyak ditemukan di pedesaan dan pada penduduk dengan pekerjaan sebagai petani/nelayan/ buruh. Malaria tersebar di semua kelompok umur (kecuali bayi), terutama di kelompok usia produktif. Penderita cenderung lebih tinggi pada laki-laki dibandingkan perempuan. Di Kabupaten Barito kuala, Banjar, Hulu Sungai Utara, dan Balangan yang prevalensi malarianya relatif tinggi, namun  $<50\%$  proporsi kasus malaria mendapat pengobatan dengan obat program dalam 24 jam menderita sakit (Risksedas Kalsel, 2007).

*Annual Malaria incidence (AMI)* puskesmas Sungai Pinang pada tahun 2008 adalah  $19,8\%$ . Puskesmas Peramasan sebelumnya merupakan satu wilayah puskesmas dengan Sungai Pinang, puskesmas Peramasan baru terbentuk tahun 2008, didapatkan data AMI sebesar  $101,8\%$  (Dinkes Banjar, 2009). Penelitian ini dilakukan di dua wilayah puskesmas di kabupaten Banjar yaitu puskesmas Sungai

Pinang dan Peramasan. Wilayah puskesmas Sungai Pinang terdiri dari 11 desa sedangkan puskesmas Peramasan terdiri dari 4 desa (lihat gambar 5.1).

Gambar 5.1 Peta wilayah Puskesmas Sungai Pinang dan Peramasan



- Keterangan
- |                         |                         |
|-------------------------|-------------------------|
| 1. Desa Kupang Rejo     | 9. Desa Remo            |
| 2. Desa Sungai Pinang   | 10. Desa Angkipih       |
| 3. Desa Pakutik         | 11. Desa Belimbing Lama |
| 4. Desa Rantau Nangka   | 12. Desa Sumber Baru    |
| 5. Desa Rantau Bakula   | 13. Desa Sumber Harapan |
| 6. Desa Belimbing Baru  | 14. Desa Kahela'an      |
| 7. Desa Peramasan Atas  | 15. Desa Hakim Makmur   |
| 8. Desa Peramasan Bawah |                         |

### 5.1.1 Kecamatan Sungai Pinang

Kecamatan Sungai Pinang merupakan daerah berbukit-bukit yang tersebar di daerah pegunungan Meratus dengan luas wilayah 458,65 km<sup>2</sup>, terdiri dari 11 desa dan kelurahan. Sebagian desa merupakan desa sangat terpencil dan hanya dapat dijangkau dengan kendaraan roda dua dan empat pada musim kemarau, sedangkan pada musim penghujan sulit dijangkau karena kondisi jalan yang tidak memungkinkan untuk dilalui kendaraan. Jumlah penduduk yang tercatat pada tahun 2008 sebesar 16245 jiwa, sebagian besar penduduknya bekerja sebagai petani

penggarap. Pada tahun 2008 ibu hamil dan neonatal dengan resiko tinggi/ komplikasi sebesar 14,8% dan 0,26%. Fasilitas kesehatan yang ada di kecamatan Sungai Pinang meliputi 1 puskesmas, puskesmas keliling, 4 polindes dan 16 posyandu. Tenaga kesehatan terdiri dari 2 orang dokter umum, 7 orang perawat yaitu 4 orang lulusan DIII Perawat dan 3 orang SPK, 4 orang Bidan serta 1 orang analis laboratorium (Dinkes Banjar, 2009).

Tabel 5.1 Karakteristik sampel ibu hamil di wilayah puskesmas Sungai Pinang

	Jumlah
Jumlah Ibu hamil	97
Kelompok Umur	
< 20 tahun	30
20-30 tahun	52
> 30 tahun	15
Graviditas	
Primigravida	48
Kehamilan ke 2	27
Kehamilan > 2	22

Dari 97 ibu hamil, sebagian besar berumur antara 20 – 30 tahun sebanyak 53,6%, graviditas ibu hamil terbanyak pada primigravida 49,5% (lihat tabel 5.1).

### 5.1.2 Kecamatan Peramasan

Kecamatan Peramasan memiliki luas wilayah 560.85 km<sup>2</sup> yang terdiri dari 4 desa dan kelurahan yaitu desa Peramasan Atas, Peramasan Bawah, Remo dan Angkipih. Jumlah penduduknya tercatat sebesar 3730 jiwa. Keadaan topografi wilayah ini merupakan daerah pegunungan dan dikelilingi oleh hutan lebat serta semak belukar, dengan sungai-sungai kecil di antara pertemuan gunung. Fasilitas kesehatan yang ada

di kecamatan Peramasan meliputi 1 puskesmas, puskesmas keliling, 3 polindes dan 2 posyandu. Tenaga kesehatan di Puskesmas Peramasan hanya terdiri dari 4 orang perawat yaitu 2 orang lulusan DIII Perawat dan 2 orang SPK, sedangkan analisis laboratorium belum ada (Dinkes Banjar, 2009).

Tabel 5.2 Karakteristik sampel ibu hamil di wilayah puskesmas Peramasan

	Jumlah
Jumlah Ibu hamil	30
Kelompok Umur	
< 20 tahun	9
20-30 tahun	20
> 30 tahun	1
Graviditas	
Primigravida	13
Kehamilan ke2	10
Kehamilan > 2	7

Pada penelitian didapatkan bahwa dari 30 ibu hamil, sebagian besar berumur antara 20 – 30 tahun sebanyak 60% dengan kehamilan pertama (primigravida) sebanyak 43,4% responden (lihat tabel 5.2).

## 5.2 Prevalensi Malaria pada Ibu hamil di wilayah puskesmas Sungai Pinang dan Peramasan

Tabel 5.3 Prevalensi malaria pada ibu hamil berdasar hasil pemeriksaan mikroskopis dan *nested* PCR di wilayah puskesmas Sungai Pinang dan Peramasan

Puskesmas	Jumlah sampel	Parasit malaria positif					
		Mikroskopis				<i>Nested</i> PCR	
		Sei Besar		ITD			
		Positif	Prevalensi	Positif	Prevalensi	Positif	Prevalensi
Sungai Pinang	97	11	11,3	10	10,3	6	6,2
Peramasan	30	14	46,7	13	43,3	6	20
Total	127	25	19,6	23	18,1	12	9,4

\*Mikroskopis adalah metode pemeriksaan parasit malaria berupa sediaan darah tetes tebal dan hapusan tipis yang diwarnai dengan Giemsa, berbagai bagian parasit akan memberi warna merah pada kromatin (inti) dan biru pada sitoplasma. Pembacaan sediaan darah malaria dengan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 1000X (10X100) dalam minyak immersi.

\*\* PCR adalah suatu metode *in vitro* untuk mengamplifikasi segmen DNA dari suatu kompleks DNA melalui suatu reaksi enzimatik. PCR kedua (*nested* PCR) yang dilakukan setelah selesai PCR pertama akan meningkatkan spesifitas dan sensitifitas dari PCR. Sebagai DNA sasaran untuk identifikasi parasit malaria adalah fragmen dari gen penyandi 18S rRNA *Plasmodium* (*small sub unit ribosomal RNA Plasmodium*) yang panjangnya sekitar 138-160 bp, yang dibatasi oleh sepasang primer yang spesifik untuk spesies *Plasmodium* yang menginfeksi manusia.

Berdasarkan hasil pemeriksaan mikroskopis dan *nested* PCR di ITD Unair didapatkan bahwa prevalensi malaria pada ibu hamil di wilayah puskesmas Peramasan lebih besar daripada di Sungai Pinang yaitu sebesar 43,3% dengan pemeriksaan mikroskopis dan 20% berdasar pemeriksaan *nested* PCR, sedangkan pemeriksaan mikroskopis di Puskesmas Sei Besar didapatkan prevalensi malaria pada ibu hamil sebesar 46,7%.

Tabel 5.4 Gravida dan malaria pada ibu hamil

Malaria	Gravida		
	Primigravida	secundigravida	multigravida
Malaria falciparum	2	2	0
Malaria vivax	3	2	0
Malaria mix	3	0	0
<b>Total</b>	<b>8</b>	<b>4</b>	<b>0</b>

Malaria : infeksi yang disebabkan spesies dari *Plasmodium* yang diidentifikasi berdasarkan hasil pemeriksaan *nested* PCR

Malaria Mix : infeksi campuran antara Pf dan Pv

Dari 12 ibu hamil yang terinfeksi parasit malaria didapatkan bahwa paling banyak terinfeksi pada kehamilan pertama (primigravida) (lihat tabel 5.4)

### 5.3 Pemeriksaan parasit malaria dengan cara mikroskopis dan *nested* PCR

Hasil pemeriksaan parasit malaria pada ibu hamil dengan cara mikroskopis dan *nested* PCR dapat dilihat pada tabel 5.5

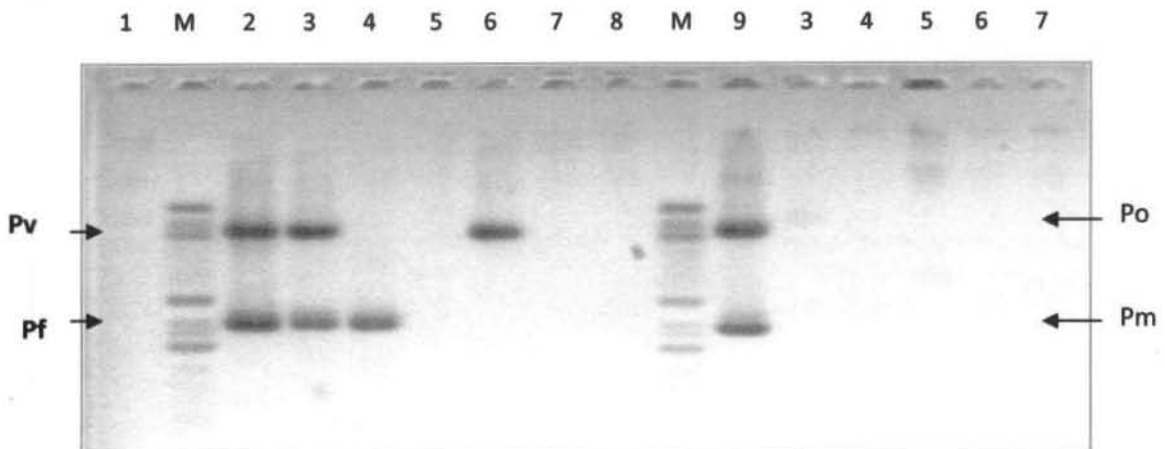
Tabel 5.5 Parasit malaria yang menginfeksi ibu hamil berdasarkan pemeriksaan mikroskopis dan *nested* PCR di wilayah puskesmas Sungai Pinang dan Peramasan

Puskesmas	Mikroskopis				<i>Nested</i> PCR			
	Negatif	Pf	Pv	Mix Pf dan Pv	Negatif	Pf	Pv	Mix Pf dan Pv
Sungai Pinang	10	1	5	4	10	1	3	2
Peramasan	3	3	6	4	3	3	2	1

Pf : *Plasmodium falciparum*, Pv: *Plasmodium vivax*, Mix Pf dan Pv : infeksi campuran antara Pf dan Pv

Dari hasil pemeriksaan mikroskopis dapat dilihat bahwa spesies *Plasmodium* yang paling banyak menginfeksi ibu hamil di Sungai Pinang dan Peramasan adalah *Plasmodium vivax*, sedangkan hasil pemeriksaan *nested* PCR didapatkan bahwa spesies *Plasmodium* yang paling banyak menginfeksi ibu hamil di Sungai Pinang

adalah *Plasmodium vivax* dan di Peramasan didapatkan spesies *P. falciparum*. Ada perbedaan antara hasil pemeriksaan mikroskopis dan *nested* PCR, dengan pemeriksaan mikroskopis didapatkan parasit malaria sebanyak 10 di Sungai Pinang dan 13 di Peramasan sedangkan dengan *nested* PCR di Sungai Pinang dan Peramasan didapatkan jumlah yang sama yaitu 6 parasit malaria. Pada sampel ibu hamil yang dengan pemeriksaan mikroskopis negatif, dilakukan pemeriksaan *nested* PCR, sampel dipilih secara random sebanyak 10% dari keseluruhan jumlah sampel negatif. Hasil pemeriksaan *nested* PCR semua negatif (lihat tabel 5.5). Hasil pemeriksaan *nested* PCR untuk identifikasi spesies *Plasmodium* dapat dilihat pada gambar 5.2

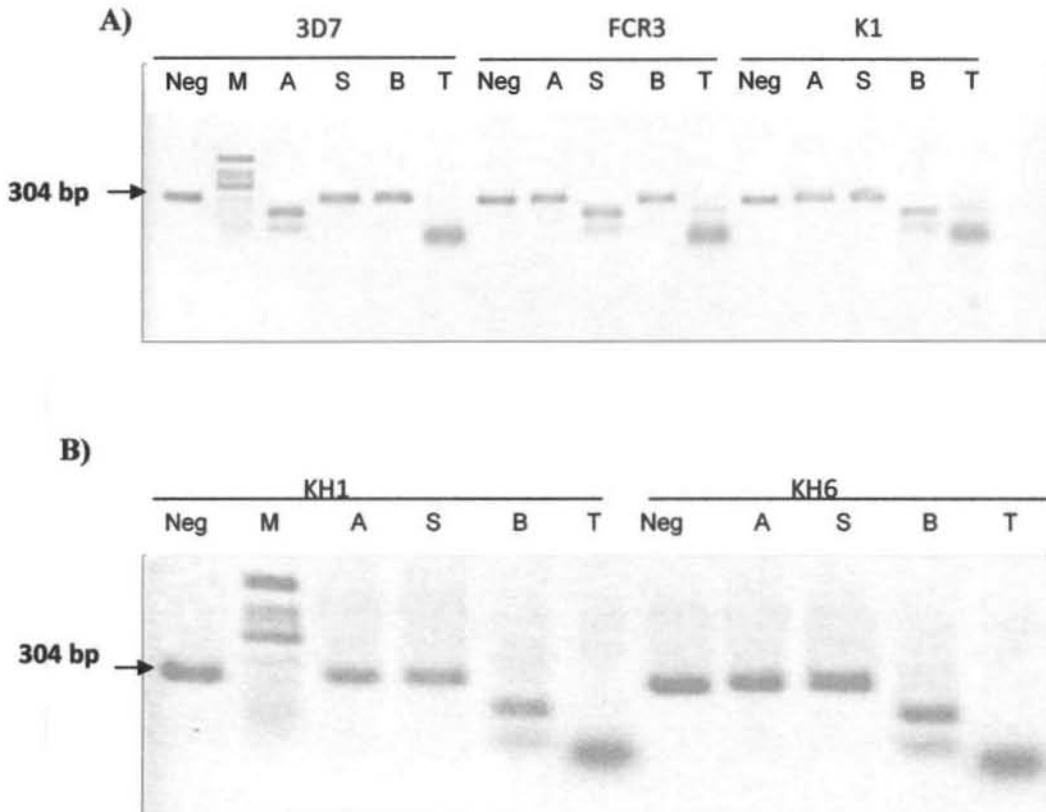


Gambar 5.2 Hasil identifikasi parasit malaria dengan metode *nested* PCR. Pf: *Plasmodium falciparum*; Pv : *P.vivax*; Pm: *P. malariae*; Po: *P.ovale*. M adalah Marker one step-9. Hasil amplifikasi DNA sampel oleh primer spesifik yang mengkode gen 18s rRNA untuk spesies Pf, Pv, Pm dan Po terlihat pada kolom 3-7. Kontrol negatif Pf dan Pv pada kolom 1 dan kontrol negatif Pm dan Po pada kolom 8. Kontrol positif Pf dan Pv pada kolom 2 dan kontrol positif Pm dan Po pada kolom 9.

## 5.4 Analisa gen PfdHFR dan PfdHPS

### 5.4.1 Identifikasi mutasi gen PfdHFR dengan metode *nested* PCR-RFLP

Hasil identifikasi mutasi gen PfdHFR dengan metode *nested* PCR-RFLP dapat dilihat pada gambar 5.3 dan tabel 5.6



Gambar 5.3 Identifikasi mutasi gen PfdHFR dengan metode *nested* PCR-RFLP. M adalah marker one step-9 menunjukkan lokasi amplifikasi DNA yang terpotong oleh enzim-enzim restriksi : Alu I (kolom A), ScrF I (kolom S), Bsr I (kolom B), Negatif adalah tanpa pemotongan enzim restriksi. A) Mutasi PfdHFR pada kodon 108 ditunjukkan dengan pemotongan enzim restriksi Bsr I (serin 108 asparagin) pada strain *P. falciparum* K1 (Kontrol N108), pemotongan enzim ScrF I (serin 108 threonin) pada strain Pf FCR3 (Kontrol T108), dan pemotongan enzim restriksi Alu I pada strain Pf 3D7 menunjukkan *wild type* (S108). Mutasi PfdHFR di kodon 51 ditunjukkan dengan pemotongan enzim restriksi TSP 509 I (asparagin 51 isoleusin) yaitu I51. B) Mutasi PfdHFR di kodon 108 pada sampel KH1 dan KH6 menunjukkan N108 dan I51. 3D7 dan FCR3



adalah strain *P. falciparum* yang berasal dari Afrika, K1 adalah strain *P. falciparum* yang berasal dari Thailand

Tabel 5.6 Mutasi gen PfdHFR dengan metode *nested* PCR-RFLP pada *P. falciparum* yang menginfeksi ibu hamil di wilayah puskesmas Sungai Pinang dan Peramasan

Sampel	PfdHFR	
	51	108
KH1	<b>Ile</b>	<b>asn</b>
KH6	<b>Ile</b>	<b>asn</b>
KH9	<b>Ile</b>	<b>asn</b>
KH14*	<b>Ile</b>	<b>asn</b>
KH16*	<b>Ile</b>	<b>asn</b>
KH17	<b>Ile</b>	<b>asn</b>
KH23	<b>Ile</b>	<b>asn</b>

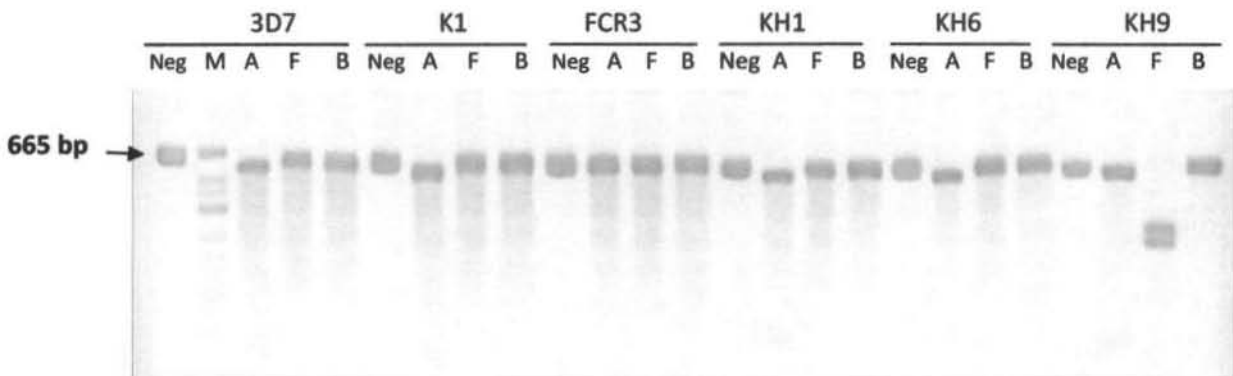
Kodon yang mengalami mutasi ditandai dengan huruf cetak tebal

\* Sampel dari wilayah puskesmas Sungai Pinang

Hasil positif *P. falciparum* yang teridentifikasi dengan metode *nested* PCR dilakukan *nested* PCR-RFLP dan didapatkan bahwa dari 7 sampel ibu hamil yang positif *P. falciparum* semua mengalami mutasi *double* yaitu mutasi gen PfdHFR di kodon 108 terjadi perubahan dari serin menjadi asparagin (N108) dan kodon 51 dari asparagin menjadi isoleusin (I51)

### 5.4.2 Identifikasi mutasi gen PfdHPS dengan metode *nested* PCR-RFLP

Hasil identifikasi mutasi gen PfdHPS dengan metode *nested* PCR-RFLP dapat dilihat pada gambar 5.4 dan tabel 5.7



Gambar 5.4 Identifikasi mutasi gen PfdHPS dengan metode *nested* PCR-RFLP. M adalah marker one step-9 menunjukkan lokasi amplifikasi DNA yang terpotong oleh enzim-enzim restriksi : Ava II (kolom A), Folk I (kolom F), Bst UI (kolom B). Negatif adalah tanpa pemotongan enzim restriksi. Mutasi PfdHPS di kodon 437 ditunjukkan dengan pemotongan enzim restriksi Ava II (alanin 437 glyserin) pada strain *P.falciparum* K1 dan strain Pf 3D7 (Kontrol G437). FCR3 menunjukkan *wild type*. Mutasi PfdHPS di kodon 540 ditunjukkan dengan pemotongan enzim restriksi Folk I (leusin 540 glutamat) yaitu E540. Mutasi PfdHPS di kodon 581 ditunjukkan dengan pemotongan enzim restriksi Bst UI (alanin 581 glyserin) yaitu G581. Mutasi PfdHPS di kodon 437, pada sampel KH1, KH6 dan KH 9 ( G437) dan di kodon 540 pada KH9 (E540)

Tabel 5.7 Mutasi gen PfdHPS dengan metode *nested* PCR-RFLP pada *P.falciparum* yang menginfeksi ibu hamil di wilayah puskesmas Sungai Pinang dan Peramasan

Sampel	PfdHPS		
	437	540	581
KH1	<b>gly</b>	leu	ala
KH6	<b>gly</b>	leu	ala
KH9	<b>gly</b>	<b>glu</b>	ala
KH14*	<b>gly</b>	leu	ala
KH16*	<b>gly</b>	leu	ala
KH17	<b>gly</b>	leu	ala
KH23	<b>gly</b>	leu	ala

Kodon yang mengalami mutasi ditandai dengan huruf cetak tebal

\* Sampel dari wilayah puskesmas Sungai Pinang

Dalam identifikasi mutasi gen PfdHPS ini didapatkan hasil bahwa dari 7 sampel ibu hamil yang positif *P. falciparum* 6 sampel mengalami mutasi tunggal gen PfdHPS di kodon 437 yaitu terjadi perubahan dari alanin menjadi glisin (G437) dan hanya 1 sampel yaitu KH9 yang mengalami mutasi *double* yaitu G437 dan kodon 540, dimana terjadi perubahan dari leusin menjadi glutamat (E540).

Tabel 5.8 Mutasi gen PfdHFR dan PfdHPS dan kepadatan parasit/ul pada *P.falciparum* yang menginfeksi ibu hamil di wilayah puskesmas Sungai Pinang dan Peramasan

Sampel	Mikroskopis			<i>Nested</i> PCR-RFLP				
	Pf	Mix Pf dan Pv	Kepadatan parasit/ul	PfdHFR		PfdHPS		
				51	108	437	540	581
KH1	Pf		35405	<b>lle</b>	<b>asn</b>	<b>gly</b>	leu	ala
KH6		<i>mix</i>	33742	<b>lle</b>	<b>asn</b>	<b>gly</b>	leu	ala
KH9		<i>mix</i>	320	<b>lle</b>	<b>asn</b>	<b>gly</b>	<b>glu</b>	ala
KH14*	Pf		45962	<b>lle</b>	<b>asn</b>	<b>gly</b>	leu	ala
KH16*		<i>mix</i>	4815	<b>lle</b>	<b>asn</b>	<b>gly</b>	leu	ala
KH17	Pf		2395	<b>lle</b>	<b>asn</b>	<b>gly</b>	leu	ala
KH23	Pf		6834	<b>lle</b>	<b>asn</b>	<b>gly</b>	leu	ala

*Mix* Pf dan Pv : infeksi campuran antara Pf dan Pv

Kodon yang mengalami mutasi ditandai dengan huruf cetak tebal

\* Sampel dari wilayah puskesmas Sungai Pinang

Dari hasil penelitian didapatkan bahwa 6 dari 7 sampel ibu hamil yang positif *P. falciparum* mengalami mutasi *triple* yaitu *double* PfdHFR (N108 dan I51), serta mutasi tunggal gen PfdHPS G437. Satu sampel mengalami mutasi *quadruple* yaitu *double* PfdHFR (N108 dan I51) dan *double* PfdHPS (G437 dan E540). Mutasi gen PfdHFR T108 (asparagin menjadi threonin) dan PfdHPS G581 (alanin menjadi glisin) tidak didapatkan dalam penelitian ini. Dari hasil perhitungan kepadatan parasit/ul darah dari masing-masing sampel didapatkan bahwa kepadatan parasit bervariasi. Kepadatan parasit/ul darah paling rendah didapatkan pada sampel KH9, yaitu sampel dengan infeksi campuran Pf dan Pv, serta mengalami mutasi *quadruple* (lihat tabel 5.8)