

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
PERNYATAAN	ii
PRAKATA	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	xi
ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN	xii
INTISARI	xiii
ABSTRACT	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Perumusan Masalah	6
I.3 Tujuan	7
I.4 Keaslian Penelitian	7
I.5 Manfaat Penelitian	9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	11
II.1 Telaah Pustaka	11
a. Soil Transmitted Helminth	11
<i>Ascaris lumbricoides</i>	12
<i>Trichuris trichiura</i>	14
<i>Necator americanus</i>	15
b. Diagnosis Laboratorium.....	16
c. Polymerase Chain Reaction (PCR)	18
d. Penggunaan PCR untuk deteksi Infeksi STH.....	20
e. Multiplex PCR.....	23
II.2 Landasan Teori	25
II.3 Kerangka Teori	27
II.4 Kerangka Konsep	28
II.5 Pertanyaan penelitian.....	28
BAB III METODE PENELITIAN	29
III.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	29
III.2 Variabel Penelitian	29
III.3 Definisi Operasional	30
III.4 Bahan dan Alat Penelitian	32
1. Sampel Penelitian	32
2. Bahan Penelitian	32
3. Alat Penelitian	33
III.5 Jalannya Penelitian	33
1. <i>Ethical Clearence</i>	33
2. Cara Kerja	33
III.6 Analisis Hasil	39

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	40
IV.1 Hasil Penelitian	40
IV.2 Pembahasan	77
IV.3 Keterbatasan Penelitian	84
BAB V KESIMPULAN, SARAN, DAN RINGKASAN	85
V.1 Kesimpulan	85
V.2 Saran	85
V.3 Ringkasan	86
Latar Belakang	86
Tinjauan Pustaka	87
Metode Penelitian	95
Hasil dan Pembahasan	97
DAFTAR PUSTAKA	101
LAMPIRAN	109

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Target yang dilaporkan di literatur untuk deteksi STH (<i>A.lumbricoides</i> , <i>T. trichiura</i> , dan <i>N.americanus</i>) menggunakan metode PCR	20
Tabel 2.	Urutan nukleotida primer STH (<i>A. lumbricoides</i> , <i>T. trichiura</i> , dan cacing kait) yang digunakan pada multipleks PCR	25
Tabel 3.	Hasil pemeriksaan mikroskopis STH secara langsung 15 sampel yang telah disimpan dalam ethanol selama 3 tahun.....	56
Tabel 4.	Perbandingan pemeriksaan mikroskopis STH (<i>A. lumbricoides</i> , <i>T. trichiura</i> , dan cacing kait) dan multiplex PCR (<i>A.lumbricoides</i> , <i>T. trichiura</i> , dan <i>N.americanus</i>) dengan volume sampel 5 mg, volume <i>template</i> 2 µl, dan suhu <i>annealing</i> 53°C	61
Tabel 5.	Perbandingan pemeriksaan mikroskopis STH (<i>A. lumbricoides</i> , <i>T. trichiura</i> , dan cacing kait) dan multiplex PCR STH (<i>A.lumbricoides</i> , <i>T. trichiura</i> , dan <i>N.americanus</i>) dengan volume sampel 30 mg, volume <i>template</i> 5 µl dan suhu <i>annealing</i> 53°C.....	64
Tabel 6.	Perbandingan pemeriksaan mikroskopis STH (<i>A. lumbricoides</i> , <i>T. trichiura</i> , dan cacing kait) dan multiplex PCR STH (<i>A.lumbricoides</i> , <i>T. trichiura</i> , dan <i>N.americanus</i>) dengan volume sampel 50 mg, volume <i>template</i> 5 µl, dan suhu <i>annealing</i> 53°C)	67
Tabel 7.	Perbandingan pemeriksaan mikroskopis STH (<i>A. lumbricoides</i> , <i>T.trichiura</i> , dan cacing kait) dan multiplex PCR STH (<i>A.lumbricoides</i> , <i>T. trichiura</i> , dan <i>N.americanus</i>) dengan volume sampel 100mg, volume <i>template</i> 5µl, suhu <i>annealing</i> 53°C, dan homogenisasi <i>bead beater</i>	69
Tabel 8.	Perbandingan pemeriksaan mikroskopis STH (<i>A. lumbricoides</i> , <i>T.trichiura</i> , dan cacing kait) dan multiplex PCR STH (<i>A.lumbricoides</i> , <i>T.trichiura</i> , dan <i>N.americanus</i>) dengan volume sampel 100 mg, volume <i>template</i> 5 µl, suhu <i>annealing</i> 53°C, dan perlakuan pre ekstraksi DNA (<i>bead beater</i> dan nitrogen cair)	71
Tabel 9.	Perbandingan pemeriksaan mikroskopis STH (<i>A. lumbricoides</i> , <i>T.trichiura</i> , dan cacing kait) dan multiplex PCR STH (<i>A.lumbricoides</i> , <i>T.trichiura</i> , dan <i>N.americanus</i>) dengan volume sampel 200 mg, volume <i>template</i> 5µl, suhu <i>annealing</i> 53°C dan perlakuan tambahan pre isolasi DNA (<i>bead beater</i> dan nitrogen cair)	74

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Morfologi telur <i>A.lumbricoides</i> fertil dengan mikroskop cahaya perbesaran 500x	13
Gambar 2.	Morfologi telur <i>A.lumbricoides</i> infertil dengan mikroskop cahaya perbesaran 500x	13
Gambar 3.	Morfologi telur <i>T.trichiura</i> dengan mikroskop cahaya perbesaran 500x	15
Gambar 4.	Morfologi telur Cacing Kait dengan mikroskop cahaya perbesaran 500x	16
Gambar 5.	Mini <i>Bead beater</i> yang digunakan untuk homogenisasi dan pemecahan dinding telur STH	22
Gambar 6.	Ilustrasi PCR Multiplex	24
Gambar 7.	Kerangka Teori	27
Gambar 8.	Kerangka Konsep	28
Gambar 9.	Alur Penelitian	38
Gambar 10	Hasil pemeriksaan mikroskopis tinja secara langsung dari sampel 1 (10A dan 10B) yang disimpan dalam ethanol 96% selama 3 tahun (perbesaran 400x).Tampak morfologi telur masih utuh, dan dapat teridentifikasi.....	41
Gambar 11.	Hasil pemeriksaan mikroskopis tinja secara langsung dari sampel 2 (11A dan 11B) yang disimpan dalam ethanol 96% selama 3 tahun (perbesaran 400x). Tampak morfologi telur utuh dan masih dapat teridentifikasi	42
Gambar 12.	Hasil pemeriksaan mikroskopis tinja secara langsung dari sampel 3 (12A, 12B dan 12 C) yang disimpan dalam ethanol 96% selama 3 tahun (perbesaran 400x).Tampak morfologi telur utuh dan masih dapat teridentifikasi	43
Gambar 13.	Hasil pemeriksaan mikroskopis tinja secara langsung dari sampel 4 (13A dan 13B) yang disimpan dalam ethanol 96% selama 3 tahun (perbesaran 400x). Tampak morfologi telur utuh dan dapat teridentifikasi	44
Gambar 14.	Hasil pemeriksaan mikroskopis tinja secara langsung dari sampel 5 (14A, 14B dan 14C) yang disimpan dalam ethanol 96% selama 3 tahun (perbesaran 400x). Tampak morfologi telur masih utuh dan dapat teridentifikasi	45
Gambar 15.	Hasil pemeriksaan mikroskopis tinja secara langsung dari sampel 6 (15A, 15B dan 15C) yang disimpan dalam ethanol 96% selama 3 tahun (perbesaran 400x). Tampak morfologi telur masih utuh dan dapat teridentifikasi	46
Gambar 16.	Hasil pemeriksaan mikroskopis tinja secara langsung dari sampel 7 (16A, 16B dan 16C) yang disimpan dalam ethanol 96% selama 3 tahun (perbesaran 400x). Tampak morfologi telur masih utuh dan dapat teridentifikasi	47
Gambar 17.	Hasil pemeriksaan mikroskopis tinja secara langsung dari	

	sampel 8 (17) yang disimpan dalam ethanol 96% selama 3 tahun (perbesaran 400x). Tampak morfologi telur masih utuh dan dapat teridentifikasi	48
Gambar 18.	Hasil pemeriksaan mikroskopis tinja secara langsung dari sampel 9 (18A, 18B dan 18C) yang disimpan dalam ethanol 96% selama 3 tahun (perbesaran 400x). Tampak morfologi telur masih utuh dan dapat teridentifikasi	48
Gambar 19.	Hasil pemeriksaan mikroskopis tinja secara langsung dari sampel 10 (19A dan 19B) yang disimpan dalam ethanol 96% selama 3 tahun (perbesaran 400x). Tampak morfologi telur masih utuh dan dapat teridentifikasi	49
Gambar 20.	Hasil pemeriksaan mikroskopis tinja secara langsung dari sampel 11(20A dan 20B) yang disimpan dalam ethanol 96% selama 3 tahun (perbesaran 400x). Tampak morfologi telur masih utuh dan dapat teridentifikasi	50
Gambar 21.	Hasil pemeriksaan mikroskopis tinja secara langsung dari sampel 12 (21A dan 21 B) yang disimpan dalam ethanol 96% selama 3 tahun (perbesaran 400x). Tampak morfologi telur masih utuh dan dapat teridentifikasi	51
Gambar 22.	Hasil pemeriksaan mikroskopis tinja secara langsung dari sampel 13 (22A dan 22B) yang disimpan dalam ethanol 96% selama 3 tahun (perbesaran 400x). Tampak morfologi telur masih utuh dan dapat teridentifikasi	52
Gambar 23.	Hasil pemeriksaan mikroskopis tinja secara langsung dari sampel 13 (23A dan 23B) yang disimpan dalam ethanol 96% selama 3 tahun (perbesaran 400x). Tampak morfologi telur masih utuh dan dapat teridentifikasi	53
Gambar 24.	Hasil pemeriksaan mikroskopis tinja secara langsung dari sampel 14 (24A, 24B dan 24C) yang disimpan dalam ethanol 96% selama 3 tahun (perbesaran 400x). Tampak morfologi telur masih utuh dan dapat teridentifikasi	54
Gambar 25.	Hasil pemeriksaan mikroskopis tinja secara langsung dari sampel 15 (25) yang disimpan dalam ethanol 96% selama 3 tahun (perbesaran 400x).Tampak morfologi telur masih utuh dan dapat teridentifikasi	55
Gambar 26.	Elektroforesis produk PCR sampel No. 3 (<i>Ascaris lumbricoides</i> , <i>Trichuris trichiura</i> , dan cacing tambang (+)) secara multiplex dengan primer <i>Ascaris lumbricoides</i> , <i>Trichuris trichiura</i> , dan <i>Necator americanus</i> , dengan dengan 4 suhu <i>annealing</i> 50°C	58
Gambar 27.	Elektroforesis produk PCR STH sampel 1-15 secara multiplex dengan volume sampel 5 mg dan volume <i>template</i> DNA 2 µl, dengan kondisi suhu <i>annealing</i> 53°C. Pita 498 Bp menunjukkan cacing <i>Tricuris trichiura</i> , 330Bp menunjukkan <i>Necator americanus</i> , 192 Bp menunjukkan <i>Ascaris lumbricoides</i>	60

Gambar 28.	Elektroforesis produk PCR STH sampel 1-15 secara multiplex dengan volume sampel 30 mg, volume <i>template</i> DNA 5 µl dan suhu <i>annealing</i> 53 ⁰ C	63
Gambar 29.	Elektroforesis produk PCR STH sampel No. 5 dan 14 dengan volume sampel 50 mg, volume <i>template</i> 5 µl, suhu <i>annealing</i> 53 ⁰ C	66
Gambar 30.	Elektroforesis produk PCR STH sampel No. 5 dan 14 dengan volume sampel 100 mg, volume <i>template</i> DNA 5 µl, suhu <i>annealing</i> 53 ⁰ C	68
Gambar 31.	Elektroforesis produk PCR STH sampel 5 dan 14 dengan volume sampel 100 mg, volume <i>template</i> DNA 5 µl, suhu <i>annealing</i> 53 ⁰ C, dan perlakuan tambahan pre Isolasi DNA (<i>bead beater</i> dan Nitrogen cair).....	70
Gambar 32.	Elektroforesis produk PCR STH sampel 1-7 dengan volume sampel 200 mg, volume <i>template</i> 5µl, suhu <i>annealing</i> 53 ⁰ C dan perlakua preisolasi DNA (<i>bead beater</i> dan Nitrogen cair)	72
Gambar 33.	Elektroforesis produk PCR sampel 8-15 dengan volume sampel 200 mg, volume <i>template</i> DNA 5µl, suhu <i>annealing</i> 53C dan perlakuan tambahan pre isolasi DNA (<i>bead beater</i> dan Nitrogen cair)	73
Gambar 34.	Elektroforesis produk PCR sampel 9 dengan volume sampel 200 mg, volume <i>template</i> DNA 5µl, dengan serial delusi <i>template</i> setengah dari konsentrasi sebelumnya dengan konsentrasi awal 14,7 ng/µl, dan didelusi sebanyak 9x. suhu <i>annealing</i> 53 ⁰ C dan perlakuan tambahan pre isolasi DNA (<i>bead beater</i> dan Nitrogen cair)	76

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat pernyataan izin penggunaan sampel	109
Lampiran 2. Persetujuan Komisi Etik	110
Lampiran 3. Urutan nukleotida gen <i>Ascaris lumbricoides</i> , <i>Trichuris trichiura</i> dan <i>Necator americanus</i>	111
Lampiran 4. Protokol Homogenisasi Sampel STH menggunakan mesin <i>Bead beater</i>	114

ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN

μl	: mikro liter
°C	: derajat celcius
<i>A.duodenalis</i>	: <i>Ancylostoma duodenalis</i>
<i>A.lumbricoides</i>	: <i>Ascaris lumbricoides</i>
Bp	: <i>Base pair</i>
COI	: <i>Citochrome C Oxidase sub Unit</i>
dH ₂ O	: Destilled Hidrogen dioksida
ddH ₂ O	: Double-destilled dioksida
dNTPs	: deoxyribonucleotide triphosphates
DNA	: Deoxyribonucleic acid
ITS	: <i>Internal Transcribed Spacer</i>
mm	: mililiter
mg	: miligram
<i>N.americanus</i>	: <i>Necator americanus</i>
PBS	: <i>Phosphat Buffer saline</i>
PCR	: <i>Polimerase Chain Reaction</i>
rpm	: Rotasi Per Menit
rDNA	: Ribosomal DNA
SDE	: Stool DNA Elution
STH	: <i>Soil Transmitted helminth</i>
TBE	: tris-borate-EDTA
<i>T.trichiura</i>	: <i>Trichuris trichiura</i>
<i>T.vulpis</i>	: <i>Trichuris vulpis</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>