DIKTISAINTEK BERDAMPAK

RAKERNAS X AIPTLMI
LOMBOK, NUSA TENGGARA BARAT
23 - 25 Oktober 2025

ISSN: 3025-7883

PROSIDING AIPTLMI

RAKERNAS X AIPTLMI

Peran AIPTLMI Dalam Mendukung Kebijakan Akreditasi Kualitatif Untuk Meningkatkan Budaya Mutu Institusi Dan Mendukung Program Kampus Berdampak

Lombok, 23 - 25 Oktober 2025

PROSIDING
DALAM RANGKA RAPAT KERJA NASIONAL X (RAKERNAS X)
ASOSIASI INSTITUSI PENDIDIKAN TINGGI TEKNOLOGI
LABORATORIUM MEDIK INDONESIA (AIPTLMI)

Panitia & Reviewer

Penasehat
Dra. Estu Lestari, M.M.
Entuy kurniawan, S.Si, M.KM

Pengarah
Ketua Umum
Prof. Dr. Budi Santosa, M.Si.Med
Wakil Ketua Umum I
Dewi Inderiati, S.Si., M.Biomed
Wakil Ketua Umum II
Dr. Arina Novilla, S.Pd., M.Si
Wakil Ketua Umum III
Dr. Syamsuriansyah, M.M., M.Kes

Ketua Pelaksana
Dr. Syamsuriansyah, M.Kes
Wakil Ketua Pelaksana I
Ika Nurfajri Mentari, S.ST., M.Kes.
Wakil Ketua Pelaksana II
Andreas Putro Ragil, S.ST., M.Si.
Sekretaris
Dr. Arina Novilla S.Pd., M.Si.
Suci Rizki Nurul Aeni, S.Pd., M.Si.
Bendahara
Imas latifah, SKM, M.KKK
Dr. Sumiati Bedah, SKM, M.KM

Bidang Registrasi
Feldha Fadhila, S.Si, M.Si
Eva Ayu Maharani, S.Si., M.Biomed.
Zuraida, SKM, M.K.M.
Aini, S.ST., M.Si.

Bidang Ilmiah
Dewi Inderiati, S.Si, M.Biomed
Retno Martini, S.Si, M.Biomed
Dr. Betty Nurhayati, M.Si
Jumari Ustiawaty, S.Si., M.Si.

Bidang Lomba Ilmiah
Dr. Atun Farihatun, M.KM
Dewi Astuti, S.Si, M.Biomed.
Dra. Eka Sulistyaningsih, M.Kes
Dr. Fihiruddin, S.Si., M.Si

Bidang Lomba Non Ilmiah
Patricia Gita Naully, M.Si
Gela Setya Ayu P, S.Tr.Kes, M.Kes
Nurul Ni'ma Aziz, SST, M.Kes
Bustanul Atfal, S.Si., M.Kes

Bidang Sidang Organisasi
Aziz Ansori Wahid, ST., M.T
Dr. Moh. Fairuz Abadi, M.Si.

Bidang Acara
Ummy Mardiana, M.Si
Reny Pratiwi, S.Si, M.Si, Ph.D
Siti Julaikha, M.Pd.

Bidang Perlengkapan dan Transportasi
Gilang Nugraha, S.Si, M.Si
Hieronymus Rayi P., SST, M.Si
Iswari Pauzi, SKM., M.Sc.

Bidang Humas & Dokumentasi
Haitami, S.Si, M.Sc
Darmadi, SKM, M.Biomed.
Dr. Ershandi Resnhaleksmana, M.Sc

Bidang Akomodasi
Herlisa Anggraini, SKM, M.Si.Med
Iis Herawati, S.Pd,M.Kes
Siti Zaetun, SKM., M.Ked

Bidang *Information and Technology* (IT)
Suryanata Kesuma, ST M.Si
Wawan Kurniawan
Roushandy Asri Fardani, S.Si., M.Pd

Reviewer
Mujahidah Basarang, S.Si., M.Kes.
Dr. Betty Nurhayati, M.Si
Dr. Norma Tiku Kambuno, S.Si., Apt., M.Kes
Dwi Wahyu Indriati, Ph.D
Dr. Fihiruddin, S.Si., M.Si
Doni Setiawan, S.Si., M.Biotek

Editor
Atun Farihatun, SKM., M.KM

Layout
Nabil Ridla Firdaus, A.Md.AK

ISSN : 3025-7883
Cetakan : Keempat, Desember 2025
Penerbit : AIPTLMI
Kantor : Jl. Arteri JORR Jatiwarna Pondok Melati Bekasi, Jawa Barat, Indonesia
Website : https://prosiding.aiptlmi-iasmlt.id/index.php/prosiding/index

SAMBUTAN KETUA PANITIA PELAKSANA
RAPAT KERJA NASIONAL

Puji syukur kita panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa, atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga Asosiasi Perguruan Tinggi Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Indonesia (AIPTLMI) dapat menyelenggarakan Rapat Kerja Nasional (Rakernas) ke-10 yang bertempat di Lombok, Nusa Tenggara Barat, pada 23-25 Oktober 2025. Kegiatan ini merupakan forum strategis untuk memperkuat kolaborasi, mengembangkan kompetensi, serta merumuskan arah kebijakan yang mendukung kemajuan bidang Teknologi Laboratorium Medis (TLM) di Indonesia. Rakernas tahun ini mengusung tema : "Peran AIPTLMI dalam Mendukung Kebijakan Akreditasi Kualitatif untuk Meningkatkan Budaya Mutu Institusi dan Mendukung Program Kampus Berdampak." Tema ini menegaskan komitmen AIPTLMI dalam merespons perubahan paradigma akreditasi pendidikan tinggi menuju pendekatan yang lebih kualitatif, bermakna, dan berorientasi pada kualitas berkelanjutan. Melalui pendekatan ini, program studi TLM diharapkan tidak hanya memenuhi standar minimal, tetapi juga mengembangkan budaya mutu yang kuat, adaptif, dan berkontribusi nyata bagi masyarakat. Salah Satu program dalam kegiatan Rakernas ini adalah publikasi dosen dan mahasiswa dalam bentuk prosiding.

Buku prosiding Asosiasi Perguruan Tinggi Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Indonesia ini dapat diselesaikan dengan baik. Penyusunan prosiding ini merupakan wujud komitmen kami dalam mendukung pengembangan ilmu, peningkatan kualitas pendidikan, serta penyebarluasan hasil-hasil kajian dan praktik terbaik di bidang Teknologi Laboratorium Medis. Prosiding ini menghimpun berbagai karya ilmiah, hasil penelitian, telaah pustaka, dan inovasi yang dihasilkan oleh dosen, mahasiswa, praktisi, serta para pemangku kepentingan di lingkungan Program Studi TLM. Kontribusi pemikiran dari berbagai institusi di seluruh Indonesia menunjukkan bahwa bidang TLM terus berkembang dan memiliki peran strategis dalam mendukung pelayanan kesehatan, peningkatan mutu pendidikan vokasi/terapan, serta penguatan kompetensi tenaga laboratorium medis yang profesional. Kami berharap prosiding ini dapat menjadi sarana berbagi pengetahuan, memperkaya wawasan, dan memperkuat jejaring akademik antarprogram studi

TLM. Selain itu, semoga prosiding ini dapat mendorong tumbuhnya budaya penelitian, inovasi, dan publikasi ilmiah yang relevan dengan kebutuhan dunia pendidikan dan pelayanan laboratorium medis masa kini.

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada seluruh penulis, reviewer, panitia, serta semua pihak yang telah memberikan dukungan dalam proses penyusunan prosiding ini. Semoga karya ilmiah yang terhimpun dalam buku ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan dan peningkatan kualitas penyelenggaraan pendidikan TLM di Indonesia. Akhir kata, kami berharap prosiding ini dapat menjadi referensi yang bernilai dan memotivasi munculnya kajian-kajian ilmiah berikutnya.

Lombok, Desember 2025
Ketua Pelaksana Rakernas IX AIPTLMI

Dr. Syamsuriansyah, M.Kes

SAMBUTAN KETUA UMUM AIPTLMI

Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh,
Salam sejahtera bagi kita semua,

Puji syukur kita panjatkan ke hadirat Allah Subhanahu wa Ta'ala atas limpahan rahmat dan karunia-Nya, sehingga Asosiasi Institusi Pendidikan Tinggi Laboratorium Medik Indonesia (AIPTLMI) pada tanggal 23-25 Oktober 2025 dapat menyelenggarakan rangkaian kegiatan Rapat Kerja Nasional (Rakernas) X di Lombok dengan lancar. Salah satu agenda yang menjadi sorotan dalam kegiatan ini adalah *lomba ilmiah presentasi oral dan presentasi poster untuk dosen dan mahasiswa*, yang telah memberikan ruang bagi generasi akademisi untuk berkontribusi dalam pengembangan ilmu pengetahuan di bidang laboratorium medik.

Prosiding ini merupakan hasil dari kompetisi tersebut, yang menghimpun karya-karya terbaik dosen dan mahasiswa dari berbagai institusi anggota AIPTLMI. Naskah-naskah yang terpilih tidak hanya mencerminkan kreativitas dan inovasi, tetapi juga memperlihatkan dedikasi para peserta dalam memberikan solusi atas tantangan-tantangan nyata di dunia kesehatan, khususnya dalam lingkup laboratorium medik.

Kami berharap, prosiding ini dapat menjadi sumber referensi yang bermanfaat bagi seluruh insan akademik, sekaligus menjadi bukti nyata bahwa sinergi antara dosen dan mahasiswa mampu melahirkan karya-karya yang bermakna.

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kami sampaikan kepada para peserta, juri, panitia, pengelola prosiding AIPTLMI dan seluruh pihak yang telah mendukung terselenggaranya kegiatan ini. Semoga upaya kita bersama senantiasa mendapat ridha Allah Subhanahu wa Ta'ala.

Wassalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh,

Jakarta, 05 Desember 2025
Ketua Umum AIPTLMI

Prof. Dr. Budi Santosa, M.Si., Med.

DAFTAR ISI

Panitia Penyelenggara & Reviewer ii

Sambutan Ketua Panitia Pelaksana v

Sambutan Ketua Umum AIPTLMI vii

Daftar Isi viii

NEGLECTED BUT LETHAL: A BIBLIOMETRIC ANALYSIS OF TRENDS AND OPPORTUNITIES IN THE RESEARCH OF *Strongyloides stercoralis* 1

ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF MORINGA LEAF EXTRACT AGAINST THE GROWTH OF ESCHERICHIA COLI BACTERIA ISOLATED FROM THE FECES OF CHILDREN WITH STUNTING 12

LITERATURE STUDY: COMPARISON OF FECAL AND PCR EXAMINATION PERFORMANCE IN DETECTING ASCARIASIS DISEASE 25

DETECTION OF THE IS6110 GENE OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS IN THE SERUM OF HOUSEHOLD CONTACTS OF TUBERCULOSIS PATIENTS USING OF POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) METHODE..... 43

PROTECTIVE EFFECTS OF STERCULIA FOETIDA SEED EXTRACT AND VIRGIN COCONUT OIL ON COLON HISTOPATHOLOGY IN COLORECTAL CANCER RAT MODELS 55

PREVALENCE OF PARASITIC WORMS AMONG LIVESTOCK FARMERS AND THE ZOONOTIC POTENTIAL IN FARM ANIMALS 62

ADAPTABILITY OF *Aedes Albopictus* LARVAE IN PEAT WATER IN PALANGKA RAYA CITY 73

ENHANCEMENT OF NS1 ANTIBODY RECOGNITION BY A β-Roll PEPTIDE STABILIZED WITH ECTOINE: IMPLICATIONS FOR DENGUE DIAGNOSTIC DEVELOPMENT 87

CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY (GC-MS) ANALYSIS OF *RHODOMYRTUS TOMENTOSA* FRUIT FOR HERBAL MEDICINE POTENTIAL 101

GROWTH PERFORMANCE OF LACTIC ACID BACTERIA ON SAGA SEED–BASED AGAR: A PLANT-DERIVED ALTERNATIVE TO DE MAN ROGOSA SHARPE MEDIUM 111

ANALISIS HISTOLOGI ORGAN HATI TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*) YANG TERINFEKSI *Salmonella typhi* TERHADAP PEMBERIAN PERASAN BUAH KERSEN (*Muntingia calabura L*) **121**

ANALISIS FAKTOR LINGKUNGAN KERJA PADA PENDERITA PENYAKIT LEPTOSPIROSIS DI WILAYAH KECAMATAN PAJANGAN BANTUL **135**

EFEKTIFITAS BAKTERI UNTUK DEGRADASI SAMPAH PLASTIK YANG DI ISOLASI DARI TEMPAT PEMBUANGAN AKHIR (TPA) ANTANG KOTA MAKASSAR.....**142**

POTENSI EKSTRAK KECAMBAH KACANG HIJAU (Vigna radiata) SEBAGAI PENGOBATAN DIABETES MELITUS **152**

DETEKSI MUTASI *GEN embB* SEBAGAI PENANDA RESISTEN *ETAMBUTOL* TERHADAP ISOLAT *Mycobacterium tuberculosis* MENGGUNAKAN *PCR-SEQUENSING* **165**

NOBACTERIA (NANOMEDICINE BACTERIOPHAGE D29 AND BEDAQUILINE NANOPARTICLES): AN INNOVATIVE APPROACH TO CONTROL DRUG-RESISTANT TUBERCULOSIS IN INDONESIA **176**

INOVASI MEDIA MIKROBIOLOGI BERBASIS UBI GADUNG (*Dioscorea Hispida Dents*) SEBAGAI MEDIA ALTERNATIF PDA (*Potato Dextorose Agar)* DENGAN PENAMBAHAN NUTRISI UNTUK KULTUR *Candida albicans* **197**

PREVALENCE OF *Candida albicans* IN WOMEN VAGINAL DISCHARGE IN PALANGKA RAYA CITY, INDONESIA **210**

PERBANDINGAN HASIL PEMERIKSAAN STATUS SEKRETOR PADA SPESIMEN SALIVA DAN URINE METODE AGLUTINASI INHIBISI **216**

GAMBARAN DAN KARAKTERISTIK BAKTERI *Neisseria gonorrhoeae* PENYEBAB PENYAKIT INFEKSI MENULAR SEKSUAL PADA PASIEN DI PUSKESMAS MLATI 1 ..... **225**

PERBANDINGAN JUMLAH TROMBOSIT PADA SAMPEL DARAH VENA DAN KAPILER DENGAN MENGGUNAKAN *HEMATOLOGY ANALYZER MENDONIC M32 MPA* **233**

EFEKTIVITAS KITOSAN SEBAGAI PENGAWET ALAMI DALAM MENJAGA STABILITAS URINE POSITIF METAMFETAMIN **244**

ANALISIS KADAR IMUNOGLOBULIN E (IgE) TOTAL TERHADAP INFEKSI TELUR CACING *SOIL TRANSMITTED HELMINT* (STH) **259**

ANALISIS PENGARUH PERBEDAAN GOLONGAN DARAH MANUSIA TERHADAP PRODUKTIVITAS TELUR DAN LARVA NYAMUK *Aedes aegypti* STRAIN KOTA KENDARI 279

DETEKSI *Plasmodium falciparum* DAN *Plasmodium vivax* PADA PENDERITA PASCA INFEKSI MALARIA DENGAN MENGGUNAKAN METODE *MULTIPLEX POLYMERASE CHAIN REACTION* 287

DETEKSI *Strongyloides sp.* PADA TANAH PERTANIAN DI DESA PEMATANG HAMBAWANG, KABUPATEN BANJAR 308

PERBANDINGAN PENYEMBUHAN LUKA PEMBERIAN EKSTRAK DAUN MANGROVE (*Bruguiera gymnorrhiza*) DAN GEL BIOPLACENTON SECARA IN-VIVO 320

DAUN ANDONG (*Cordyline fruticosa* (L) A.Chev) SEBAGAI PEWARNA ALTERNATIF PEWARNA *WRIGHT STAIN* PADA SEDIAAN APUSAN DARAH TEPI 329

EFEKTIVITAS FILTRAT DAUN KELOR *(Moringa oleifera)* SEBAGAI AGEN TROMBOLITIK *IN-VITRO* 338

EFEKTIVITAS METODE SEDIMENTASI DAN FLOTASI PADA IDENTIFIKASI TELUR CACING DARI KEONG SAWAH (*Pila ampullaces*) PEDAGANG KAKI LIMA DI KOTA BEKASI 350

EFEKTIVITAS SEDIAAN CAIR ELEKTRIK DARI EKSTRAK DAUN CIPLUKAN (*Physalis angulata* L.) SEBAGAI ANTI NYAMUK *Aedes aegypti* 363

PENGARUH LOKASI PENGAMBILAN SAMPEL SEL SCHWANN TERHADAP INDEKS BAKTERIOLOGIS DAN INDEKS MORFOLOGI BTA (*M. leprae*) PADA PASIEN KUSTA TIPE LEPROMATOSA 370

PERBANDINGAN NILAI PROTHROMBIN TIME SAMPEL LIPEMIK METODE MEKANIK DAN OPTIK SESUDAH SENTRIFUGASI KECEPATAN TINGGI 381

PENGARUH MEROKOK TERHADAP KADAR MALONDIALDEHIDE DAN VITAMIN C SEBAGAI MARKER STRESS OKSIDATIF PADA PEROKOK AKTIF .. 392

HUBUNGAN KADAR TROMBOSIT DAN RED CELL DISTRIBUTION WIDTH (RDW) PADA PENDERITA CA MAMMAE STADIUM LANJUT LOKAL 402

PERBEDAAN PERTUMBUHAN JAMUR *Candida albicans* PADA MEDIA ALTERNATIF KACANG KEDELAI *(Glycine max (L.) Merrill)* DAN *SABORAUD DEXTROSE AGAR* (SDA) 414

UJI EFEKTIVITAS JAMUR ENTOMOPATOGEN DARI TANAMAN KULIT PISANG MAS SEBAGAI BIOINSEKTISIDA PADA VEKTOR MEKANIK LALAT (*Musca domestica)* 426

KOLERASI ANTARA INFEKSI NEMATODA USUS DAN KEJADIAN STUNTING PADA ANAK DI LINGKUNGAN PESISIR EKSPLOITASI NIKEL, LASOLO KEPULAUAN 439

CLINICAL AND ECONOMIC IMPACT OF INFECTION *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) BACTERIAL INFECTION AT GUNUNG JATI GENERAL HOSPITAL, CIREBON CITY 451

ERYTHTROCYTE SHAPE ABNORMALITIES IN SCHOOL-AGE-CHILDREN LIVING NEAR SMALL-SCALE GOLD MINING SEPANG SIMIN GUNUNG MAS 462

ASSOCIATION BETWEEN DENGUE VIRUS NS1 ANTIGEN AND INTERLEUKIN-6 (IL-6) LEVELS AS A PREDICTOR OF INFLAMMATORY RESPONSE IN DENGUE HEMORRHAGIC FEVER 473

DETECTION OF HNF1A GENE MUTATION RELATED TO MATURITY-ONSET DIABETES OF THE YOUNG (MODY) IN A DIABETES MELLITUS PATIENT USING SEQUENCING 482

PERBEDAAN EKSPRESI GEN VDR PADA PENDERITA DIABETES MELLITUS TIPE 2 TERKONTROL DAN TIDAK TERKONTROL DENGAN METODE *REAL-TIME* PCR 494

TRANSFORMASI LAYANAN KESEHATAN HIV DAN INFEKSI MENULAR SEKSUAL LAINNYA MELALUI APLIKASI DIGITAL : STUDI KASUS APLIKASI Halo ODHA! 513

ANALISI JUMLAH MONOSIT PADA SEDIAAN APUS DARAH PENDERITA MALARIA YANG DI CROSS – CHEK UPTD BALAI LABORATORIUM KESEHATAN SULAWESI TENGGARA 531

PENGARUH HIPERTENSI TERHADAP KADAR PROTEIN URINE DAN GLUKOSA URINE IBU HAMIL TRIMESTER II DAN III PADA INDIKASI PREEKLAMSIA DI PUSKESMAS WONGGEDUKU 542

STUDI KASUS: GAMBARAN KADAR HEMOGLOBIN PADA PASIEN PRE HEMODIALISIS DI RS BHAYANGKARA POLDA DIY 556

PENGARUH VARIASI KONSENTRASI DARAH SITRAT DAN LAMA INKUBASI PEMERIKSAAN *INDIRECT ANTIGLOBULIN TEST* TERHADAP DERAJAT AGLUTINASI 563

IDENTIFIKASI BAKTERI PATOGEN PADA URIN PEKERJA SEKS KOMERSIAL (PSK) MENGGUNAKAN TEKNIK PCR 575

EKSPLORASI KHAMIR, ANALISIS KADAR ALKOHOL DAN SENYAWA BIOAKTIF DALAM MINUMAN TRADISIONAL KAMEKO KHAS SUKU MUNA, SULAWESI TENGGARA 586

PERBANDINGAN TITER STATUS SEKRETOR PADA SALIVA SEBELUM DAN SETELAH AKTIVITAS FISIK OLAHRAGA FUTSAL 605

PERBANDINGAN HASIL PEMERIKSAAN *Mycobacterium tuberculosis* RESISTEN RIFAMPISINDENGAN MENGGUNAKAN METODE TES CEPAT MOLEKULER (TCM) DAN PCRSEQUENCING 616

ANALISIS KORELASI KADAR ASAM URAT DENGAN *RHEUMATOID FACTOR* DAN *C-REACTIVE PROTEIN* KUALITATIF SEBAGAI BIOMARKER INFLAMASI PADA PASIEN HIPERURISEMIA 631

HUBUNGAN PENGETAHUAN DAN TINDAKAN PENCEGAHAN INFEKSI DENGUE DENGAN *OVITRAP INDEKS* (OI) DI KELURAHAN KADIPIRO, KOTA SURAKARTA 642

EFEKTIVITAS FIKSASI PADA SUHU 4°C DALAM MENINGKATKAN KUALITAS PEWARNAAN HE DAN INTEGRITAS DNA PADA SEDIAAN FFPE 654

GAMBARAN KADAR HEMOGLOBIN DAN JUMLAH ERITROSIT PADA REMAJA 673

SENSITIVITAS PCR GEN IS6110 DALAM DETEKSI *Mycobacterium tuberculosis* PADA PASIEN HIV/AIDS DENGAN BTA NEGATIF: STUDI VALIDASI DENGAN GENEXPERT 688

OPTIMASI KONSENTRASI DAN LAMA WAKTU PERENDAMAN PEWARNA PADA PRODUK RT-PCR *SECRETOGLOBIN FAMILY 2A MEMBER 2* (SCGB2A2) METODE ELEKTROFORESIS GEL *AGAROSE* SEBAGAI PENANDA KANKER PAYUDARA 700

GAMBARAN KADAR KARBOKSIHEMOGLOBIN (COHb) PADA PENGENDARA OJEK *ONLINE* DI KOTA PEKANBARU 714

ANALISIS PEMANTAPAN MUTU INTERNAL DENGAN *SIGMA* METRIK PADA PEMERIKSAAN DARAH RUTIN, UREUM, DAN KREATININ DI LABORATORIUM RUMAH SAKIT UNS 724

RESPON IMUN TERHADAP PROTEIN REKOMBINAN MPT64 *M.tuberculosis* ISOLAT LOKAL SEBAGAI KANDIDAT IMUNOSERODIAGNOSTIK 737

GREEN EXTRACTION OF *Azadirachta indica* LEAVES USING VIRGIN COCONUT OIL (VCO) AS ANTIACNE 750

IMPROVING THE BACTERIOLOGICAL QUALITY OF FRESH ETAWA GOAT MILK WITH THE ADDITION OF NATURAL STRAWBERRY AND PINEAPPLE 766

ELEVATED TNF-α CORRELATES WITH PLATELET LEVELS IN DIABETIC FOOT ULCERS 774

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL BIJI DUKU TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) ISOLAT LUKA 787

POTENSI INTERLEUKIN-6 SEBAGAI BIOMARKER PREDIKTIF PENYAKIT MAKROVASKULAR PADA DIABETES MELITUS TIPE 2 805

NEGLECTED BUT LETHAL: A BIBLIOMETRIC ANALYSIS OF TRENDS AND OPPORTUNITIES IN THE RESEARCH OF *Strongyloides stercoralis*

Dian Nurmansyah[1,2*] · Lala Foresta Valentine Gunasari[2,3] · Puspawati[1,4]

[1]Department of Medical Laboratory Technology, Faculty of Health and Science Technology, University of Borneo Lestari, South Kalimantan, Indonesia
[2]Doctoral Program in Medicine and Health Science, Faculty of Medicine, Public Health and Nursing, University of Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia
[3]Department of Parasitology, Faculty of Medicine and Health Science, University of Bengkulu, Bengkulu, Indonesia
[4]Division of Clinical Pathology, Ratu Zalecha General Hospital, South Kalimantan, Indonesia
e-Mail: dian.nurmansyah@unbl.ac.id
No Tlp WA : +6287816953523

Abstract

Strongyloides stercoralis, a soil-transmitted helminth causing strongyloidiasis, presents a severe health risk due to its unique auto-infective cycle and potential for lethal hyperinfection in immunocompromised patients. It remains a neglected tropical disease, with its true burden in endemic countries like Indonesia significantly underestimated due to diagnostic limitations and a scarcity of targeted research. This study aims to map the global research landscape on S. stercoralis to identify trends, collaborations, and critical knowledge gaps, particularly concerning Indonesia's underrepresented status. A bibliometric analysis was conducted using Biblioshiny and VOSviewer on Scopus-indexed literature from 2015-2025. Data were extracted using specific keywords and analyzed for productivity, thematic clusters, and temporal trends. The analysis reveals a stark geographic disparity, with leading research contributions from the United States, Brazil, and European nations, while Indonesia's output is disproportionately low. Thematic mapping shows core concepts are underdeveloped, and network visualization identifies key clusters around diagnostics, hyperinfection, and treatment. Overlay analysis indicates a recent strategic pivot towards hyperinfection and molecular studies, yet public health themes remain peripheral. This study empirically validates the neglected status of strongyloidiasis research and the urgent need for intensified, localized research in high-endemicity regions like Indonesia.

***Keywords**: Strongyloidiasis, Strongyloides stercoralis, Soil-transmitted helminths, Neglected tropical diseases.*

INTRODUCTION

Soil-transmitted helminths (STH) represent a group of parasitic intestinal worms, including *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, and hookworms (*Necator americanus* and *Ancylostoma duodenale*), which are transmitted through contact with contaminated soil. Among these, *Strongyloides stercoralis* presents a distinct and often more severe clinical challenge. Strongyloidiasis, the infection caused by *S. stercoralis*, is characterized by its unique

autoinfective cycle, which allows the parasite to persist within a human host for decades, often with minimal or asymptomatic presentation (Wang, et al., 2017). Historically, strongyloidiasis has been grouped with other STH infections. However, its potential for life-threatening hyperinfection syndrome in immunocompromised individuals sets it apart. Despite its significant global health impact, strongyloidiasis remains classified as a neglected tropical disease (NTD), signifying a persistent lack of public awareness, diagnostic resources, and research funding compared to other major parasitic infections.

Indonesia, with its tropical climate and areas of inadequate sanitation, provides an ideal environment for the transmission of STH infections. National control programs have historically focused on the major STHs, leading to a considerable body of data on their prevalence. In contrast, the epidemiology of *S. stercoralis* is less defined. Existing serological and microscopic studies suggest that the infection is endemic in many parts of the archipelago, with prevalence rates varying significantly across regions (Sedionoto, Firdaus, & Ningsih, 2023). Certain studies, particularly from rural and remote communities with limited access to clean water and sanitation, report alarmingly high seroprevalence, indicating widespread exposure (Wulan, 2023). A research by (Kristi, et al., 2025) reported 4 new cases in rural villages in South Kalimantan, and another research reported by (Nurhidayah, Jayanegara, & Satrija, 2023), a systematic review found that Strongyloidiasis could be found in humans and non-human primates. It shows the widespread host of Strongyloidiasis. Nonetheless, due to diagnostic challenges and a lack of systematic mapping, the true burden of strongyloidiasis in Indonesia is likely underestimated and remains a critical gap in the nation's public health data (Tokmalaev, et al., 2020)

The significant underestimation of strongyloidiasis prevalence directly correlates with a notable scarcity of targeted research within Indonesia. Several factors contribute to this research gap. Firstly, diagnostic difficulties are a primary obstacle; conventional stool microscopy, the most common method in resource-limited settings, has very low sensitivity for detecting S. stercoralis

larvae. More accurate diagnostic tools, such as molecular techniques or serological assays, are not yet widely available or integrated into routine practice (Zainol, et al., 2024). Consequently, many cases go undiagnosed and unreported. Secondly, the asymptomatic nature of many chronic infections means the disease does not prompt immediate clinical attention, reducing its perceived urgency. Finally, research focus and funding have traditionally been directed towards the more prevalent STHs, leaving *S. stercoralis* overshadowed and under-investigated.

MATERIAL AND METHOD

This Bibliometric analysis study was conducted using Biblioshiny (Thangavel & Chandra, 2023) and the VosViewer software (Du, et al., 2024). The data from Scopus was collected for this analysis from 2015 to 2025. The strategy for searching the data was based on the use of keywords relevant to Soil-transmitted helminths. Boolean operators were used with the query listed are Soil-transmitted helminths OR STHs OR STH AND Strongyloidasis OR Strongyloides stercoralis Infection. Only documents published in peer-reviewed journals and with full open access were collected and analyzed. The overall search result was cleaned using Microsoft Office Excel version 2019 and Openrefine software to make sure the data collected was accurate. Data visualization, such as frequent keywords, co-occurrence, author's productivity, and affiliations, was analyzed and visualized using Bibliometrix -Biblioshiny and VosViewer software (Orduna-Malea & Costas, 2021).

RESULT and DISCUSSION

The bibliometric analysis of global scientific production is visualized in the figure.1. It starkly highlights the profound disparity between the significant disease burden of strongyloidiasis in endemic regions like Indonesia and the concentrated research efforts in wealthier, non-endemic nations, thereby empirically validating the core issue of its neglected status. While countries

such as the United States, Brazil, and Australia emerge as the dominant contributors to the literature, Indonesia's scientific output remains disproportionately low, a finding that directly correlates with the diagnostic challenges and lack of targeted funding discussed in the introduction. This scarcity of localized research has dire consequences, as it perpetuates a cycle of underdiagnosis and a poor understanding of the local epidemiology, leaving populations vulnerable to the devastating outcomes of hyperinfection and disseminated disease, particularly as immunosuppressive therapies become more common.

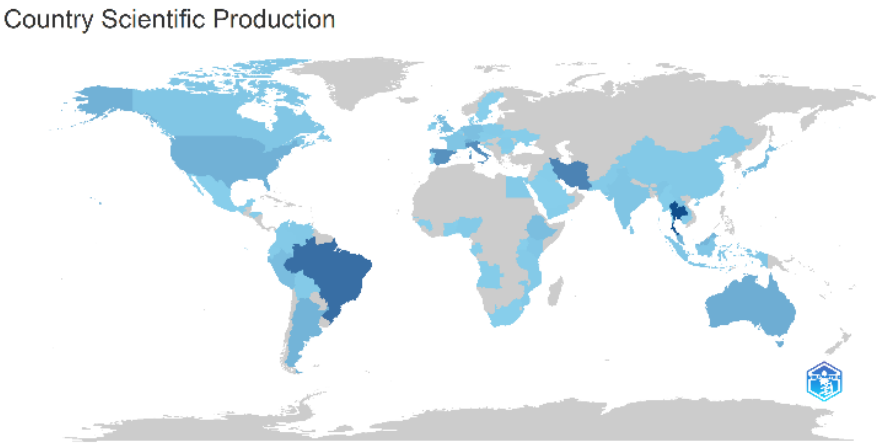


Figure 1. Scientific production based on the Country
(Source: Data processed using Biblioshiny)

The presented Thematic Map offers a strategic visualization of the current research landscape surrounding *Strongyloides stercoralis*, effectively categorizing key themes into four distinct quadrants based on their development (density) and relevance (centrality) within the scientific literature.

Based on the analysis showed in Figure 2. It can be explained that the positioning of "strongyloides stercoralis" and "strongyloidiasis" within the Basic Themes quadrant (lower right) is particularly revealing; this indicates that these core concepts are highly central and relevant to the field, forming the foundational knowledge, yet they remain underdeveloped in terms of research

density, which aligns perfectly with the argument that this is a neglected area ripe for further investigation. In contrast, themes like "prevalence," "child," and "cross-sectional study" are identified as Niche Themes (upper right), signifying that while these are well-developed and specialized areas of study, they are less central to the overall network, often representing specific, focused sub-fields. Meanwhile, the Emerging or Declining Themes (upper left), such as "enzyme linked immunosorbent assay" and "sensitivity and specificity," highlight that methodological discussions around diagnostics are peripheral and not driving current research agendas, potentially pointing to a stagnation in diagnostic innovation.

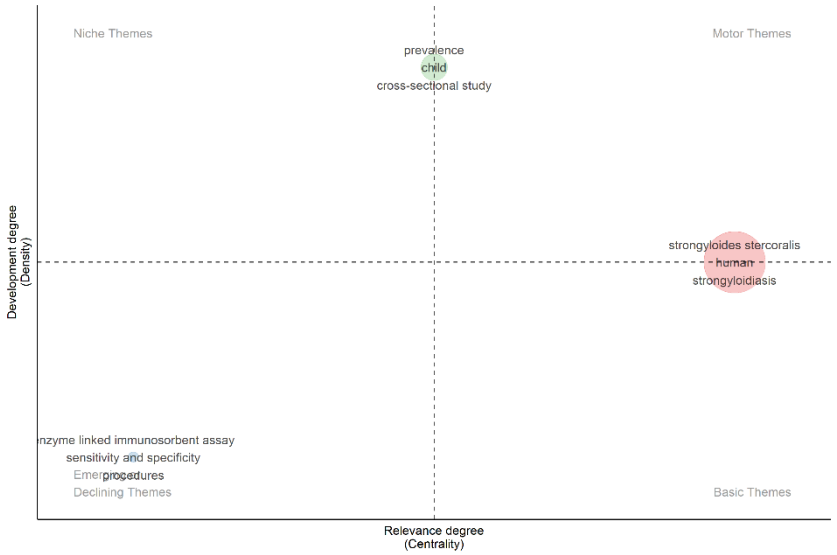


Figure 2. Thematic map of global research trends in Strongyloides stercoralis (Source: Data processed using Biblioshiny)

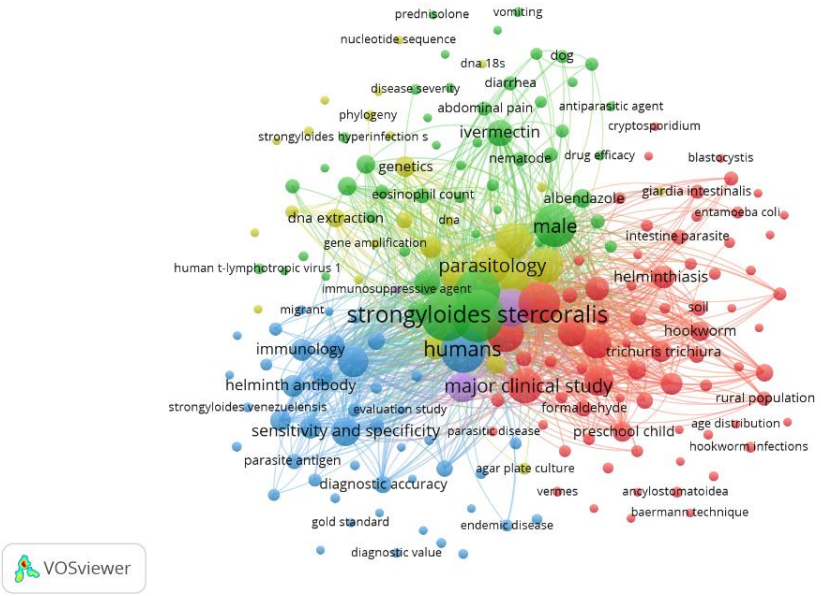


Figure 3. Network visualization of global research trends in *Strongyloides stercoralis* (Source: Data processed using VOSviewer)

Based on provided Figure 3 it can be seen thay the central and most prominent node, "Strongyloides stercoralis," acts as the undeniable core of the research domain, with its dense and extensive links to surrounding themes confirming its foundational role. The map reveals several distinct yet interconnected research clusters, including a major focus on diagnostic methodologies ('sensitivity and specificity,' 'agar plate culture,' 'gold standard'), a significant theme on clinical manifestations and severe outcomes ('strongyloides hyperinfection,' 'abdominal pain,' 'vomiting,' 'prednisolone'), and a clear grouping around treatment and pharmacology (ivermectin,' 'albendazole,' 'antiparasitic agent,' 'drug efficacy'). Furthermore, the presence of clusters related to co-infections with other intestinal parasites ('hookworm,' 'entamoeba,' 'giardia intestinalis') and molecular studies ('phylogeny,' 'dna extraction') highlights the contextual and advanced scientific approaches applied to this pathogen. Crucially, the visual proximity and strong linkages between 'hyperinfection' and 'immunosuppressive agent' or 'human t-lymphotropic virus 1' graphically underscore the well-established clinical risk factors for severe disease. However, the map also suggests a potential gap:

while the global research network is well-developed around diagnostics and clinical management, the specific public health context, such as 'rural population' and 'preschool child,' appears as a more peripheral cluster, reinforcing the argument for more targeted, community-based epidemiological research in endemic countries like Indonesia to translate these diagnostic and clinical insights into effective local control programs.

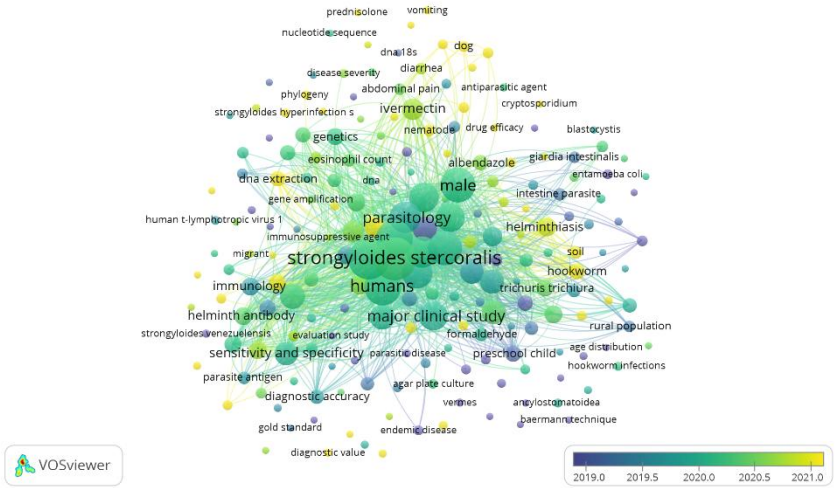


Figure 4. Overlay visualization of global research trends in Strongyloides stercoralis (Source: Data processed using VOSviewer)

Based on overlay visualization shown in Figure 4. It reveals that foundational, well-established themes—such as 'diagnostic accuracy,' 'gold standard,' 'rural population,' and the core organism name 'strongyloides stercoralis' itself—are colored in cooler tones (blue/green), signifying their long-standing centrality to the field. In contrast, the emergence of warmer-colored (yellow) clusters highlights a distinct and critically important shift in research priorities towards the severe clinical complication of 'strongyloides hyperinfection' and its direct triggers, namely 'immunosuppressive agent' and 'human t-lymphotropic virus 1.' This temporal trend visually underscores the growing clinical recognition of the life-threatening risks associated with the parasite in immunocompromised patients. Simultaneously, the yellower hues associated with terms like 'ivermectin' and 'antiparasitic agent' reflect sustained

and modern research interest in treatment efficacy, while the emergence of molecular terms such as 'nucleotide sequence' and 'phylogeny' points to the increasing integration of genetic tools into the field. Therefore, this map effectively captures the field's strategic pivot from basic parasitology and diagnostics towards a more nuanced understanding of severe disease pathogenesis and advanced molecular characterization, charting a clear course for future research directions.

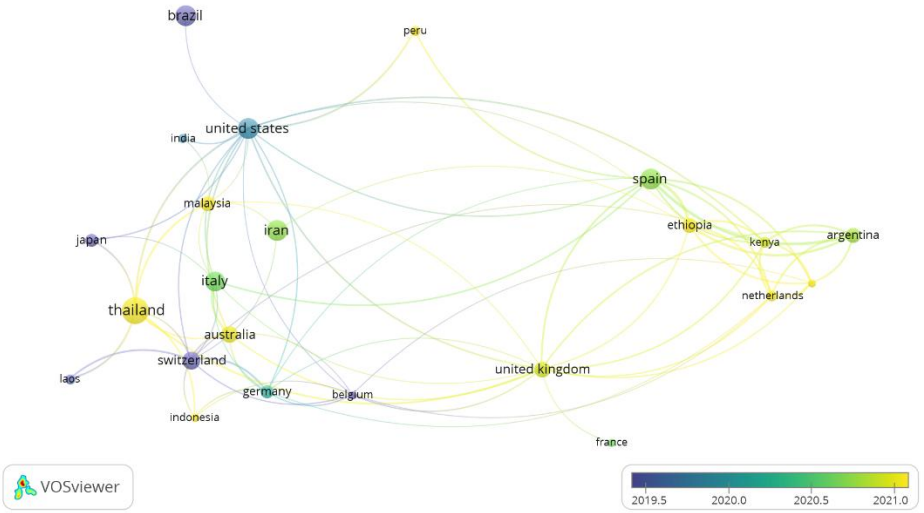


Figure 5. Overlay visualization of global research trends in Strongyloides stercoralis (Source: Data processed using VOSviewer)

The visualization of contributing countries, shown in Figure 5, likely represented through a bar chart or similar comparative diagram, effectively maps the global distribution of scientific production on *Strongyloides stercoralis*, revealing a telling geographic disparity that underscores its status as a neglected tropical disease. The prominent positions of countries like Brazil, the United States, and several European nations such as the United Kingdom, Spain, and Switzerland, indicate that the primary research hubs and funding sources are located in either non-endemic developed nations or in a select few endemic countries with well-established research infrastructures, like Brazil. In stark contrast, the placement of Indonesia towards the lower end of the

spectrum provides compelling visual evidence for the argument presented in the introduction regarding the significant scarcity of localized research within this highly endemic region. This geographic imbalance suggests that the global research agenda is not fully aligned with the actual epidemiological burden, potentially leading to a gap in context-specific knowledge, diagnostics, and control strategies that are directly applicable to the unique socio-ecological conditions of underrepresented endemic areas like Indonesia. Therefore, this figure not only quantifies the research output but also powerfully reinforces the necessity to foster and prioritize in-country research capacity to ensure that scientific inquiry and public health interventions are commensurate with local need.

CONCLUSION

This bibliometric analysis underlined that *Strongyloides stercoralis*, despite its unique clinical severity and potential for lethal hyperinfection, remains a profoundly neglected area of research, particularly in endemic nations like Indonesia. The visualizations reveal a significant disparity, leaving the true burden in high-risk regions vastly understudied. Critical public health contexts, such as rural and pediatric populations, remain peripheral in the research landscape. Therefore, this study compellingly justifies the urgent need for dedicated, localized research in Indonesia to bridge this gap, develop context-specific control strategies, and ultimately alleviate the hidden burden of this disease.

ACKNOWLEDGEMENT

We thank everyone included in this research for the facility to conduct this research.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there is no conflict of interest.

REFERENCES

Du, Q., Zhao, R., Wan, Q., Li, S., Li, H., Wang, D., & Shan, D. (2024). Protocol for conducting bibliometric analysis in biomedicine and related research using Citespace and VOSviewer. *STAR Protocols*.

Kristi, P., Kusumasari, P., Puspawati, P., Tanzil, Y., Nurmansyah, D., Syairaji, M., & Murhandarwati, E. (2025). Human strongyloidiasis in rural villages of South Kalimantan, Indonesia: A case series. *Narra J*.

Nurhidayah, N., Jayanegara, A., & Satrija, F. (2023). Strongyloides infections among human and non-human host in Indonesia: A systematic review. *KAFKAS ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ*.

Orduna-Malea, E., & Costas, R. (2021). Link-based approach to study scientific usage : the case of Vosviewer. *Scientometrics*, 8153-8186.

Sedionoto, B., Firdaus, A., & Ningsih, R. (2023). Ecological Risk Factors of Strongyloides stercoralis Infection Sourrounding Desforestration Areas East Kalimantan, Indonesia. *Int. J. Trop. Dis. Health, 44*(20), 21-28.

Thangavel, P., & Chandra, B. (2023). Two decades of M-commerce consumer research : a bibliometric analysis using R Biblioshiny. *Sustainability*, 11835.

Tokmalaev, A., Kozhevnikova, G., TUmolskaya, V., Polovinkina, N., Konnov, V., & Emerole, K. (2020). Strongyloidiasis in clinical practice: challenges in diagnostics and treatment (brief review and clinical observations). *Инфекция и иммунитет, 10*(4), 664-670.

Wang, L., Xu, L., Luo, S., Xie, H., Chen, W., Wu, Z., & Sun, X. (2017). Diagnosis of Strongyloides stercoralis by morphological characteristics combine with molecular biological methods. *Parasitology research, 116*(4), 1159-1163.

Wulan, A. (2023). Relationship of personal hygiene and sanitary hygiene conditions with soil transmitted helmints (sth) worm infections in elementary school children. *Bhamada: Jurnal Ilmu dan Teknologi Kesehatan (E-Journal), 14*(1), 21-27.

Zainol, D., Anuar, N., Halim, N., Kaur, M., Noordin, R., & Rahumatullah, A. (2024). Systematic review of Strongyloides stercoralis infection diagnosis in

Southeast Asia: insights from parasitological, molecular, and serological approaches. *he American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 111*(4), 724.

ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF MORINGA LEAF EXTRACT AGAINST THE GROWTH OF ESCHERICHIA COLI BACTERIA ISOLATED FROM THE FECES OF CHILDREN WITH STUNTING

Norma Tiku Kambuno[1]* · Maria Magdalena Selaka[2]

[1]DIII Laboratory Technology Study Program, Kupang Health Polytechnic, East Nusa Tenggara Province
[2]DIII Laboratory Technology Study Program, Kupang Health Polytechnic, East Nusa Tenggara Province
e-Mail: norma.kambuno@gmail.com
No Tlp WA : +62 852-5337-4350

Abstract

Escherichia coli (E. coli) is a Gram-negative bacterium commonly found in the human intestine, but some types can cause infections, one of which is diarrhea. E. coli infections often occur through contaminated food or water, and are high risk in children. Recurrent diarrhea due to E. coli can interfere with nutrient absorption and be one of the factors causing stunting. The continuous use of antibiotics triggers resistance problems, so research focuses on natural ingredients as antibacterials, such as moringa leaves (Moringa oleifera). Moringa leaves are rich in active compounds such as flavonoids, alkaloids, and phenols. This study aims to test the inhibitory effect of moringa leaf extract on the growth of E. coli (isolated from the feces of stunted children). The extract was obtained through maceration with 70% ethanol. The test was conducted using the liquid dilution method with eight concentration variations (0.25% to 40%) to determine the minimum inhibitory concentration (aMIC). The results showed that moringa leaf extract effectively inhibited the growth of E. coli. The MIC was found at a concentration of 20%, which was the lowest concentration that did not show turbidity. These results prove the potential of moringa leaf extract as a promising natural antibacterial agent to be developed as an alternative herbal medicine.

***Keywords**: Moringa leaves, Escherichia coli, Diarrhea, Stunting*

INTRODUCTION

Escherichia coli (*E. coli*) is a bacterium belonging to the coliform group that normally lives in human and animal feces, and is therefore often referred to as fecal coliform. *E. coli* is a gram-negative, rod-shaped bacterium that does not form spores (Rahayu, et al., 2018). Within the body, *E. coli* can aid the human digestive system by breaking down food and protecting against pathogenic bacteria in the human intestinal tract. However, if *E. coli* exceeds normal levels, it can become a dangerous pathogen that causes diarrhea. *E. coli* can produce toxins that damage the intestinal lining, increasing fluid

secretion and causing diarrhea (Apriani, et al., 2014).

Diarrhea caused by *E. coli* bacteria is influenced by internal factors such as genetics, age, gender, exclusive breastfeeding, immunization status, and nutritional status. External factors include parental personal hygiene, parental education level, parental economic status, and the child's living environment (Skripsiana, et al., 2022). Diarrhea often occurs in stunted children because they are malnourished. Malnutrition in children weakens the body's ability to fight infectious diseases (Saputra, et al., 2023).

The moringa tree (*M. oleifera*) is one of the plants that has been discovered and believed to be beneficial not only for improving malnutrition and hunger, but also for preventing and curing various diseases around the world (Hardiyanthi, 2015). The moringa plant contains many compounds known in traditional African and Indian medicine, namely acting as a heart and blood circulation stimulant, antitumor, antipyretic, antiepileptic, anti-inflammatory, diuretic, antihypertensive, cholesterol-lowering, antioxidant, antidiabetic, antibacterial, and antifungal (Nugrahani, et al., 2021).

TanaMoringa plants are also widely distributed in NTT Province, including in Kupang Regency, but their use is still very limited, especially in addressing health issues. People still often use medicines to address health issues. The use of drug therapy is growing, with inappropriate use that can be harmful and even cause bacterial immunity or resistance. Resistance to bacteria can result in the bacteria that are to be destroyed not dying, so one alternative that can be done is to develop traditional medicine, namely the use of plants that can kill bacteria to avoid resistance (Fadhilah, et al., 2019).

Based on the above explanation, this study tested the inhibitory activity of moringa leaf extract (*M. oleifera*) against the growth of *E. coli* bacteria isolated from stool samples of stunted children, in order to determine the minimum concentration of moringa leaf extract that can inhibit the growth of *E. coli* bacteria.

MATERIALS AND METHODS

The population of this study was moringa leaves growing in Oesapa Selatan Village, Kupang Regency, East Nusa Tenggara, and the samples were mature moringa leaves that had been separated from their stems, sterile cotton, sterile distilled water, 70% ethanol, aluminum foil, brown paper, Whatman filter paper, Eosin Methylen Blue (EMB) Agar ®Milipore, Mueller Hinton Agar®Milipore, Nutrient Broth (NB), urine, NaCl, crystal violet reagent, lugol's solution, ethanol or alcohol, safranin solution, water, immersion oil, lenses, bacterial suspensions, Ciprofloxacin antibiotic discs, blank discs, moringa leaf extract, discs, and bacterial cultures.

Research Preparation

The research has obtained permission from the Kupang Ministry of Health Polytechnic research ethics committee with certificate number PP.06.02/F.XXIX/2269/2025. The research has obtained a permit from the head of the investment and integrated one-stop service office with certificate number 500.16.7.2-000-9.2/722/DPMPT/2025.

Examination Implementation

The stool specimen to be used was taken from a stunted child with diarrhea at the Sikumana Community Health Center using the following steps: Visiting the community health center that had given permission. Ensuring that the child taken was a stunted child with diarrhea by interviewing them, checking their identity, and measuring their height and weight. If it was a stunted child with diarrhea, permission was then sought from the parents. Explain the stool collection process and provide a sterile stool container. Take it to the laboratory for isolation.

Extract Production

The method used to extract moringa leaves (Moringa Oleifera) is maceration. A total of 600 g of moringa leaves were weighed and extracted with 6000 mL of 70% ethanol (OneLab WateroneTM) at room temperature for 7 days while stirring occasionally. After 7 days, the sample was filtered using filter paper to produce a filtrate. The filtrate was evaporated using a vacuum

evaporator (Bioevopeak) and then concentrated on a water bath at a temperature below 60°C until a thick moringa leaf extract with a concentration of 100% was obtained. This was followed by an ethanol-free test, where 2 mL of potassium dichromate was pipetted into a porcelain dish, then 6 drops of concentrated sulfuric acid were added and homogenized. Then, 1 mL of moringa extract was added. A negative ethanol result was indicated by the solution remaining orange in color.

Sterilization of Tools

Sterilization of equipment is carried out before all equipment is used, namely by wrapping all equipment in aluminum foil or brown paper and then placing it in an oven (Memmert) at a temperature of 100ºC for 15 minutes. Agar media placed in an Erlenmeyer flask covered with cotton wool is placed in an autoclave (Gemmy SA-232X) for sterilization at a temperature of 121ºC for 15 minutes.

Preparation of Eosin Methylen Blue Agar (EMBA)

EMBA powder (Merck) was weighed using an analytical balance (Sartorius) at 9.375 g, then placed in an Erlenmeyer flask and dissolved with 150 mL of distilled water to make 250 mL. Then, it was heated while stirring with a stirring rod until completely homogeneous and the medium was completely dissolved. The Erlenmeyer flask containing the medium was covered with cotton or aluminum foil and sterilized in an autoclave (Gemmy) at a temperature of 121ºC for 15 minutes at a pressure of 1.5 atm. The medium is poured into 7 sterile Petri dishes, each containing 15-20 mL, then left at room temperature until it solidifies and is ready for use (Artanti et al., 2018).

Preparation of Mueller Hinton Agar (MHA)

Eight point five gram of MHA powder (Merck) was weighed using an analytical balance (Sartorius), then place it in an Erlenmeyer flask and dissolve it in 225 mL of distilled water to make 250 mL. Then, it was heated while stirring with a stirring rod until completely homogeneous and the medium is completely dissolved. The Erlenmeyer flask containing the medium is covered with cotton or aluminum foil and sterilized in an autoclave (Gemmy) at a temperature of 121ºC for 15 minutes at a pressure of 1.5 atm. The medium was

poured into 12 sterile Petri dishes, 15-20 mL each, then left at room temperature until it solidified and the medium was ready for use (Artanti et al., 2018).

Identification of *E. coli* bacteria in the urine of patients with UTI and microscopic examination using Gram staining and biochemical tests

E. coli isolation was performed by inoculating urine samples into EMBA medium. The culture was incubated in an incubator (Memmert) for 24 hours at 37°C. Then, the results of incubation on EMBA medium were observed, and metallic green colonies were observed to grow. Gram staining was performed by fixing the bacteria over a Bunsen burner using a physiological solution. The first staining was done with crystal violet solution for 1 minute, iodine for 1 minute, 70% ethanol for 30 seconds, and safranin for 1 minute, then the bacterial culture was observed under a microscope (Olympus CX23) with 100× magnification. This was followed by inoculation on biochemical media, namely SIM, MR, VP, Simmon Citrate, and TSIA media, then incubated in an incubator (Memmert) at 37ºC for 24 hours. Then, SIM medium was dripped with Kovacs reagent, MR medium was dripped with methyl red reagent, and VP medium was dripped with 10% KOH reagent and Alpha naphthol (Widianingsih & Jesus, 2018).

Preparation of Bacterial Suspension

Ten milliliters of sterile 0.9% NaCl solution is placed in a test tube. Bacteria are collected using a sterile needle. They are then suspended in 10 ml of sterile 0.9% NaCl solution. The bacterial suspension is prepared until it reaches a turbidity that complies with the McFarland 0.5 and 0.25 turbidity standards.

Preparation of positive and negative controls

The *E. coli* bacterial suspension is streaked onto MHA medium using a sterile cotton swab and left for 15 minutes at room temperature. After that, ciprofloxacin (Oxoid) antibiotics and discs that had been soaked in distilled water for 30 minutes were placed on the MHA medium that had been streaked using sterile tweezers and incubated for 24 hours at 37°C in an incubator (Boisala, 2024).

Testing the effectiveness of moringa leaf extract against E. coli bacteria

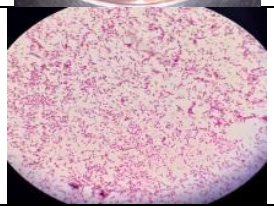
E. coli McFarland 0.25 and 0.5 suspensions with sterile broth were incubated for 4–8 hours. Moringa leaf extracts at concentrations of 0.25%, 0.5%, 1%, 5%, 10%, 20%, 30%, and 40% were dissolved in sterile distilled water and filtered with filter paper until clear. Sixteen sterile test tubes were prepared, 1 ml of each extract was taken, placed in each tube, and 1 ml of broth aged 4–8 hours was added to each tube. Incubate for 18–48 hours in an incubator (Memmert) at a temperature of 37ºC. After incubating for 18–48 hours, remove the reaction tubes to check for bacterial growth, which is indicated by the presence or absence of turbidity (Subekti & Sim, 2018).

RESULTS

Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

The test began with the isolation of test bacteria from the feces of stunted children on EMBA media, followed by Gram staining and biochemical testing. The results showed that the isolation was successful, with Gram staining results negative and biochemical testing supporting the identification that the bacteria tested was *E. coli*. **Tabel 1** Hasil Isolasi Bakteri Uji

Table 1. Results of Test Bacteria Isolation

Media Test	Result	Image
EMBA	Metallic green colony	
Gram Stain	Colonies are short rods, arranged in single cells and red in color.	

Media Test	Result	Image
Biochemical Test	- SIM Test: A black precipitate forms, red color after adding Kovac's reagent (+), - Methyl Red Test: Red color (+), - Voges Proskauer Test: Yellow (-), - TSIA Test: Yellow and black deposits and gas present (+/gas).	

The testing process carried out in the laboratory began with the sterilization of tools and materials, sample preparation, media preparation, bacterial isolation and purification, standard solution preparation, suspension preparation, positive and negative control preparation, and antibacterial activity testing. The tools and materials to be used were sterilized in advance with the aim of killing or eliminating microorganisms (Aenindita, 2024). This test uses samples of old moringa leaves that are picked and then made into extracts using the maceration method with 70% ethanol, which is ready to be used as a test sample in inhibiting bacterial growth. Ethanol is used as a solvent because it is polar, easily available and versatile, non-toxic, and has good filtration capacity (Aenindita, 2024).

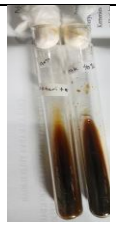
The next step is bacterial isolation. Isolation aims to obtain pure cultures without contamination from other bacteria. Biochemical tests are conducted to determine and identify pure bacterial cultures based on their physiological properties (Aenindita, 2024). Isolation is performed by streaking fecal specimens on EMBA media. The isolation results are shown in Table 1.

Testing the antibacterial activity of moringa leaf extract against the growth of *E. coli* bacteria using the liquid dilution method to determine the minimum inhibitory concentration of the antibacterial substance using the turbidimetry test method. Ten sterile test tubes were prepared and labeled according to the treatment, namely 0.25%, 0.5%, 1%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, positive control, which was a bacterial suspension, and negative control, which was sterile distilled water. The 0.25%-40% concentration tubes were filled with

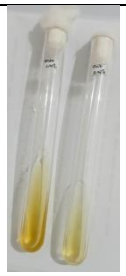
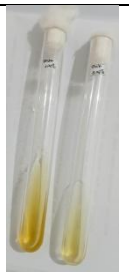
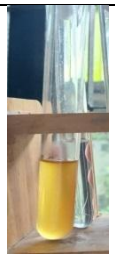
1 mL of Nutrient Broth (NB) medium and added with 1 mL of bacterial suspension. They were then incubated for 24 hours. All treatment tubes were visually observed for turbidity. If the turbidity was the same as the standard turbidity of the suspension, it meant that the bacteria could still grow, but if the solution looked clear like the negative control, it meant that bacterial growth was beginning to be inhibited. This indicated the minimum inhibitory concentration. The minimum inhibitory concentration was determined by the smallest extract concentration in the tube that began to inhibit bacterial growth.

Direct observation results by comparing turbidity and clarity based on the liquid dilution method standard yielded the following results: concentrations of 0.25%, 0.5%, 1%, 5%, and 10% appear cloudy or positive (+), which means there is bacterial growth, while concentrations of 20%, 30%, and 40% appear clear or negative (-), which means there is no bacterial growth. The results of the minimum inhibitory concentration test of moringa leaf extract using the maceration method with 70% ethanol against the growth of *E. coli* bacteria, repeated twice, were found to be at a concentration of 20%.

Table 2. Results of KHM Observation Using the Liquid Dilution Method

No	Concentration (%)	Concentration (%) (0,25 and 0,5 McFarland)		Image Bacterial suspension results (0,25 and 0,5 McFarland)	
		0,25	0,5	0,25	0,5
1	40 %	(-)	(-)		
2	30 %	(-)	(-)		

No	Concentration (%)	Concentration (%) (0,25 and 0,5 McFarland)		Image Bacterial suspension results (0,25 and 0,5 McFarland)	
		0,25	0,5	0,25	0,5
3	20 %	(-)	(-)		
4	10%	(+)	(+)		
5	5 %	(+)	(+)		
6	1 %	(+)	(+)		
7	0,5 %	(+)	(+)		

No	Concentration (%)	Concentration (%) (0,25 and 0,5 McFarland)		Image Bacterial suspension results (0,25 and 0,5 McFarland)	
		0,25	0,5	0,25	0,5
8	0, 25 %	(+)	(+)		
9	Positive control	(+)	(+)		
10	Negative Control	(-)	(-)		

Description:
(-) Clear = No bacterial growth
(+) Cloudy = Bacterial growth present

DISCUSSION

There have been several previous studies, namely research conducted by Nadya Aenindita on testing the antibacterial activity of moringa leaf extracts using the pressing, infusion, and maceration methods against *E. coli*, which showed that in testing the minimum inhibitory concentration using the maceration method, the minimum inhibitory concentration obtained was 20%. This result is in line with the MIC test that has been conducted, which found a minimum inhibitory concentration at a concentration of 20%. The difference lies

in the method used, namely Nadya Aenindita used the diffusion method to first determine the maximum inhibitory concentration, followed by the KHM test, while this study directly used the dilution method (Aenindita, 2024). Another study showed that the minimum inhibitory concentration of moringa leaf extract against the growth of *E. coli* was at a concentration of 50%. The difference in this study is that it uses dilution and then grows on NA medium (Saputra et al., 2023).

This research is very interesting and helpful to the community when experiencing health problems, especially diarrhea. This can be seen from the results of the study which showed that stool specimens from stunted children with diarrhea used as test specimens were clinically tested and found to contain *E. coli* bacteria in the stool that disrupts the digestive system, causing diarrhea. This study also found that moringa leaves grown in NTT, specifically in the city of Kupang, which have been processed into extracts and used as test samples to inhibit the growth of *E. coli* bacteria, have been proven to inhibit the growth of *E. coli* bacteria, as seen from the results obtained. The advantage of this study lies in the method used, namely the liquid dilution method. This method is easy to perform and does not take long, the extract used is on a small scale, creating a large surface area so that contact between the test material and bacteria is higher, and does not require large costs. However, there is a disadvantage in that it is difficult to see turbidity due to the dark color of the extract solution.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to express our gratitude to Mrs. Yoan Novicaditha, Mrs. Agustina Djuma as Head of the D-III Medical Laboratory Technology Study Program at Poltekkes Kupang, Mr. Irfan, S.KM,.M.Kes as Director of the Kupang Ministry of Health Polytechnic, D-III Medical Laboratory Technology Study Program at Poltekkes Kupang.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential

conflict of interest.

REFERENCE

Aenindita, N. N. (2024). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor (Moringa oleifera L.) Metode Pemerasan, Infusa, dan Maserasi Terhadap Escherichia coli. *Karya Tulis Ilmiah*.

Apriani, Bintari, N. W. D., Ilsan, N. A., Istyanto, F., Suhartati, R., Dewi, R. K., Zuraida, Herlina, Inggraini, M., Pratami, S., Nur, J., Setiawan, D., Wijayanti, D. R., & Safari, W. F. (2014). *Bakteriologi Untuk Mahasiswa Kesehatana*. PT.MASAGENA MANDIRI MEDICA.

Artanti, D., Azizah, F., Retno, A. R., & Sispita, Y. E. (2018). Modul Praktikum Media. In *Laboratorium Mikrobiologi* (1st ed.). Dita Artanti. https://repository.um-surabaya.ac.id/4824/1/MODUL_PRAKTEK_MEDIA.pdf

Boisala, S. (2024). Uji Daya Hambat Ekstrak Serai Wangi terhadap Bakteri Staphylococcus aureus. In *Karya Tulis Ilmiah*. Poltekes Kupang. http://repository.poltekeskupang.ac.id/5056/

Fadhilah, F. R., Pitono, A. J., & Fitriah, G. (2019). Uji DAya Hambat Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli Menggunakan Ekstrak Rimpang Kunyit Curcuma domestica val. *Institut Kesehatan Rajawali*, *9*(2), 35–45.

Hardiyanthi, F. (2015). Pemanfaatan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor (Moringa oleifera) Dalam Sediaan Hand And Body Cream. *Skripsi*.

Nugrahani, R. A., Hendrawati, T. Y., Redjeki, A. S., Susanty, Sari, F., & Santosa, H. H. (2021). *Pengelolaan Dan Pemanfaatan Daun dan Biji Kelor* (Issue 0). Penerbit Samudra Biru (Anggota IKAPI).

Rahayu, W. P., Nurjanah, S., & Komalasari, E. (2018). Escherichia coli: Patogenitas,Analisis, dan Kajian Risiko. *IPB Press*, 1–151. https://repository.um-surabaya.ac.id/9131/

Saputra, U. N., Herawati, & Kanan, M. (2023). Daya Hambat Infusa Daun Kelor (Moringa oleifera L) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli. *Buletin Kesehatan MAHASISWA*, *1*(2), 53–60. https://doi.org/10.51888/jpmeo.v1i2.157

Skripsiana, N. S., Nursantari, W., Hidayah, N., Pratiwi, D. I. N., Arsyiana, F., Trinanda, A. R., & Marsin, A. F. F. (2022). Diare Akut Pada Anak Stunting Di Lingkungan Lahan Basah: Laporan Kasus Dengan Pendekatan Kedokteran Terintegrasi. *Fakultas Kedokteran*, 152–162.

Subekti, S., & Sim, M. (2018). Kadar Hambat Minimum dan Kadar Bunuh Minimum Ekstrak Biji Pepaya (Carica papaya L) terhadap Bakteri Streptococcus mitis. *Prima Journal of Oral and Dental Sciences*, *1*(1), 5–9. http://jurnal.unprimdn.ac.id/index.php/PrimaJODS

Widianingsih, M., & Jesus, A. M. de. (2018). Isolasi Escherichia coli dari Urine Pasien Infeksi Saluran Kemih. *Journal of Biology*, *11*(2), 99–108. https://journal.uinjkt.ac.id/index.php/kauniyah/article/view/5899

LITERATURE STUDY: COMPARISON OF FECAL AND PCR EXAMINATION PERFORMANCE IN DETECTING ASCARIASIS DISEASE

Rina Rahmadhani[1]· Chelsea Juricke Ndapamerang[1] · Ameisa Natalia Saputri[1]

[1]D4 Medical Laboratory Technology Study Program, Indonusa Polytechnic
Surakarta, Central Java, Indonesia
E-Mail: polinus@poltekindonusa.ac.id
WA Tel: (0271) 743479

Abstract

Ascariasis is a common worm infection worldwide, especially in areas with poor sanitation. The method used is a literature study that aims to compare the performance of fecal examination and Polymerase Chain Reaction (PCR) in detecting Ascariasis disease. Fecal examinations, including the direct slide and Kato-Katz methods, have long been used, but have limitations in sensitivity, especially in mild infections. The results of the study showed that PCR methods, including multiplex PCR and digital PCR (dPCR), provided superior results compared to conventional fecal examination in detecting Ascariasis. It was found that Kato-Katz sensitivity was relative to PCR, the Kato-Katz method was sensitive 53.8% for A. Lumbricoides, and PCR was 87.5% for A. Lumbricoides. Although fecal examination remains the primary method due to its lower cost and ease of implementation, PCR offers a more accurate and effective diagnostic alternative, especially in identifying low-intensity infections and for the detection of multiple species of worms.

***Keywords** : (Fecal Examination, PCR, Ascariasis)*

INTRODUCTION

Ascaris lumbricoides is one of the types of worms that are classified as *Soil Transmitted Helminth* (STH), which can infect humans and cause a disease called Ascariasis. These worms live in the human small intestine and can affect the digestive system, absorption, and metabolism of food, which will eventually lead to malnutrition in the sufferer. Ascariasis is the most common infection found worldwide, in areas with poor sanitation. The case of worms is quite high in Indonesia, especially in school-age children at 60-80% (Darmadi & Dikna, 2022).

Infection with *Ascaris lumbricoides* is a significant global health problem, affecting an estimated 819 million people worldwide (Aemiro et al., 2022). The

prevalence of this infection in children, especially toddlers, is still high, and can lead to serious health problems such as malnutrition, anemia, and decreased cognitive function(Rajoo et al., 2017). In Indonesia, *Ascaris lumbricoides* is one of the most common parasites infecting the population (Tapiheru and Zain, 2021), with the prevalence of parasitic infections in children aged 1-12 years in some provinces ranging from 30% to 90% (Directorate General of Health Services, 2022). Infection prevention and control efforts *Ascaris lumbricoides* in Indonesia includes a worm eradication strategy through *Mass Drug Administration* (MDA) (Directorate General of Health Services, 2022), but varying prevalence rates can be influenced by a variety of environmental, cultural, economic, and social factors, including lack of access to clean water and safe sanitation (Muñoz-Antoli et al., 2022).

The prevalence of worms in Indonesia with an incidence in elementary school students is around 61-79%, while for all ages it is around 41%-59%. At the beginning of 2023, the health ministry reported that there were 26 districts and cities in Indonesia that had a prevalence of worm disease cases above 10%. Surveys in Indonesia also show that the high prevalence of *Ascaris lumbricoides* is often followed by a high incidence of *Trichuris trichiura*. The high prevalence of Ascariasis was found in several villages in Sumatra (77%), Sulawesi (87%), West Java (89%), Kalimantan (78%), and West Nusa Tenggara (91%). The prevalence of tricuriasis is also high in Kalimantan (82%), Sumatra (82%), West Nusa Tenggara (83%), West Java (90%) and Sulawesi (82%). On the other hand, the prevalence of hookworms ranges from 31% to 49% in various regions in Indonesia (Palaido, 2025)

Worm examinations that are commonly carried out are microscopic examinations with the discovery of worm eggs in fecal examinations. Fecal examinations are carried out to find out whether there are worm eggs or worm larvae (Arimaswati et al., 2020). Fecal examination is divided into 2, namely qualitative and quantitative examinations. Qualitative examination is divided into several methods, namely native (direct slide), flotation/flotation method,

tape method, thick preparation technique and sedimentation method. While quantitative examination has several methods such as the stoll, quantitative flotation and kato-katz method. According to Puspa (2018) the gold standard for qualitative examination of feces is a native method (direct slide) because it is easy, fast and cheap but there are drawbacks such as lack of sensitivity to mild infections (Regina et al., 2018)

In addition to microscopic examination of feces, there is also an examination of antibodies, antigens from certain parasites that can be detected by serology. Serodiagnosis can be an optional test in diagnosing STH infection. The disadvantages of this test are that it is invasive (such as taking blood specimens), antibodies remain detected after administration, and there is a possibility of cross-reactions with other nematodes. (Wijaya, 2017).

As technology develops, there is molecular examination based on DNA or RNA from samples or parasites. The goal is to establish a diagnosis of worms that have proven to be highly sensitive and 100% specific in the detection of STH compared to microscopes. Therefore, molecular examination with PCR of several worm species provides a diagnostic alternative to look at worm types, DNA development and mutations. In addition, it will save time and labor costs because gel electrophoresis is not required. Molecular testing is more sensitive than conventional methods in detecting very small numbers of eggs. (Fristiani et al., 2024)

The topic of this literature study is intended to conduct a study on the comparison of the performance of two diagnostic methods, namely fecal examination and Polymerase Chain Reaction (PCR), in detecting the ascariasis worm infection in humans. This literature review will assess both current examinations regarding diagnostic accuracy, including performance comparisons between conventional fecal examinations and worm DNA detection via PCR, as well as factors influencing diagnostic results

MATERIALS AND METHODS

This study uses a systematic literature review method by examining the results of research related to fecal examination and PCR in detecting Ascaris lumbricoides. Literature searches were carried out through various databases such as PubMed, Scopus, Web of Science, and Garuda, with publication criteria in SINTA-indexed national journals (at least SINTA 5) and reputable international journals, totaling 40 articles.

Inclusion criteria include articles that discuss fecal and/or PCR examination of human samples with diagnostic accuracy data (sensitivity and specificity). Irrelevant articles, have no diagnostic data, or are in the form of a single case report, are excluded.

Article selection is carried out systematically through the screening stages of titles, abstracts, and full text. Important data extracted include examination methods, sample types, accuracy results, as well as characteristics of the study population. The quality of the study was assessed using the QUADAS-2 instrument, and the results of the analysis were presented descriptively and comparatively between the fecal examination and PCR methods.

RESULT

Table 1. Fecal Examination Methods in Detecting Ascariasis Worm Infection

Yes	Writer	Heading	Sample	Method	Result	Conclusion
1	Iqbal Maulana, Triana Dessy, Rizqoh Debie, Foresta Lala Valentine Gunasari, Agustin Liya Umar	Accuracy of Kato-Katz and Mini-Flotac Examinations in the Diagnosis of Worms in Fresh Feces and Preserved Feces	140 samples	Kato-Katz dan Mini-Flotac	Kato-Katz 64 positive samples (45.7%) were obtained and Mini-Flotac method obtained 79 positive samples (66.4%)	The Mini-Flotac test is higher than KatoKatz in detecting STH types A. lumbricoides and T. trichiura in preserved feces, with a Mini-Flotac sensitivity of 95% - 100%
2	Triani Eva,	Diagnostic Accuracy of	68 samples	Direct Slide dan Kato-Katz	Direct slide there were 59	The results of the

Yes	Writer	Heading	Sample	Method	Result	Conclusion
	Suwitasari Putu, Hastuti Rika Setyorini, Arie Eka Yuliyani, Handito Dody	Worms Direct Slide and Kato Methods Katz on Helminthiasis Patients in Mataram City.			samples (86.76%) infected with STH and with the Kato-Katz found 65 samples (95.59%) infected with STH.	measurement with the Direct slide method and the Kato-Katz method show The highest prevalence of STH infection is A. lumbricoides infection. The direct slide method yields a sensitivity level of 95.16% and a specificity of 100%.
3	Abelira Rilianda, Hanna Pearl	Comparison of Fecal Examination of the Formal-ether Sedimentation Method with the Kato-Katz Method in Detecting Soil-transmitted Helminths. Sample count: 30 sample methods: Kato-Katz Method and Sedimentation Method Formol-ethe.	30 samples	Kato-Katz, Sedimentation Methods Formol-ether dan	Examination methods Kato-Katz feces obtained positive sample results 6 samples (20%) and negative samples A total of 24 samples (80%). Types of worm eggs STH found on examination Kato-Katz method is Ascaris lumbricoides 6 samples (100%) and the Formaldehyde-ether sedimentation obtained positive results in 6 samples (20%) and negative samples in 24 samples (80%). The types of worm eggs	Sedimentation Method Form-ether is clearer than With microscopic images Method Kato-Katz. Formal Sedimentation Method-ether can detect two types of STH, namely Ascaris lumbricoi des and worms Kait (Ancylostoma duodenale atau Necator americanus) while the Kato-Katz Method can only detect one type of STH, namely Ascaris lumbricoides

Yes	Writer	Heading	Sample	Method	Result	Conclusion
					found were Ascaris lumbricoides with 6 samples (100%) and hookworms (Ancylostoma duodenale and Necator americanus) with 2 samples (33.3%) of the 6 samples were positive.	
4	Octania Hanayori Nugraha, Sulaeman, Sundara Yuliansyah , Kurniawan Entuy	Comparison of the Kato – Katz Method With the Method Stoll For Soil Worm Egg Inspection Transmitted Helminth in Fecal Samples	15 samples	Kato – Katz and the Method Stoll	The sensitivity value of the Stoll method and the Kato-katz method is 100%, While the specificity 0%.	The sensitivity results obtained from the two stool examination methods indicated STH is 100%, while the specificity cannot be calculated because each sample used has been identified as positive for STH eggs.

Based on the table above, research conducted by Iqbal Maulana et al. shows that the Mini-Flotac method is superior in detecting worms, with 66.4% of positive samples compared to 45.7% in the Kato-Katz method, and the sensitivity of Mini-Flotac reaches 95%-100% for A. lumbricoides and T. trichiura. In the second journal, research conducted by Triani Eva et al. found that the Kato-Katz method detected STH infection in 95.59% of samples, higher than Direct Slide (86.76%), with Direct Slide having a sensitivity of 95.16% and a specificity of 100%. In the third journal, research conducted by Abelira Rilianda and Mutiara Hanna reported that both Kato-Katz and Form-ether Sedimentation detected 20% of positive samples, but the Form-ether Sedimentation method was clearer and capable of detecting more types of worms. In the fourth journal, a study conducted by Octania Hanayori Nugraha

et al. found that both the Stoll and Kato-Katz methods have 100% sensitivity in detecting STH worm eggs, although the specificity cannot be calculated.

Table 2. The Use of PCR in Detecting Ascariasis Worm Infection

Yes	Writer	Heading	Sample	Method	Result	Conclusion
1	E. Pomari , C. Piubelli, F. Perandin, Z. Bisoffi	Digital PCR: a New Technology for Diagnosis of Parasitic Infections	17 studies that used dPCR to detect parasites, consisting of protozoa (8), helminths (8), and arthropods (1). Number of samples in each study	Narrative review of the Digital PCR (dPCR) application	In a schistosomiasis study in goat fecal samples, dPCR detected a prevalence of 46.4% compared to qPCR which was only 6.9%. The number of positive samples was 38/150 for dPCR vs. 26/150 for qPCR.	Digital PCR shows higher stability against fecal inhibitors in Cryptosporidiu, dPCR is more sensitive in detecting Plasmodium falciparum compared to qPCR
2	I.D. Amoah, G. Singh, K. Troell, P. Reddy, T.A. Stenström , dan F. Bux	Comparative Assessment of DNA Extraction Procedures for Ascaris spp. Eggs	6 DNA extraction kits from Ascaris spp. eggs. Used in various concentrations (500, 100, 50, 20, 10, and 5 eggs). Raw wastewater and	NanoDrop, Qubit, and Ct value of qPCR	The PowerLyzer Ultraclean Microbial DNA isolation kit and PowerSoil DNA isolation kit provide the highest DNA results based on NanoDrop, Qubit, and Ct values. However, qPCR results indicate that some kits may contain	DNA extraction kits that combine bead-beating steps as well as other mechanical breakdowns are superior in extracting DNA from Ascaris spp eggs. For accurate DNA quantification, the use of Ct values from qPCR and Qubit readings provides better results compared to

Yes	Writer	Heading	Sample	Method	Result	Conclusion
			sludge samples: 9 samples of each.		PCR inhibitors.	NanoDrop readings. For efficient downstream applications, the use of DNA extraction kits with superior inhibitor removal technology is essential, in addition to high DNA yields.
3	Sanely Risti, Dalilah, Iche Andriyani Liberty	Conventional PCR multiplexes to detect soil transmitted helminths (STH)	Badi et al. (2022): 100 sample, Ghada et al. (2022): 850 sample, Ulaganeethi et al. (2023): 650 sample, Fleitas et al. (2021): 287 sample	Systematic Review with the PRISMA method, regarding Conventional PCR Multiplex	Badi et al. (2022): A. lumbricoides (20%), T. trichiura (18%), N. americanus (5%), A. duodenale (3%). Sensitivity & Specificity: 100% & 100%, Ghada et al. (2022): Sensitivity & Specificity of A. lumbricoides 95% & 87%; T. trichiura 90% & 85% and A. duodenale 94% & 100%. Ulaganeethi et al. (2023): Overall prevalence of STH: 2.6%. Sensitivity & Specificity 22.4% & 94%. Fleitas et al. (2021):	The use of PCR in the diagnosis of intestinal worms is superior, especially when the intensity of infection is low. PCR multiplexes provide an alternative method for diagnosis in identifying Soil Transmitted helminths (STH) infections because they are highly sensitive and fast.

Yes	Writer	Heading	Sample	Method	Result	Conclusion
					hookworm prevalence: 28%. Sensitivity & Specificity: CT: 90.3% & 87.6%; SS: 97.4% & 100%	

Based on the table above, research conducted by Pomari et al. found that Digital PCR (dPCR) is more sensitive than qPCR in detecting parasites, with schistosomiasis studies showing a prevalence of 46.4% using dPCR compared to only 6.9% with qPCR. In the second journal, research conducted by Amoah et al. found that DNA extraction kits that combined the bead-beating step provided the best DNA results for *Ascaris spp*. eggs, with more accurate quantification using Ct values from qPCR and Qubit readings. In the third journal, a study conducted by Risti et al. in their systematic review reported that conventional PCR multiplexes offer high sensitivity and specificity in detecting Soil Transmitted Helminths (STH), with some studies showing sensitivity and specificity close to 100% for some types of STH, making them a quick and effective diagnostic alternative.

Table 3. Comparison of the Use of Fecal and PCR Examination Methods in Detecting Ascariasis Infection

Yes	Writer	Heading	Sample	Method	Result	Conclusion
1	Barda Beatrice , Schindler Christian, Wampfler Rahel, Ame Shaali, MA Said, dan Keiser Jennifer	Comparison of Real-time PCR and the Kato-Katz Method for the Diagnosis of Soil-transmitted Helminthiasis and Assessment acf Cure in a Randomized Controlled	320 participants	Kato-Katz dan Real Time PCR	Kato-Katz sensitivity relative to PCR at follow-up: 83.6% for T. trichiura, 43.0% for hookworm, and 53.8% for A. lumbricoides. PCR sensitivity relative to KK at follow-up: 89.1% for T.	One Real-Time PCR is just as sensitive as Kato-Katz quadruplicate for the detection of T. trichiura and A. lumbricoides, but more sensitive to hookworms.

Yes	Writer	Heading	Sample	Method	Result	Conclusion
		Trial			trichiura, 72.7% for hookworm, and 87.5% for A. lumbricoides.	
2	M. Mugo Robert , Rausch Sebastian, D. Musimbi Zaneta, Strube Cristina, Kristin Raulf Marie , Landt Olfert, M paul. Gichuki, Ebner Friederike, Mwacharo Jedidah, R Maurice. Odiere, M Francis. Ndungu, WN Doris, Hartmann Susanne	Evaluation of Copromicroscopy, Multiplex-qPCR and Antibody Serology for Monitoring of Human Ascariasis in Endemic Settings	390 schoolchildren	Microscopy (Kato-Katz and mini-FLOTAC), ELISA, and qPCR	Mini-FLOTAC sensitivity for Ascaris: 53.5% compared to qPCR. Kato-Katz sensitivity for Ascaris: 63.8% compared to qPCR. Relationship between qPCR value and microscopic egg count: R=-0.71, P<0.001	The IgG1 antibody response to adult Ascaris ES products has the potential to complement standard fecal and molecular techniques used to monitor Ascaris infection.
3	H. Poppy L. Lamberton, M. Peter Jourdan	Human Ascariasis: Diagnostics Update	146 articles	Studi Literature	The PCR method and serology method are more sensitive compared to microscopic examination, especially in the kato-katz method.	Although fecal microscopy (especially Kato-Katz) remains the primary method for the diagnosis of Ascariasis, methods such as FLOTAC, serology and qPCR may be necessary as they are

Yes	Writer	Heading	Sample	Method	Result	Conclusion
						more sensitive
4	Sow Duoduo, Parola Philippe, Sylla Khadime, Ndiaye Magatte, Delaunay Pascal, Philippe Halfon Philipe, Camiade Sabine, Dieng Thérèse, CKT Roger, Faye Babacar, LN. Jean, Dieng Yémou, Gaye Oumar, Raoult Didier, dan Bittar Fadi	Performanc e of Real-Time Polymerase Chain Reaction Assays for the Detection of 20 Gastrointes tinal Parasites in Clinical Samples from Senega	98 stool samples from patients in Senegalese hospitals, 94 microscopic -negative control stool samples from Nice and Marseille (France).	Direct microscopic and stool concentrati ons and Real-time PCR	Kato-Katz sensitivity relative to PCR at follow-up: 83.6% for T. trichiura, 43.0% for hookworm, and 53.8% for A. lumbricoide s. PCR sensitivity relative to KK at follow-up: 89.1% for T. trichiura, 72.7% for hookworm, and 87.5% for A. lumbricoide s.	Real TIme PCR appears to be superior to microscopic examinatio n for detecting parasites in fecal samples.

Based on the table above, the study conducted by Barda et al. found that Real-Time PCR is as sensitive as Kato-Katz quadruplicate for T. trichiura and A. lumbricoides, but more sensitive to hookworm, with Kato-Katz sensitivity relative to PCR being 83.6% for T. trichiura, 43.0% for hookworm, and 53.8% for A. lumbricoides. In the second journal, a study conducted by Robert et al. evaluated various methods for monitoring Ascariasis and found the sensitivity of mini-FLOTAC for Ascaris was 53.5% compared to qPCR, while the sensitivity of Kato-Katz was 63.8% compared to qPCR. In the third journal, research conducted by Lamberton and Jourdan in their literature review states that PCR and serology methods are more sensitive than microscopic examinations (especially Kato-Katz) for the diagnosis of Ascariasis. In the fourth journal, a study conducted by Sow et al. showed that Real-Time PCR is superior to

microscopic examination in detecting parasites in fecal samples, with the PCR sensitivity relative to Kato-Katz being 89.1% for T. trichiura, 72.7% for hookworm, and 87.5% for A. lumbricoides.

DISCUSSION

Diagnosis of Soil-Transmitted Helminths (STH) infection can be made through microscopic examination of stool samples, which fall into two categories: qualitative and quantitative. This microscopic method is widely applied to detect STH infection by identifying STH eggs in feces, using a wide range of techniques implemented by various global institutions (Abelira & Pearl, 2023)

The native method (direct slide) is recognized as the gold standard for qualitative examination of feces due to its sensitive, economical, easy-to-apply, and fast-to-work characteristics, although its sensitivity decreases in cases of mild infections (Regina et al., 2018). However, this is not in line with the research of abelira, et al. (2023). The World Health Organization (WHO) recommends the use of the Kato-Katz Method with multiple slides for the detection of STH infection. However, this method shows limited sensitivity when only one stool sample is analyzed, especially in areas with a significant prevalence of mild infections. The advantages of the Kato-Katz Method lie in its simplicity of implementation and suitability for research in the field. Therefore, the WHO adopted this method for the quantitative and qualitative diagnosis of intestinal parasitic infections caused by worms such as worms *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, and hookworms. The utilization of the Kato-Katz Method is highly relevant in disease control programs and chemotherapy studies, and its effectiveness has been confirmed by many researchers and laboratory practitioners around the world. However, the Kato-Katz Method has its limitations, namely its inability to detect protozoan larvae and cysts. In addition, another drawback is the low sensitivity level of this method to detect infections with mild intensity (Abelira & Pearl, 2023). According to Triani Eva et

al's research by comparing the stool examination of the direct slide method with the kato-katz with 68 samples, it shows that the kato-katz method has a figure of 95.59% more sensitive than the direct slide method with a figure of 86.76% with the highest prevalence of STH infection is *Ascariasis lumbricoides*. However, in the study of Abelira Rilinda et al. by comparing the examination of formaldehyde-Ether and kato-katz sedimentation methods on 30 samples, a result of 20% was obtained, which showed that both methods were able to detect STH infection, especially in Ascariasis lumbricoides. The study is in line with the research of Octania Hanayori et al. which compared the kato-katz method fecal examination with the stoll method on 15 samples per group, showing that both methods have 100% sensitivity but the specificity is not calculated because the examined samples are already infected with STH.

In a study by Iqbal Maulana et al. who compared kato-katz with Mini-Flotac with 140 samples, it was found that the Mini-Flotac method (66.4%) gave higher positive results than the Kato-Katz method (45.7%) in detecting STHs such as *A. lumbricoides* and *T. trichiura* in preserved feces. According to Triani Eva et al.'s research by comparing the fecal examination of the direct slide method with Kato-Katz with 68 samples, the kato-katz method has a figure of 95.59% more sensitive than the direct slide method with a figure of 86.76% with the highest prevalence of STH infection is Ascariasis lumbricoides. However, in the study of Abelira Rilinda et al. by comparing the examination of formaldehyde-Ether and kato-katz sedimentation methods on 30 samples, a result of 20% was obtained, which showed that both methods were able to detect STH infection, especially in Ascariasis lumbricoides. The study is in line with the research of Octania Hanayori et al. which compared the kato-katz method fecal examination with the stoll method on 15 samples per group, showing that both methods have 100% sensitivity but the specificity is not calculated because the examined samples are already infected with STH.

In a study by Iqbal Maulana et al. who compared kato-katz with Mini-Flotac with 140 samples, it was found that the Mini-Flotac method (66.4%) gave higher

positive results than the Kato-Katz method (45.7%) in detecting STHs such as *A. lumbricoides* and *T. trichiura* in preserved feces. The Mini-Flotac exhibits high sensitivity, ranging from 95% to 100%. Discussions about PCR testing for the diagnosis of parasites have made great progress, especially due to the advent of new methods that offer better sensitivity and accuracy. Risti et al. (2025) stated that conventional PCR multiplexes attract attention due to the ability to detect the DNA of several parasitic species at once in a single reaction; this is especially important for Soil Transmitted Helminths (STH) infections. However, this method relies on sample preparation, which includes rapid sample handling and homogenization.

Updated methods using molecular methods such as PCR offer the advancement of multiple STH species DNA detection at once, relying on rapid sample preparation (Amoah et al., 2020) suggests that effective DNA extraction from Ascaris spp. eggs is essential. They showed that DNA extraction kits that incorporate bead-beating mechanical breakdown procedures provide better results. This is especially important because PCR is more effective at detecting intestinal worms, especially at the low infection stage. Next (Pomari et al., 2019) introducing Digital PCR (dPCR) as a new technology to diagnose parasitic infections. dPCR provides greater stability to inhibitors found in feces allowing absolute quantification without the need for standard curves. Although dPCR is promising, its implementation as a routine test is still limited due to the higher cost and complexity of the platform. Overall, the three journals emphasize the advantages of PCR in the diagnosis of parasites, while also highlighting the challenges associated with DNA extraction, PCR inhibition, and cost. Future developments will likely focus on optimizing DNA extraction methods, creating more affordable dPCR platforms, and integrating different PCR techniques to improve diagnostic accuracy and efficiency Paras

CONCLUSION

The diagnosis of stool STH infection is based on two main approaches, namely direct and slide, which is fast, inexpensive, but less sensitive to mild

infections. The WHO recommended the Kato-Katz method for the field despite its low sensitivity to mild infections. With molecular advances such as multiple PCR and dPCR offering inhibitor-resistant (bead-beating) STH DNA detection, it has the potential to improve the diagnostic accuracy and effectiveness of STH control. It was found that the Kato-Katz sensitivity was relative to PCR, the Kato-Katz method was sensitive 53.8% for *A. Lumbricoides*, and PCR was87.5% for *A. Lumbricoides*.

THANK YOU

With all humility, we express our deep gratitude to the Indonusa Polytechnic Surakarta, especially the Study Program Medical Laboratory Technology, for all the support that has been provided during the process of making this scientific study manuscript. The contribution of the institution, both in terms of facilities, guidance, and administrative support, has been a crucial factor in the success of this scientific study. We hope that this manuscript can make a meaningful contribution to the development of science within the Indonusa Polytechnic in Surakarta, as well as to the progress of the world of health in general.

CONFLICT OF INTEREST

The authors state that there is no conflict of interest regarding this manuscr.

REFERENCES

Abelira, R., & Mutiara, H. (2023). Comparison of Fecal Examination of the Formal-ether Sedimentation Method with the Kato-Katz Method in Detecting Soil Transmitted Helminth. *Medulla*, *13*, 463–471.

Aemiro, A., Menkir, S., Tegen, D., & Tola, G. (2022). Prevalence of Soil-Transmitted Helminthes and Associated Risk Factors Among People of Ethiopia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Infectious Diseases: Research and Treatment*, *15*. https://doi.org/10.1177/11786337211055437

Amoah, I. D., Singh, G., Troell, K., Reddy, P., Stenström, T. A., & Bux, F. (2020). Comparative assessment of DNA extraction procedures for Ascaris spp. Eggs. *Journal of Helminthology*, *94*. https://doi.org/10.1017/S0022149X19000683

Arimaswati, A., Alifariki, L. O., Fridayani, F., & Jamaluddin, J. (2020). Identification of Types of Soil Transmitted Helminth (Sth) Worms in the Feces of Kendari City Garbage Transportation Workers with the Harada Mori Modification Method and the Kato Katz Modification Method. *Medika Respati : Scientific Journal of Health*, *15*(1), 9. https://doi.org/10.35842/mr.v15i1.270

Barda, B., Schindler, C., Wampfler, R., Ame, S., Ali, S. M., & Keiser, J. (2020). Comparison of real-time PCR and the Kato-Katz method for the diagnosis of soil-transmitted helminthiasis and assessment of cure in a randomized controlled trial. BMC Microbiology, 20(1), 298. https://doi.org/10.1186/s12866-020-01963-9

Bartsch, S. M., Hotez, P. J., Asti, L., Zapf, K. M., Bottazzi, M. E., Diemert, D. J., & Lee, B. Y. (2016). The Global Economic and Health Burden of Human Hookworm Infection. PLOS Neglected Tropical Diseases, 10(9), e0004922. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004922.

Basarang, M., Azis, N. N., Rasyid, N. Q., Rianto, M. R., & Rasiyanto, E. (2018). Worm Counseling and Examination of Worm Eggs in Grade 1 Students of SD Inpres Borongkaramasa, Pallangga District, Gowa Regency. Proceedings of the Seminar on Service Results (SNP2M), 323-327.

Choirudin, N. P., Sasongkowati, R., & Astuti, S. S. E. (2024). Identification of Ascaris lumbricoides Egg in cauliflower (Brassica oleracea var. botrytis) by sedimentation method. Journal of Indonesian Medical Laboratory and Science, 5(1), 31–36. https://doi.org/10.53699/joimedlabs.v5i1.178

Darmadi, D., & Dikna, J. (2022). Morphology of Ascaris lumbricoides eggs using eosin hematocillin staining. *Borneo Journal of Medical Laboratory Technology*, *5*(1), 335–340. https://doi.org/10.33084/bjmlt.v5i1.4433

Fristiani, A. K. B., Salamah, U., Salmiati, W., Suharman, R. A., Latifah, A., Novrizal, Y. P., & Ratnadiningrat, R. (2024). Examination of Worm Infection and Proper Handwashing Education in Elementary School Students. *Indonesian Journal of Innovation and Community Service*, *3*(4), 39–42. https://doi.org/10.26714/jipmi.v3i4.368

Handayani, N. K. L. (2024). DETECTION OF THE FIRST INTERNAL TRANSCRIBED SPACER GENE IN THE WORM ASCARIS LUMBRICOIDES FROM A CASE OF WORMS AT THE SUKAWATI I HEALTH CENTER, SUKAWATI GIANYAR DISTRICT.

Hutauruk, D. S., Nababan, R., Aritonang, E., Tarigan, S. W., & Friani, S. R. (2023). Description of Roundworm Eggs (Ascaris Lumbricoides) at the Age of 0-75 Years with Suspected Ascariasis. Edu Cendikia: Scientific Journal of Education, 3(3). https://doi.org/10.47709/educendikia.v3i03.3506

Iqbal, M., Triana, D., Rizqoh, D., Gunasari, L. F. V., & AgustinUmar, L. (2023). Accuracy of Kato-Katz and Mini-Flotac Examinations in the Diagnosis of Worms in Fresh Feces and Preserved Feces. JOURNAL OF MEDICINE AND HEALTH, 19(1), 74-82.1. https://jurnal.umj.ac.id/index.php/JKK

Kartini, S., & Angelia, E. (2021). Utilization of Juice Beta vulgaris. L as an Alternative Reagent for Examination of Worm Eggs Ascaris lumbricoides/Utilization of Beet Fruit Juice (Beta vulgaris. l) As an alternative reagent for the examination of Ascaris lumbricoides worm eggs. Journal of Health Protection, 10(1), 20-25.1.

Keller, L., Patel, C., Welsche, S., Schindler, T., Hürlimann, E., & Keiser, J. (2020). Performance of the Kato-Katz method and real time polymerase chain reaction for the diagnosis of soil-transmitted helminthiasis in the framework of a randomised controlled trial: treatment efficacy and day-to-day variation. Parasites & Vectors, 13(1), 517. https://doi.org/10.1186/s13071-020-04401-x

Kurniasari, A., Fristiani, B., Salamah, U., Salmiati, W., Suharman, R. A., Latifah, A., Novrizal, Y. P., & Ratnadiningrat, R. (2024). Examination of Worm Infection and Proper Handwashing Education in Elementary School Students. Indonesian Journal of Innovation and Community Service, 3(4), 39-42. https://jurnalnew.unimus.ac.id/index.php/jipmi

Miswan, N., Singham, G. V., & Othman, N. (2022). Advantages and limitations of microscopy and molecular detections for diagnosis of soil-transmitted helminths: An overview. Helminthologia, 59(4), 321–340. https://doi.org/10.2478/helm-2022-0034

Mugo, R. M., Rausch, S., Musimbi, Z. D., Strube, C., Raulf, M. K., Landt, O., Gichuki, P. M., Ebner, F., Mwacharo, J., Odiere, M. R., Ndungu, F. M., Njomo, D. W., & Hartmann, S. (2024). Evaluation of copromicroscopy, multiplex-qPCR and antibody serology for monitoring of human ascariasis in endemic settings. PLoS Neglected Tropical Diseases, 18(6), e0012279. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0012279

Nugraha, H. O., Sulaeman, Sundara, Y., & Kurniawan, E. (2024). PERBANDINGAN METODE KATO – KATZ DENGAN METODE STOLL UNTUK PEMERIKSAAN TELUR CACING SOIL TRANSMITTED HELMINTH PADA SAMPEL FESES COMPARISON OF KATO – KATZ METHODS WITH STOLL METHODS FOR EXAMINATION OF SOIL TEANSMITTED HELMINTH EGGS IN FECES SAMPLES. SILIWANGI HEALTH JOURNAL, 5(2). https://doi.org/10.34011/jks.v5i2.2399

Palaido, W. O. S. A. et al. (2025). Risk Factors for the Incidence of Soil-Transmitted Helinths Infection in Elementary School Children in Toronipa Village, Soropia District, Konawe Regency in 2025. *Journal of Kendari Public Health (JKKM), 4*(3).

Pomari, E., Piubelli, C., Perandin, F., & Bisoffi, Z. (2019). Digital PCR: a new technology for diagnosis of parasitic infections. *Clinical Microbiology and Infection*, *25*(12), 1510–1516. https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.06.009

Rajoo, Y., Ambu, S., Lim, Y. A. L., Rajoo, K., Tey, S. C., Lu, C. W., & Ngui, R. (2017). Neglected intestinal parasites, malnutrition and associated key factors: A population based cross-sectional study among indigenous communities in sarawak, Malaysia. *PLoS ONE*, *12*(1), 1–17. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170174

Regina, M. P., Halleyantoro, R., & Bakri, S. (2018). Comparison of fecal examination between ordinary sedimentation methods and formal-ether sedimentation methods in detecting soil-transmitted helminths. *Diponegoro Medical Journal*, *7*(2), 527–537.

Salsabila, W. O. E. S., Idris, S. A., & Balaka, K. I. (2024). IDENTIFICATION OF SOIL TRANSMITTED HELMINTH (STH) INTESTINAL NEMATODES USING THE RITCHIE METHOD IN CHILDREN OF BAJO INDAH VILLAGE, KONAWE REGENCY. Journal of Kendari Health Analyst, 7(1), 37-42. https://poltek-binahusada.ejournal.id/analiskesehatankendari/index

Sow, D., Parola, P., Sylla, K., Ndiaye, M., Delaunay, P., Halfon, P., Camiade, S., Dieng, T., Tine, R. C. K., Faye, B., Ndiaye, J. L., Dieng, Y., Gaye, O., Raoult, D., & Bittar, F. (2017). Performance of Real-Time Polymerase Chain Reaction Assays for the Detection of 20 Gastrointestinal Parasites in Clinical Samples from Senegal. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 97(1), 173–182. https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0781

Triani, E., Suwitasari, P., Setyorini, R. H., Yuliyani, E. A., & Handito, D. (2021). Diagnostic Accuracy of Worms with Direct Slide and Kato Katz Methods in Helminthiasis Patients in Mataram City. Journal of Science, Technology & Environment, 0(Special Issue), 214–222. https://doi.org/10.29303/jstl.v0i0.263

Wijaya, N. H. (2017). 301934-Risk-Factors-Occurrence-Infection-Worm-Ta-C166Eec9. *Journal of Community Health Epidemiology*, *1*(1), 15–24. Keller, L., Patel, C., Welsche, S., Schindler, T., Hürlimann, E., & Keiser, J. (2020). Performance of the Kato-Katz method and real time polymerase chain reaction for the diagnosis of soil-transmitted helminthiasis in the framework of a randomised controlled trial: treatment efficacy and day-to-day variation. Parasites & Vectors, 13(1), 517. https://doi.org/10.1186/s13071-020-04401-x

DETECTION OF THE IS6110 GENE OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS IN THE SERUM OF HOUSEHOLD CONTACTS OF TUBERCULOSIS PATIENTS USING OF POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) METHODE

Selsya Meifin Fadillah* ·Wahyuddin[1] · Nirmawati Angria[1]

[1]Bachelor of Applied Sience of Medical Laboratory Technology, Faculty of Healt Technology, Megarezky University, South Sulawesi, Indonesia
E-Mail: selsyameifinfadillah@gmail.com
No Tlp WA : 085397408342

Abstract

Tuberculosis is one of the diseases with the highest mortality rates in the world. Tuberculosis is an infectious disease that remains a global health problem, especially in developing countries like Indonesia. Tuberculosis transmission is closely related to close contact in the household environment. Early detection of tuberculosis infection, especially in high-risk individuals, is crucial. One currently developing approach is molecular diagnostics, which is an examination that detects the presence of genetic material from *Mycobacterium tuberculosis*. The use of the Polymerase Chain Reaction method allows for rapid, sensitive, and specific amplification of specific DNA fragments from tuberculosis bacteria. The IS6110 gene is a specific DNA sequence from *Mycobacterium tuberculosis* that can be used as a molecular marker in the early detection of latent Tuberculosis infection. This study aims to detect the presence of the IS6110 gene in the serum of individuals who have a history of household contact with active tuberculosis patients, using the *Polymerase Chain Reaction* method. This study used a descriptive experimental design with a molecular laboratory approach. A total of 17 serum samples from household contacts were collected and analyzed using PCR to amplify the IS6110 gene. The results showed that 1 of 17 samples (5.88%) was detected positive for the IS6110 gene, while the other 16 samples (94.12%) showed negative results.

Keywords: Household contacts, IS6110 gene, PCR, Tuberculosis

BACKGROUND

Tuberculosis is a chronic infectious disease caused by the bacterium *Mycobacterium tuberculosis*. This rod-shaped bacterium is acid-fast, and, therefore, commonly referred to as an Acid-Fast Bacillus (AFB). Most *Mycobacterium tuberculosis* infections involve the lung parenchyma, leading to pulmonary tuberculosis; however, the bacterium also can infect other organs (extrapulmonary tuberculosis), including the pleura, lymph nodes, bones, and other extrapulmonary sites (Ministry of Health, Republic of Indonesia, 2020).

Tuberculosis is a preventable and treatable disease. However, in 2023, tuberculosis ranked as the second leading cause of death from a single

infectious agent worldwide, after COVID-19. Globally, an estimated 10.8 million (range 10.1– 11.7 million) people developed tuberculosis, with 1.1 million deaths (range 977,000–1.2 million) attributed to TB (including TB-HIV coinfection), and 161,000 deaths (range 132,000–193,000) among people living with HIV (Ministry of Health, Republic of Indonesia, 2024).

The World Health Organization (WHO) reported that most TB cases occur annually in 30 high-burden countries, accounting for 87% of the global total in 2023. Five countries accounted for 56% of the global burden: India (26%), Indonesia (10%), China (6.8%), the Philippines (6.8%), Pakistan (6.3%), Nigeria (4.6%), Bangladesh (3.5%), and the Democratic Republic of the Congo (3.1%) (WHO, 2024).

Based on the Tuberculosis Information System (SITB) at the provincial level in 2024, of the total 26,090 patients who underwent treatment, 6,331 patients (24.27%) were declared cured, while 9,305 patients (35.67%) completed treatment but did not have final test results confirming cure. A total of 68 patients (0.26%) experienced treatment failure, 1,369 patients (5.25%) died during treatment, and 1,958 patients (7.50%) discontinued treatment or were lost to follow-up. Additionally, 7,059 patients (27.06%) were not evaluated due to relocation or incomplete data. Of the total patients, 19,031 (72.94%) were evaluated. The treatment success rate—calculated from the proportion of patients cured or who completed treatment among those evaluated—was 59.93%. This percentage highlights ongoing challenges in ensuring treatment completion, particularly due to loss to follow-up, mortality, and unevaluated patients (Ministry of Health, Republic of Indonesia, 2025).

At the district level (Kabupaten Wajo, 2024), among 1,162 index TB patients treated with anti-tuberculosis drugs, only 316 household contacts received Tuberculosis Preventive Therapy (TPT), corresponding to approximately 27.2% coverage. The remaining 72.8% of contacts did not receive preventive intervention (Ministry of Health, Republic of Indonesia, 2025).

The low coverage of TPT, reflecting inadequate early detection and prevention efforts, represents a critical gap in TB control. Close contacts of TB patients, especially household members or individuals living in crowded environments, face a high risk of infection with *Mycobacterium tuberculosis*,

particularly vulnerable groups such as children, the elderly, or immunocompromised individuals (e.g., HIV-positive individuals).

The smallest social unit where tuberculosis transmission most likely occurs is the household. Educating families about TB—including its symptoms, transmission, and prevention—is a key strategy to prevent disease spread through household contact. This includes providing supplementary nutrition and masks to TB patient families and promoting Clean and Healthy Living Behavior (PHBS) through posters and pamphlets (Pangestika et al., 2019).

A study by Shiyang Pan et al. involving 124 clinically diagnosed pulmonary TB patients, with 43 serum and 94 plasma samples, compared four DNA extraction methods for *Mycobacterium tuberculosis* and found that the magnetic bead method yielded the highest extraction efficiency (52.8%) and best reproducibility. Using real-time PCR, MTB DNA was detected in 39 of 124 patients (31.5%), including 12 of 34 smear-negative cases (35.3%), indicating the potential of serum/plasma PCR as a complementary diagnostic tool, particularly in smear-negative cases (Pan et al., 2013).

A study by Iram Amin et al. demonstrated that PCR is a sensitive and effective diagnostic tool for detecting *Mycobacterium tuberculosis* in various clinical samples from both pulmonary and extrapulmonary TB cases, especially in smear-negative patients. Among 766 samples analysed, 356 samples (46.5%) were PCR-positive for *Mycobacterium tuberculosis*. The samples included serum (4.8%), blood (36.3%), urine (46.6%), cerebrospinal fluid (42.1%), ascitic fluid (67.6%), pleural fluid (52%), pericardial fluid (30%), pus (38.6%), bone marrow (60%), sputum (38.8%), and bronchoalveolar lavage (70%) (Amin et al., 2011).

Currently, the gold standard for diagnosing tuberculosis is culture. However, this method requires a long turnaround time. The specific sequence for *Mycobacterium tuberculosis* detection is IS6110. MTB can be detected more rapidly using the Polymerase Chain Reaction (PCR) technique compared to traditional methods (Murtiningrum, 2020).

Polymerase Chain Reaction (PCR) is a molecular biology technique capable of detecting *Mycobacterium tuberculosis* genetic material with high sensitivity and specificity (Mutmainna, 2024). One of the most targeted genes in MTB detection is IS6110, an insertion element specific to the MTB genome. Research

on detecting the IS6110 gene in serum samples of household contacts of bacteriologically confirmed TB patients remains limited, highlighting the need for further studies to evaluate its effectiveness in early detection of TB infection. Considering the importance of early detection in high-risk groups such as household contacts, as well as the advantages of PCR in detecting *Mycobacterium tuberculosis*, this forms the basis and rationale for the present study, which aims to detect the IS6110 gene of *Mycobacterium tuberculosis* in the serum of household contacts of TB patients using the PCR method.

MATERIAL AND METHODES

The materials used in this study included: Taq polymerase enzyme, Nuclease Free Water (NFW), DNA ladder/marker, primers targeting the IS6110 gene (forward primer 5' CCT GCG AGC GTA GGC GTC GG 3' and reverse primer 5' CTC GTC CAG CGC CGC TTC GG 3'), amplifying a 123 bp fragment (Choudhury, 2024), Mycobacterium tuberculosis H37RV strain (positive control), nuclease-free water (negative control), clinical isolate samples, agarose powder, TBE buffer, ethidium bromide (GelRed), and DNA ladder marker.

1. Sample Collection

The samples used in this study were serum specimens obtained from individuals residing in the same household as patients with pulmonary tuberculosis who were treated at Rumah Sakit Umum Daerah Lamaddukkelleng Kabupaten Wajo.

2. Polymerase Chain Reaction (PCR) Assay

a. DNA Extraction Using Spin Column Method

A total of 200 µL of serum sample was placed into a sterile microcentrifuge tube, followed by the addition of 20 µL of Proteinase K, and vortexed to homogenize. The mixture was then incubated at 60 °C for 5 minutes. Subsequently, 200 µL of GSB buffer was added, vortexed, and incubated again at 60 °C for 5 minutes. Next, 200 µL of 96% absolute ethanol was added and vortexed for 10 seconds.

The entire mixture was transferred into a spin column and centrifuged at 13,000 rpm for 1 minute. The filtrate in the collection tube was discarded, and 400 µL of Buffer Wash 1 (W1) was added, followed by centrifugation at 13,000

rpm for 1 minute. The filtrate was discarded, then 600 µL of Buffer Wash was added and centrifuged for 3 minutes. The filtrate was discarded again, and the column was centrifuged dry at 13,000 rpm for 3 minutes.

The collection tube was removed and replaced with a sterile 1.5 mL DNA tube at the bottom of the spin column. A total of 100 µL of Elution Buffer from the gsyNc DNA Extraction Kit was added to the column, incubated for 3 minutes, and centrifuged at 13,000 rpm for 1 minute. The eluted DNA was collected in the tube and stored at 4 °C as a PCR template.

b. DNA Amplification by PCR

An Eppendorf tube was prepared for the PCR master mix. A total of 250 µL of enzyme mix was pipetted into the tube, followed by the addition of forward primer (5' CCT GCG AGC GTA GGC GTC GG 3'), reverse primer (5' CTC GTC CAG CGC CGC TTC GG 3'), each at 10 µL, and 130 µL of nuclease-free water.

Each PCR tube was filled with 20 µL of the PCR mix, followed by 5 µL of DNA sample, resulting in a total reaction volume of 25 µL per tube.

Table 1. PCR Components

PCR Component	Volume (µL/sample)	Total Volume (x20)
Enzyme	12.5	250
Forward Primer	0.5	10
Reverse Primer	0.5	10
Nuclease-Free Water	6.5	130
DNA	5.0	—
Total	**25**	

Source: Primary Data, 2025

The PCR tubes were placed into the thermal cycler, and the program was set for 35 cycles with the following conditions: pre-denaturation at 94 °C for 5 minutes, denaturation at 94 °C for 30 seconds, annealing at 60 °C for 30 seconds, extension at 72 °C for 1 minute, and a final extension at 72 °C for 5 minutes. The **RUN** button was then pressed to initiate the reaction.

c. Gel Electrophoresis

A 2% agarose gel was prepared by weighing 2 g of agarose powder and dissolving it in 100 mL of TBE buffer in an Erlenmeyer flask. The mixture was heated in a microwave until boiling (approximately 5 minutes). Then, 5 µL of ethidium bromide was added and mixed until completely dissolved. The solution was poured into the gel mold with a comb to form wells.

After the gel solidified, the comb was removed. A total of 8 µL of each DNA sample, previously treated with a restriction enzyme, was loaded into the wells along with a DNA marker as a reference. After all wells were filled, electrophoresis was performed in a TBE buffer chamber with a current of 400 mA, voltage of 100 V, for 100 minutes. The gel was then visualized using a UV transilluminator.

The analytical method used in this study involved data processing in the form of images and tables. The PCR results, represented by DNA bands, were documented and measured in base pairs (123 bp) based on the known DNA structure to detect the *IS6110 gene*. The results were then presented in an observation table categorized as positive or negative, based on the amplification outcome using tuberculosis-specific primers.

RESULTS

1. Characteristics of Research Subjects

The subjects included in this study were determined based on tuberculin test screening results, contact history with tuberculosis patients, and gender. As presented in Table 4.1, a total of 17 individuals were enrolled. All subjects showed a positive reaction to the tuberculin test, representing 100%. Furthermore, most of the subjects (12 individuals or approximately 70.59%) were household contacts categorized as spouses, while 5 individuals (29.41%) were household contacts categorized as parents or children. Regarding sex distribution, 11 subjects (64.71%) were male, and 6 subjects (35.29%) were female.

Table 1. Characteristics of research subjects

Category	Amount	Persentase
Tuberkulin Screening		
Positive Tuberculin Negative Tuberculin	17 0	100% 0%
Total	17	100%
Family Relation		
Mother/Child	5	29,41%
Husband/Wife	12	70,59%
Total	17	100%
Gender		
Male	11	64,71%

Category	Amount	Persentase
Female	6	35,29%
Total	17	100%

2. The PCR products were analyzed using 2% agarose gel electrophoresis.

Each gel included a DNA marker, positive control, and negative control. Using the IS6110 gene primer pair, a positive result was indicated by the presence of a DNA band at 123 bp.

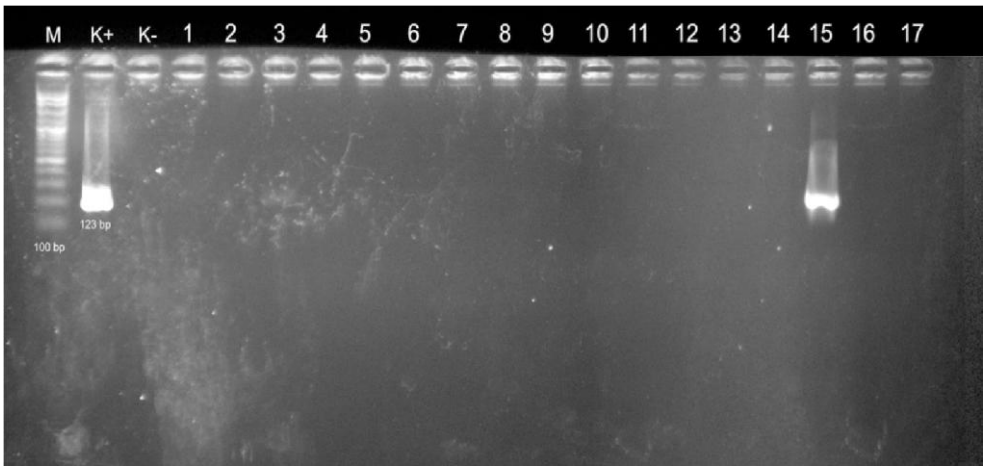


Figure 1. DNA analysis of Mycobacterium tuberculosis PCR products using aragose gel electrophoresis

As shown in Figure 1, a total of 17 serum samples, along with a positive control and a negative control, were subjected to agarose gel electrophoresis. The results demonstrated that only sample number 15 was positive, as indicated by the visualization of a DNA band under the Gel Doc system. In contrast, samples with codes 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16, and 17 showed negative results, characterized by the absence of visible DNA bands at 123 bp.

DISCUSSION

This study aimed to detect the IS6110 gene of Mycobacterium tuberculosis from serum samples of household contacts of tuberculosis patients using the Polymerase Chain Reaction (PCR) method. The study was conducted from June to July 2025 at the Hasanuddin University Medical Research Center (HUM-RC), Faculty of Medicine, Universitas Hasanuddin. The research samples consisted of serum obtained from household contacts of tuberculosis patients who had previously undergone a tuberculin test with positive results. The tuberculin screening was intended to facilitate the detection of *M. tuberculosis* DNA in the

serum of individuals with close household exposure to active tuberculosis cases. A total of 17 serum samples were analysed. Positive control was performed using the reference strain H37RV, while negative control was performed using Nuclease-Free Water (NFW).

The presence of the IS6110 gene in one serum sample indicates the possible circulation of *M. tuberculosis* DNA fragments in the bloodstream of individuals with close contact, although it does not necessarily indicate active infection. Previous studies have shown that *M. tuberculosis* DNA can be detected in the circulation of patients with either active or latent infection, albeit with lower sensitivity compared to sputum specimens. Detection of *M. tuberculosis* in serum depends greatly on the very low DNA concentration, efficient DNA extraction methods, and the sensitivity of the PCR technique employed.

The IS6110 gene has several advantages that make it an ideal target for *M. tuberculosis* detection by PCR. One of its main advantages is its high specificity, as IS6110 is almost exclusively found in members of the Mycobacterium tuberculosis complex (MTBC), thereby reducing the likelihood of false-positive results from non-TB bacteria. In addition, IS6110 is generally present in multiple copy numbers (often more than 10 copies per genome) in most *M. tuberculosis* strains, significantly increasing detection sensitivity through DNA amplification. This element is also stable and conserved, not prone to mutation, and has been widely used in various diagnostic studies as a valid and reproducible molecular target (Datulimbong, 2023).

CONCLUSION

Based on the results of this study, it can be concluded that out of 17 serum samples examined, the presence of the IS6110 gene of Mycobacterium tuberculosis was detected in 1 sample (5.88%), while the remaining 16 samples (94.12%) showed negative results. This finding indicates that only a small proportion of household contacts of tuberculosis patients were PCR-positive when analysed using the Polymerase Chain Reaction (PCR) method.

THANK YOU NOTE

The researcher would like to take this opportunity to express her deepest respect and gratitude, especially to her parents, who have provided her with constant prayers, encouragement, and support, both morally and materially.

1. Nirmawati Angria, research supervisor.
2. The Megarezky University Laboratory Assistant for their guidance throughout the research process.
3. All other parties who have provided invaluable assistance, whom the researcher cannot mention individually.

REFRENSI

Iram A., Idrees A., Awan Z., Shahid M.,, Afzal S.,, dan Hussain A. 2011. "PCR Could Be a Method of Choice for Identification of Both Pulmonary and Extra-Pulmonary Tuberculosis." *BMC Research Notes* 4(1):332. doi: 10.1186/1756-0500-4-332.

Anam, K., dan Rahmawati, E. 2022. "Pemeriksaan Mikroskopis BTA Menggunakan Metode Pewarnaan Ziehl- Neeslen Di RSUD Abdul Wahab Sjahranie Samarinda." *Jurnal Teknologi Laboratorium Medik Borneo* 2(1):54–61.

Astriany, D., Husein, S., G., dan Mentari, R., J. 2017. "Karekterisasi Bakteri Mycobacterium Tuberculosis Menggunakan Spektofotometri Fourier Transform Infrared." *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology* VI(2):13–21. doi: http://dx.doi.org/10.58327/jstfi.v6i2.65.

Choudhury, S., R. 2024. "*Detection of Mycobacterium Tuberculosis by Polymerase Chain Reaction* : A One - Year Cross Sectional Study in the Rural Population of Belagavi District." *Research Journal of Medical Sciences* 18(11):280–89. doi: 10.36478/makrjms.2024.11.341.348.

Datulimbong, A. 2023. "Identifikasi Gen IS6110 Pada Mycobacterium Tuberculosis Yang Diisolasi Dari Sputum Penderita TB Pulmonal Maupun TB HIV Yang Di Rawat Di RSUP DR. Wahidin Sudirohusodo Makassar Dan Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat Makassar." Universitas Hasanuddin Makassar.

Dewi, I., I., Prabamurti, P., N., dan Indraswari, R. 2019. "Hubungan Persepsi Kerentanan Dan Persepsi Ancaman Dengan Peran Pmo Dalam Pemberian Obat Tb Pada Anak Terhadap Penegahan Kejadian Drop Out." *Jurnal Kesehatan Masyarakat (e-Journal)* 7(4):434–40.

Dewi, L., P., K. 2020. "Pemeriksaan Basil Tahan Asam Untuk Membantu Menegakkan Diagnosis Penyakit Tuberkulosis." *International Journal of Applied Chemistry Research* 1(1):16. doi: 10.23887/ijacr.v1i1.28716.

Direktorat Jenderal P2P. 2017. *Petunjuk Teknis Pemeriksaan TB Menggunakan Tes Cepat Molekuler*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.

Direktorat Jenderal P2P. 2020. *Petunjuk Teknis Penanganan Infeksi Laten Tuberkulosis (ILTB)*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.

Direktorat Jenderal P2P. 2021. *Petunjuk Teknis Terapi Pencegahan Tuberkulosis Pada Orang Dengan HIV*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.

Direktorat Jenderal P2P. 2022. *Petunjuk Teknis Pemeriksaan Mikroskopis Tuberkulosis*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.

Hidayat, M. 2020. *Penelitian Biomedik Dan Ilmu Kedokteran*. Band: Alfabeta, CV.

Irianti, T., T., dan Kuswadi. 2018. *Mengenal Anti Tuberkulosis*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.

Isbaniah, F., Burhan, E., Sinaga, B., Y., M., Yanifitri, D., B., Handayani, D., Harsini, Agustin, H., Artika, I., N., Aphridasari, J., Lasmaria, R., Russilawati, Soedarsono, Sugiri, Y., J., R. 2021. *Tuberkulosis Pedoman Diagnosis Dan Penatalaksanaan Di Indonesia*. Vol. 001. edited by P. D. P. I. (PDPI). Jakarta: Perhimpunan Dokter Paru Indonesia (PDPI).

Kaswandani, N., Nurul D., dan Jose R., Batubara, J., L. 2021. "Imunodiagnosis Tuberkulosis Dengan Interferon Gamma Release Assay Dan Uji Tuberkulin Pada Anak Dengan Infeksi Human Immunodeficiency Virus." *Sari Pediatri* 22(5):261. doi: 10.14238/sp22.5.2021.261-9.

Kementerian Kesehatan RI. 2020. *Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran Tata Laksana Tuberkulosis*. edited by Kementerian Kesehatan RI. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.

Kementerian Kesehatan RI. 2024. *Laporan Program Penanggulangan Tuberkulosis 2023*. edited by Kementerian Kesehatan RI. Jakarta.

Kementerian Kesehatan RI. 2025a. *Buku Panduan Kader Tuberkulosis, Langkah Praktis Dalam Pencegahan, Deteksi Dini, Dan Pedampingan Pasien TBC Di Masyarakat*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.

Kementerian Kesehatan RI. 2025b. "Sistem Informasi Tuberkulosis."

Kenedyanti, E., dan Sulistyorini, L. 2017. "Analisis Mycobacterium Tuberculosis Dan Kondisi Fisik Rumah Dengan Kejadian Tuberkulosis Paru." *Jurnal Berkala Epidemiologi* 5(2):152–62. doi: 10.20473/jbe.v5i2.2017.152-162.

Khariri, Amalia, N., Nursofiah, S., Muna, F., Rukminiati, Y., dan Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan. 2020. "Akankah Perkembangan Metode Deteksi Biomolekuler Era 4.0 Mampu

Menggantikan Pemeriksaan Laboratorium Bakteri Secara Konvensional?" *Seminar Nasional Riset Kedokteran* 1(1):p.380-5.

Kurniasih, E., dan Daris., H. 2017. *Tuberculosis Mengenali Penyebab, Cara Penularan, Dan Penanggulangan*. Yogyakarta: Penerbit Samudra Biru (anggota IKAPI).

Maksum, I., P., S., Gaffar, S., Hassan, K., Subroto T., dan Soemitro, S. 2019. *Teknik Biologi Molekular*. Padjajaran: Alqaprint Jatinangor.

Mar'iyah, K., dan Zulkarnain. 2021. "Patofisiologi Penyakit Infeksi Tuberkulosis." *Prosiding Biologi Achieving the Sustaunabke Development Goals with Biodiversity in Conforting Climate Change* 5(1):79–82. doi: 10.55724/jbiofartrop.v5i1.378.

Moganeradj, K., P. Sonnenberg, I. Abubakar, T. McHugh, dan Arnold, C. 2016. "Insertion Sequence IS6110 Mapping, a Tool to Characterise TB Strains into Genetic Lineages." *International Journal of Infectious Diseases* 45:400–401. doi: 10.1016/j.ijid.2016.02.856.

Murtiningrum, S. 2020. "Pemeriksaan IS6110 Untuk Deteksi Mycobacterium Tuberkulosis Menggunakan Real Time PCR Pada Limfadenitis Granulomatosa." Universitas Gadjah Mada.

Mutmainna. 2024. "Identifikasi Mycobacterium Tuberculosis Complex (MTBC) Dari Sampel Isolat Pasien Tuberkulosis Melalui Deteksi Gen MPT64." Universitas Megarezky.

Pan, S., Gu, B., Wang, H., Yan Z., Wang P., Pei H., Xie W., Chen D, dan Liu, G. 2013. "Comparison of Four DNA Extraction Methods for Detecting Mycobacterium Tuberculosis by Real-Time PCR and Its Clinical Application in Pulmonary Tuberculosis." *Journal of Thoracic Disease* 5(3):251–57. doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2013.05.08.

Pangestika, R., Fadli, R., K., dan Alnur, R.,D. 2019. "Edukasi Pencegahan Penularan Penyakit TB Melalui Kontak Serumah." *Jurnal SOLMA* 8(2):229–38. doi: http://dx.doi.org/10.29405/solma.v8i2.3258.

Pratama, M., R., S. 2018. "Identifikasi GEN IS6110 Pada Mycobacterium Tuberculosis Dari Sputum Dengan BTA Positif Yang Diisolasi Dari Pasien RSUP DR.Mohammad Hoesin Palembang." Universitas Sriwijaya.

Rachma, W., U., Makhfudli, dan Wahyuni, S., W. 2021. "Analisis Faktor Yang Mempengaruhi Perilaku Pencegahan Penularan Pada Pasien Paru." *Jurnal Keperawatan Muhammadiyah* 6(3):137–49.

Rosyid, A., N., Hidayati, A., N., Nurhariansyah, R., Bakhtiar, A., Ardhiansyah, A., O., Amin, M., dan Nasronuddin. 2019. *Manajemen Tuberkulosis Terkini, Multidisiplin Dan Komperehensif*. Vol. 11. Surabaya: Airlangga University Press.

Safithri, F. 2017. “Diagnosis TB Dewasa Dan Anak Berdasarkan ISTC (International Srandard for TB Care).” *Saintika Medika* 7(2). doi: 10.22219/sm.v7i2.4078.

Wahdi, A., dan Puspitosari, D., R. 2021. *Mengenal Tuberkulosis*. Purwokerto: CV. Pena Persada.

WHO. 2024. *Global Tuberculosis Report 2024*. Geneva: World Health Organization; 2024. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

Yanti, Budi, Mulyadi, Soetjipto, Mertaniasih, N., M., dan Amin, M., 2020. “Phylogeny Magnitude of Mycobacterium Tuberculosis Based on Genomic Analysis.” *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan Indonesia* 11(2):191–97. doi: 10.20885/jkki.vol11.iss2.art12.

Zara, N, dan Rinawati R. 2023. “Penatalaksanaan Pada Pasien Tuberkulosis Paru Melalui Pendekatan Keluarga.” *Jurnal Kesehatan Tradisional* 1(2):159–1173. doi: https://doi.org/10.47861/usd.v1i2.355.

PROTECTIVE EFFECTS OF STERCULIA FOETIDA SEED EXTRACT AND VIRGIN COCONUT OIL ON COLON HISTOPATHOLOGY IN COLORECTAL CANCER RAT MODELS

Burhannuddin* · I Wayan Karta · I Gusti Ngurah Dwija Putra

Poltekkes Kemenkes Denpasar, Bali, Indonesia
Email: burhannuddin@poltekkes-denpasar.ac.id
No Tlp WA : 082398655686

Abstract

Colorectal cancer is one of the leading causes of cancer death worldwide and is often associated with oxidative stress, chronic inflammation, and an imbalance in the gut microbiota. These conditions can trigger DNA damage, histopathological changes, and increase the risk of normal cell transformation into cancer cells. This study aims to evaluate the nutraceutical effect of a combination of Sterculia foetida seed extract and Virgin Coconut Oil (VCO) on the histopathological structure of the colon in a rat model of colorectal cancer induced by 1,2-dimethylhydrazine (DMH). A total of 25 male Wistar rats were divided into five groups: a negative control, a positive control, and three treatment groups with combined doses of 5%, 10%, and 15%. After a five-week treatment period, colon tissue was isolated and analyzed using Hematoxylin-Eosin staining. The results showed that the positive control group showed inflammation, nuclear enlargement, and preneoplastic changes, while the treatment group showed normal colonic epithelial structure without any indication of inflammation. These findings indicate that the combination of Sterculia foetida seed extract and VCO has a protective effect against colon tissue damage through antioxidant, anti-inflammatory, and microbiota modulation mechanisms, thus potentially being developed as a preventive nutraceutical agent for colorectal cancer.

***Keywords** : Sterculia foetida Seed Extract, Virgin Coconut Oil, Colon Histopathology*

INTRODUCTION

Colorectal cancer is one of the leading causes of cancer death worldwide, with incidence rates continuing to rise due to changes in lifestyle, diet, and exposure to environmental factors. This disease generally begins with disruption of the intestinal mucosa induced by oxidative stress, chronic inflammation, and an imbalance in the gut microbiota. These three factors play a crucial role in initiating and facilitating the transformation of normal cells into cancer cells through DNA damage, activation of inflammatory pathways, and impaired intestinal epithelial regeneration (Bardelčíková, Šoltys, & Mojžiš, 2023; Lucas, Barnich, & Nguyen, 2017). Early prevention and treatment are crucial to

suppress the progression of this disease, particularly through interventions based on natural ingredients that have a protective effect on colon tissue.

Oxidative stress and chronic inflammation are known to be two key pathogenetic mechanisms in colorectal cancer. The accumulation of reactive oxygen species (ROS) causes lipid peroxidation, genetic mutations, and the activation of pro-inflammatory transcription factors such as NF-κB, which contribute to cancer cell proliferation and invasion. Furthermore, changes in the composition of the gut microbiota exacerbate the inflammatory condition by stimulating the release of pro-inflammatory cytokines and decreasing the activity of endogenous antioxidant enzymes. Therefore, therapeutic strategies that suppress oxidative stress and inflammation while restoring microbiota balance are considered promising in colorectal cancer prevention (Guo et al., 2024).

In this context, the use of natural resources as nutraceutical agents has become a focus of modern research due to their safer, readily available nature and potential dual antioxidant and anti-inflammatory effects. One natural ingredient that is beginning to be widely studied is *Sterculia foetida* seeds, which are known to contain various bioactive compounds such as flavonoids, saponins, and unsaturated fatty acids that can scavenge free radicals and inhibit cancer cell growth (Alam et al., 2021). These compounds can also strengthen the cellular defense system by increasing the activity of antioxidant enzymes such as superoxide dismutase (SOD) and catalase.

Furthermore, virgin coconut oil (VCO) has been shown to contain medium-chain fatty acids (MCFAs) such as lauric and caprylic acids, which function as a rapid energy source while also possessing immunomodulatory and anti-inflammatory effects (Bose et al., 2025). VCO can improve intestinal mucosal integrity and suppress the colonization of pathogenic bacteria by increasing the population of probiotic microbes. These biological activities make VCO an ideal candidate for combination with *Sterculia foetida* seed extract to prevent tissue damage caused by oxidative stress and chronic inflammation in the colon.

Therefore, the combined formulation of *Sterculia foetida* seed extract and

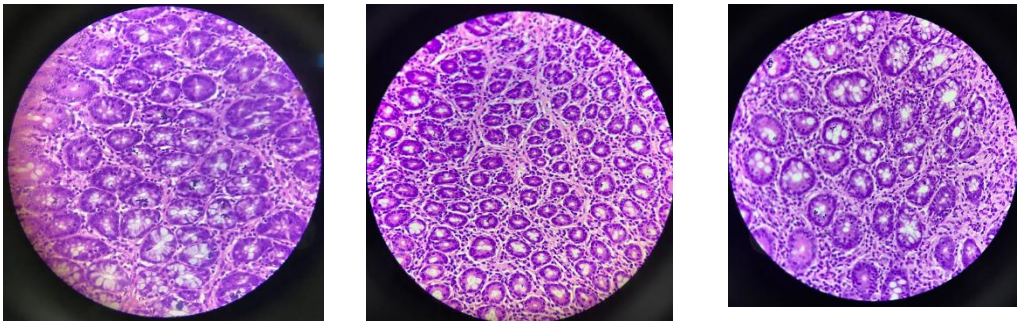
VCO is expected to provide a synergistic protective effect on colon tissue through antioxidant, anti-inflammatory, and microbiota-modulating mechanisms. Studying this combination of these two ingredients is an important step in the development of nutraceutical products with potential use as supportive or preventive therapy for colorectal cancer. This research not only contributes to the understanding of the molecular mechanisms of cancer prevention, but also opens up opportunities for the use of local natural materials as sustainable and human-friendly alternative therapies.

METHODS

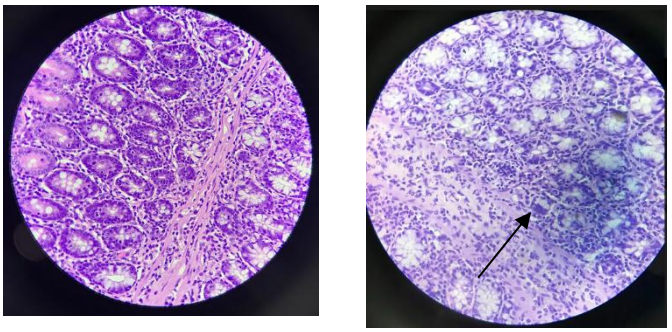
This experimental study used 25 male Wistar rats divided into five groups: three treatment groups (a combination of *Sterculia foetida* seed extract and VCO at concentrations of 5%, 10%, and 15%) and two control groups. *Sterculia foetida* seed extract was obtained through ethanol maceration and combined with VCO. A colorectal cancer model was obtained by intraperitoneal induction with 1,2-dimethylhydrazine (DMH) at a dose of 40 mg/kg body weight for two weeks (Terai et al, 2006). After cancer development, the rats were treated with the combination of *Sterculia foetida* seed extract and VCO according to the group for 4–5 weeks. At the end of the study, colon tissue was isolated, fixed, and histological slides were prepared with Hematoxylin–Eosin (H&E) staining. Histopathological images were observed to assess any structural changes resulting from the treatment. Data were analyzed descriptively to evaluate the nutraceutical effect of the Sterculia foetida seed extract and VCO combination on the histological structure of the colons of colorectal cancer rats.

RESULTS

The results of microscopic observations on tissue preparations are shown in Figure 1 below



Negative control Concentration 5% Concentration 10 %



Concentration 15 % Positive control

Figure 1. Histological image of the rat colon after being given supplementation with Sterculia foetida seed extract and VCO.

DISCUSSION

Histopathological observations showed significant differences between the positive control group (mice induced with DMH without supplementation) and the treatment group receiving a combination of Sterculia foetida seed extract and Virgin Coconut Oil (VCO). In the positive control group, inflammatory cell infiltration, colonic epithelial cell enlargement, and nuclear enlargement were observed. These findings indicate preneoplastic changes, an early stage leading to colorectal cancer development, due to exposure to the carcinogenic compound DMH. This phenomenon aligns with the theory that chronic inflammation plays a central role in colon carcinogenesis through the induction of genetic mutations, increased crypt cell proliferation, and alterations in metabolic and cellular signaling pathways (Adrianto et al., 2024).

DMH induction is known to increase the formation of reactive oxygen species (ROS), which cause oxidative stress and DNA damage in colonic epithelial cells. Consequently, pro-inflammatory transcription factors such as NF-κB and COX-2 are activated, reinforcing the inflammatory environment surrounding the colonic tissue. This condition leads to disruption of cell homeostasis, increased proliferative activity, and reduced apoptosis mechanisms, all of which contribute to the formation and progression of colorectal cancer. Therefore, agents with antioxidant and anti-inflammatory properties are urgently needed to suppress the carcinogenic effects of DMH.

Conversely, observations in the treatment group with a combination of *Sterculia foetida* seed extract and VCO at doses of 5%, 10%, and 15% showed relatively normal colon histological structure. No signs of inflammation, nuclear enlargement, or epithelial disorganization were observed. This indicates that the combination of these two ingredients can provide a protective effect against DMH-induced colon tissue damage. This protective effect is thought to originate from the bioactive compounds in Sterculia foetida seed extract, such as flavonoids, saponins, and sterols, which are known to possess strong antioxidant activity. Flavonoids play a crucial role in neutralizing free radicals and inhibiting the activation of inflammatory pathways, while saponins are known to enhance immune system activity and inhibit cancer cell proliferation (Alam et al., 2021).

Furthermore, VCO contains medium-chain fatty acids (MCFAs) such as lauric acid, caprylic acid, and capric acid, which are easily absorbed and converted into energy without causing fat accumulation. These components also play a role in reducing levels of pro-inflammatory cytokines, such as TNF-α and IL-6, thereby reducing the systemic inflammatory response. The polyphenol content in VCO also plays a role in increasing the activity of endogenous antioxidant enzymes, such as superoxide dismutase (SOD), catalase, and glutathione peroxidase, which function to protect tissues from oxidative stress (Duranova et al., 2025).

The synergistic effect between *Sterculia foetida* seed extract and VCO can be explained by a combination of antioxidant, anti-inflammatory, and microbiota modulation mechanisms. The combination of the two not only suppresses ROS formation but also improves the balance of the gut microbiota, which plays a crucial role in maintaining mucosal integrity and preventing the colonization of pathogenic bacteria. A balanced microbiota helps maintain the production of short-chain fatty acids (SCFAs), such as butyrate, which serve as an energy source for colonocytes and have anticarcinogenic effects.

Overall, the results of this study indicate that the combination of *Sterculia foetida* seed extract and VCO has great potential as a nutraceutical agent capable of protecting colon tissue from the carcinogenic effects of DMH. This protective effect is possible due to a dual mechanism: inhibition of the inflammatory process, reduction of oxidative stress, and maintenance of intestinal microbiota balance. Thus, this combination can play a role not only as a supportive therapy but also as a preventive measure in preventing colorectal cancer. Further research is needed to more deeply assess the biochemical and molecular effects, including their influence on antioxidant gene expression and other molecular markers of carcinogenesis.

CONCLUSIONS

Supplementation of *Sterculia foetida* seed extract with VCO in a rat model of colorectal cancer prevented inflammation and changes in colonic cell morphology seen in the untreated group. These findings demonstrate the potential of this combination as a nutraceutical anti-colorectal cancer agent through colon tissue protection mechanisms

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to express their sincere gratitude to Poltekkes Kemenkes Denpasar for the financial support provided for this research.

CONFLICT OF INTEREST

There is no conflict of interest in this study.

REFERENCE

Alam, F., Najum Us Saqib, Q., Waheed, A., Mahmud, S., Perveen, S., Nisa, Q., et al. (2021). Sterculia foetida seed bioactive compounds, biological activities, and its potential applications: A review. Plants, 10(6), 1135. https://doi.org/10.3390/plants10061135

Adrianto, A. A., Riwanto, I., Sadhana, U., Setyawan, H., Mahati, E., Widyarini, S., et al. (2024). Morphological changes and inflammation preceded the pathogenesis of 1,2-dimethylhydrazine-induced colorectal cancer. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 25(6), 2059–2067. https://doi.org/10.31557/APJCP.2024.25.6.2059

Bardelčíková, A., Šoltys, J., & Mojžiš, J. (2023). Oxidative stress, inflammation and colorectal cancer: An overview. Antioxidants, 12(4), 901. https://doi.org/10.3390/antiox12040901

Bose, D., Olorunlana, A., Abdel-Latif, R., Famurewa, A. C., & Othman, E. M. (2025). Virgin coconut oil and its lauric acid, between anticancer activity and modulation of chemotherapy toxicity: A review. Journal of Xenobiotics, 15(4), 126. https://doi.org/10.3390/jox15040126

Duranova, H., Kuzelova, L., Fialkova, V., Simora, V., Kovacikova, E., Joanidis, P., et al. (2025). Coconut-sourced MCT oil: Its potential health benefits beyond traditional coconut oil. Phytochemistry Reviews, 24, 659–700. https://doi.org/10.1007/s11101-024-09969-1

Guo, H., Yang, C., He, J., Zheng, L., Chen, Q., Hou, Y., et al. (2024). Role of gut microbiota, inflammation and oxidative stress in colorectal cancer development and treatment: Update on microbiota-dependent mechanisms and therapeutic approaches. MedComm, 5(5), e634. https://doi.org/10.1002/mco2.634

Lucas, C., Barnich, N., & Nguyen, H. T. T. (2017). Microbiota, inflammation and colorectal cancer. International Journal of Molecular Sciences, 18(6), 1310. https://doi.org/10.3390/ijms18061310

Terai, K., Sakamoto, K., Goto, M., Matsuda, M., Kasamaki, S., Shinmura, K., et al. (2006). Greater development of 1,2-dimethylhydrazine-induced colon cancer in a rat model of type 2 diabetes mellitus. Journal of International Medical Research, 34(4), 385–389. https://doi.org/10.1177/147323000603400406

PREVALENCE OF PARASITIC WORMS AMONG LIVESTOCK FARMERS AND THE ZOONOTIC POTENTIAL IN FARM ANIMALS

Angga Pratama Putra[1] · Indria Augustina[2] · Arif Rahman Jabal[1*] · Agnes Immanuela Toemon[2] · Arini Ratnasari[1] · Zahra Fa'atin Hasanah[1] · Rufaidah Meylani Putri Ahmad[1]

[1]**Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Kedokteran, Universitas Palangka Raya, Kalimantan Tengah, Indonesia**
[2]**Departement Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Palangka Raya, Kalimantan Tengah, Indonesia**
e-Mail: arifrjabal@med.upr.ac.id
No Tlp WA: 082252301538

Abstract

Parasitic worm infections in livestock pose a potential zoonotic threat to humans and remain a public health concern in farming areas. This study aimed to determine the prevalence of parasitic worms among farmers and assess the zoonotic potential in livestock in Palangka Raya City. A descriptive survey was conducted from July to October 2023. Fecal samples from farmers and livestock (cattle, goats, and pigs) were collected using a simple random sampling method. The flotation and sedimentation methods were used for livestock feces, while the Kato-Katz method was applied to farmer samples. The results showed that out of 10 farmers examined, 6 (60%) were infected with Taenia sp. All cattle (9), 4 goats, and 6 pigs were also found positive for Taenia sp. eggs. Poor stable sanitation, improper waste disposal into rivers, and the absence of personal protective equipment contributed to the high infection rate. It was concluded that Taenia sp. was the dominant parasite species infecting both farmers and livestock in Palangka Raya, indicating a significant zoonotic potential. Improved personal hygiene and livestock sanitation are essential to break the transmission cycle.

***Keywords** : parasitic worms, zoonosis, livestock*

INTRODUCTION

Livestock are part of Indonesia's rich biodiversity and play an important role in supporting the government's efforts to meet the population's demand for animal protein, particularly from cattle, goats, and pigs. Maintaining livestock health is essential, especially in preventing parasitic diseases that infect organs such as the gastrointestinal tract. Goat farmers often sell animals that are infected with parasitic diseases (Awaludin et al., 2018). In Rajabasa Lama Village, East Lampung Regency, showed that the most common parasitic infections in goats were caused by *Entamoeba* sp., *Fasciola* sp., and *Trichuris* sp. In addition to affecting goats, these parasitic infections can also pose health

problems to humans (Nara et al., 2014; Pertiwi et al., 2023).

The local cattle breeds in Central Kalimantan include Katingan cattle, as well as Bali and Madura cattle. Environmental factors, such as livestock being raised near human settlements or not kept in proper enclosures, increase the risk of parasitic infestation in cattle. *Fasciola* sp. was prevalent in cattle from Kotawaringin Barat, Kotawaringin Timur, and Pulang Pisau Regencies, Central Kalimantan (Bhermana et al., 2017).

The high price of pork in Palangka Raya City markets reflects its strong consumer demand. Many people raise pigs as a profitable livestock investment. The common pig species raised include the Kalimantan pig (*Sus barbatus*), Sulawesi pig (*Sus celebensis*), and babirusa (*Babyroussa babirusa*) (Luskin et al., 2021). Pig farms in Palangka Raya are found in five districts, and many are located adjacent to residential areas. Pig pens built on peat swamp areas provide favorable conditions for the breeding of ants, cockroaches, and flies, which can serve as mechanical vectors of parasitic worm infections. During the rainy season, these areas often flood, carrying pig feces into nearby homes. Pig feces may contain parasitic worms capable of infecting farmers (Pali & Hariani, 2019).

Several species of parasitic worms are known to infect humans, including *Ascaris lumbricoides*, *Oxyuris vermicularis*, and *Trichinella spiralis*. Trematode species infecting farmers include *Clonorchis sinensis*, *Opistorchis felineus*, *Paragonimus westermani*, *Fasciola hepatica*, and *Fasciola gigantica* (Cwiklinski et al., 2016). Cestode infections in farmers are commonly caused by *Taenia solium* and *Taenia saginata*. Based on the information above, there is still limited data and research available; therefore, this study was conducted to determine the prevalence of parasitic worms among farmers and the zoonotic potential in livestock in Palangka Raya City.

MATERIALS AND METHODS

This study was a descriptive survey aimed at determining the presence of parasitic worms in farmers and livestock in Palangka Raya City. The research

stages included field sample collection, laboratory examination, and data analysis.

The population in this study consisted of all parasitic worm eggs found in farmers and livestock in Palangka Raya City. The samples were the egg stages of parasitic worms from the classes Nematoda, Trematoda, and Cestoda collected from farmers and livestock. Sampling was carried out using a simple random sampling method by collecting fecal samples from farmers and livestock, including pigs, cattle, and goats. Samples were taken from feces containing the egg stages of parasitic worms found in both farmers and animals within Palangka Raya.

The research was conducted in Palangka Raya, Central Kalimantan, over four months, from July to October 2023. The tools used included fecal containers, tissue rolls, masks, gloves, measuring cups, object glasses, film bottles, beakers, microscopes, drop pipettes, micrometers, scales, stir rods, Whitlock chambers, rubber bottles, cardboard, Whatman filter paper, centrifuges, optilab devices, and mortars. Materials used consisted of 15 grams of livestock fecal samples, farmer fecal samples, methylene blue, 10% formalin, saturated sugar solution, distilled water, alcohol, glycerin, cellophane, and 3% malachite green.

The research employed an observational method involving direct observation of fecal conditions at livestock farms in Palangka Raya, followed by identification of parasitic worms in the feces of pigs, cattle, goats, and farmers. Livestock fecal samples of approximately 15 grams were placed in labeled fecal containers, preserved with 5 drops of 10% formalin, and stored in an ice box. Similarly, farmer fecal samples were collected, labeled, preserved with 5 drops of 10% formalin, and stored in an ice box (Indriyati et al., 2015).

Two examination methods were used for livestock feces: flotation and sedimentation. In the flotation method, 3 grams of fresh feces were ground with 7 mL of water, mixed with 50 mL of saturated sugar solution, and stirred until homogeneous. The worm eggs floated to the surface, and 0.5 mL of suspension was transferred to a Whitlock chamber, allowed to stand for 3–5

minutes, and examined under a microscope (100×10 magnification). Egg counts were conducted in duplicate, and the results were documented and identified.

In the sedimentation method, 3 grams of feces were mixed with 7 mL of water and 60 mL of distilled water, stirred, and allowed to stand for 60 minutes. The mixture was filtered, refilled with 60 mL of water, stirred, allowed to settle for 6 minutes, and filtered again. After discarding the supernatant, about 15 mL of sediment was retained and stained with 1% methylene blue (2 drops). A 0.5 mL sample of the sediment was placed in a Whitlock chamber, observed twice under a microscope, documented, and the number of worm eggs was recorded and identified.

Fecal examination for farmers used the Kato-Katz method. The Kato solution, used to soak or coat cellophane for stool examination, was prepared by mixing 100 parts of distilled water and glycerin with 1 part of 3% malachite green. Three grams of malachite green were dissolved in 100 cc of distilled water to form a 3% solution. Then, 100 cc of distilled water and 100 cc of glycerin were mixed with 1 cc of 3% malachite green solution to create 201 cc of Kato solution. Cellophane sheets were soaked in this solution for 18 hours and cut into 3 cm pieces.

The Kato-Katz method can be used both qualitatively (modified Kato technique) and quantitatively. The qualitative examination determines whether infection is present (positive or negative). A small amount of stool was placed on a glass slide, covered with cellophane soaked in Kato solution, pressed flat with another slide, left for 20–30 minutes, and examined under a microscope at 100× magnification. The quantitative method determines infection intensity. The stool was first filtered through a wire mesh, placed on a cardboard template with seven holes on a glass slide, covered with cellophane soaked in Kato solution, flattened with a rubber stopper, left for 20–30 minutes, and examined under a microscope. The number of worm eggs was counted for each preparation.

Data processing was carried out descriptively. The collected data were analyzed descriptively and presented in tables, frequency distributions,

diagrams, and graphs to facilitate interpretation.

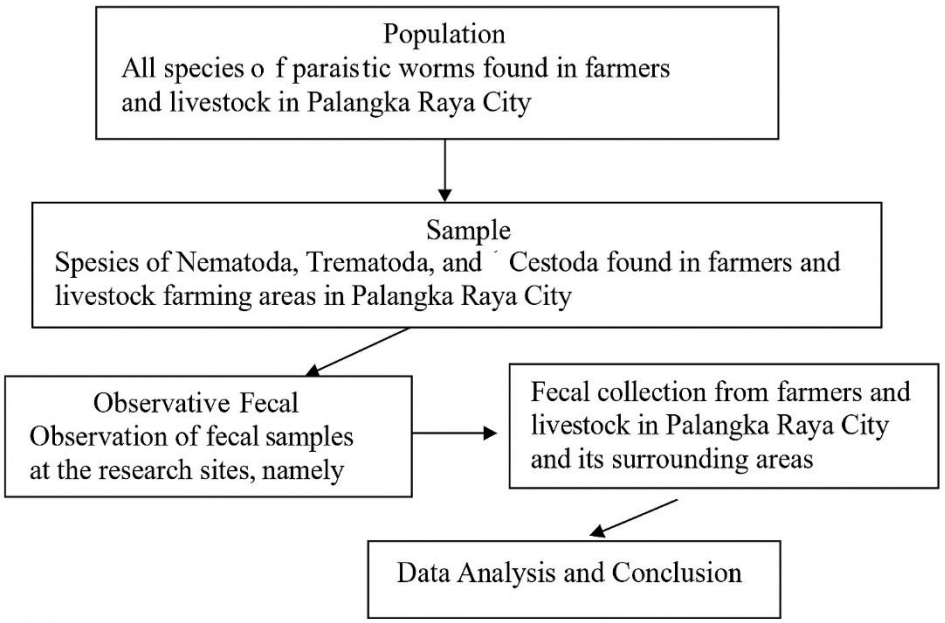


Figure 1. Research Flow

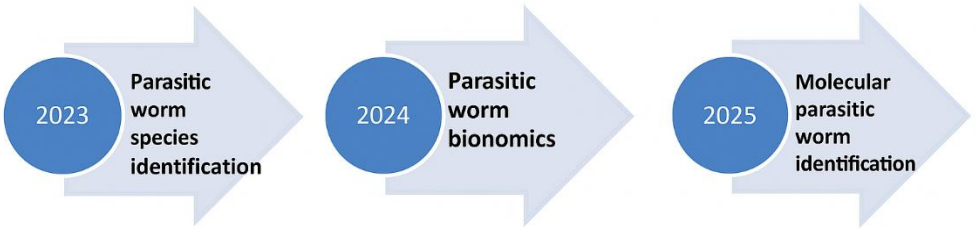


Figure 2. Research Roadmap

RESULT

A total of 10 farmers agreed to have their fecal samples examined, and 6 of them were found to be infected with *Taenia* sp. All nine cattle examined were found positive for *Taenia* sp. Eggs (Li et al., 2019). Four goats and six pigs were also found to be infected with *Taenia* sp.

Table 1. Distribution of parasite eggs in livestock and farmers

Subdistrict	Host	Total (n)	Amount		Worm eggs	Amount
			Positive	Negative		
Sebangau	Cow	1	1	0	*Taenia* sp.	40
	Breeder	1	1	0	*Taenia* sp.	6
Pahandut	Cow	1	1	0	*Taenia* sp.	44

Subdistrict	Host	Total (n)	Amount		Worm eggs	Amount
			Positive	Negative		
	Goat	2	2	0	*Taenia* sp.	18
	Pig	5	5	0	*Taenia* sp.	34
	Breeder	5	5	2	*Taenia* sp.	17
Bukit Batu	Cow	6	6	0	*Taenia* sp.	83
	Goat	1	1	0	*Taenia* sp	12
	Breeder	4	2	0	*Taenia* sp.	6
Jekan Raya	Cow	1	1	0	*Taenia* sp.	45
	Goat	1	1	0	*Taenia* sp.	16
					Enterobius sp.	6
	Pig	1	1	0	*Taenia* sp.	7
Total						334

Table 2. The relationship between helminth infections in farmers and livestock

Species	Breeder	Number of worm eggs	Cattle	Number of worm eggs
Taenia sp	Cattle farmer a	6	Cow	40
Taenia sp	Cattle farmer b	3	Cow	30
Taenia sp	Cattle farmer b	2	Cow	7
Taenia sp	Pig farmer	8	Pig	19
Taenia sp	Pig farmer	6	Pig	5
Taenia sp	Pig farmer	3	Pig	7

Three cattle farmers and their cattle were infected with the same type of worm, *Taenia* sp. Similarly, three pig farmers were infected with *Taenia* sp., the same species found in their pigs. Most respondents did not clean animal waste daily, disposed of livestock feces into rivers or water streams, did not use personal protective equipment when cleaning animal waste, and reported seeing ants and cockroaches moving from livestock waste into their homes.

Table 3. Respondent Characteristics

Respondent Characteristics		Amount
Age		
40-65	5	0
66-85	1	0
Education		
SD	3	0

Respondent Characteristics	Amount	
SMP	1	0
SMA	1	0
Bachelor	1	0
	Yes	No
The cage is adjacent to the house	3	3
Livestock waste is cleaned every day	2	4
Livestock waste is thrown into rivers or streams	2	4
Cleanign livestock manure without wearing personal protection	2	4
Seeing flies from livestock droppings into the house	4	2
Seeing ants from livestock droppings to the house	2	4
Saw cockkroaches from livestock droppings into the house	2	4
Potential for worms from livestock feces to people around the house	5	1
After cleaning livestock feces wash your hands with soap	6	0
Before eating, do you wash your hands with soap	5	1

DISCUSSION

The results of the study showed a relationship between personal hygiene and helminth infections among livestock workers in Sungai Ambawang, Kubu Raya Regency (Agustina et al., 2022). The prevalence of worm infections among individuals with poor personal hygiene was 6.12 times higher than that among those with good personal hygiene. Respondents with poor personal hygiene tended to experience worm infections more frequently, as most infected individuals demonstrated inadequate hygiene practices. Several studies have also emphasized that personal hygiene is a crucial factor influencing the prevalence of helminth infections.

Helminth infections can be influenced by individual hygiene practices, such as hand and nail cleanliness. Most worm infections are transmitted through dirty hands and long or unclean fingernails, where worm eggs often accumulate. These infections are typically spread through contaminated hands, feet, and nails (Damayanti et al., 2025). Poor personal hygiene contributes significantly to the risk of worm infections. It can thus be concluded that respondents with poor hygiene were more likely to experience helminth infections than those with good hygiene.

Complete personal protective equipment (PPE) includes masks, gloves,

long-sleeved shirts, long pants, and boots. Respondents who did not use complete PPE while working were more likely to experience worm infections, as most infected individuals failed to wear full protection (Prayitno et al., 2017). Previous studies have also reported a correlation between incomplete PPE use and worm infection rates. To prevent work-related diseases such as helminthiasis, it is necessary to implement preventive measures, including the consistent use of PPE—such as masks, gloves, long-sleeved shirts, long pants, and boots (Shakir, 2024). PPE helps protect workers from infection; for example, boots prevent worm larvae from penetrating the skin through the feet (Gurmassa et al., 2024). Based on this study, previous research, and supporting theories, it can be concluded that workers who use incomplete PPE are more likely to be infected than those using complete PPE. Therefore, workers are advised to wear full PPE while working, including masks, gloves, long-sleeved clothing, long pants, and boots.

Poor stable sanitation was also associated with a higher likelihood of worm infections, as most infected respondents worked in areas with inadequate stable hygiene (Indriyanti et al., 2024). One of the main causes of helminth infections in livestock is poor stable sanitation since worm infestations are rarely found in clean and well-maintained farms. Maintaining environmental hygiene around the livestock area is the most cost-effective way to prevent disease (Alkadir & Ayana, 2024). Stable sanitation includes cleaning, washing, and disinfecting animal housing and equipment; keeping litter dry, non-clumped, and non-humid; and reducing animal density, which otherwise increases the risk of infestation. When the stable environment is dirty, the concentration of pathogens increases, providing more opportunities for infection. After livestock are sold or slaughtered, remnants such as manure, fur, and dust often accumulate throughout the stable, serving as an ideal medium for disease organisms to survive and multiply. Under such unhygienic conditions, pathogens can persist longer, especially in the presence of organic material like feces that supports their continued survival (Damayanti et al., 2025).

CONCLUSION

The most common type of worm infecting both livestock and farmers was *Taenia* sp. *Taenia* sp. eggs were found in the feces of farmers as well as in the feces of the livestock they raised.

ACKNOWLEDGEMENT

We would like to express our sincere gratitude to Mr. Arif Rahman Jabal, S.Si., M.Si., and the Medical Laboratory Technology Student Association, Faculty of Medicine, University of Palangka Raya, as well as all colleagues who have provided moral and material support to the authors.

CONFLICT OF INTEREST

There is no conflict of interest in this study.

REFERENCE

Agustina, K. K., Wirawan, I. M. A., Sudarmaja, I. M., Subrata, M., & Dharmawan, N. S. (2022). The first report on the prevalence of soil-transmitted helminth infections and associated risk factors among traditional pig farmers in Bali Province, Indonesia. *Veterinary World*, *15*(5), 1154–1162. https://doi.org/10.14202/vetworld.2022.1154-1162

Alkadir, G., & Ayana, D. (2024). Helminth Control Practices in Sheep and Cattle in Urban and Peri-Urban Areas of Adea District, Central Ethiopia. *Veterinary Medicine: Research and Reports*, *Volume 15*, 181–195. https://doi.org/10.2147/vmrr.s450106

Awaludin, A., Nurkholis, & Nusantoro, S. (2018). Identify the diversity of helminth parasites in cattle in Jember district (East Java - Indonesia). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, *207*(1). https://doi.org/10.1088/1755-1315/207/1/012032

Bhermana, A., Haryanto, B., Adrial, A., & Munier, F. F. (2017). Identifikasi Spasial Serangan Parasit Cacing pada Ternak Sapi di Kalimantan Tengah. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan Dan Veteriner 2017*, 173–183. https://doi.org/10.14334/pros.semnas.tpv-2017-p.174-184

Cwiklinski, K., O'Neill, S. M., Donnelly, S., & Dalton, J. P. (2016). A prospective view of animal and human Fasciolosis. *Parasite Immunology*, *38*(9), 558–568. https://doi.org/10.1111/pim.12343

Damayanti, C. S., Artanti, D., Ariana, D., & Samsudin, R. R. (2025). Identification of Soil Egg Transmitted Helminth on The Nails of Cleaning Workers At TPS Wonocolo District Surabaya City. *Mukhtabar : Journal of Medical Laboratory Technology*, *3*(1), 9–14. https://doi.org/10.52221/mjmlt.v3i1.706

Gurmassa, B. K., Gari, S. R., Solomon, E. T., Goodson, M. L., Walsh, C. L., Dessie, B. K., & Alemu, B. M. (2024). Prevalence and risk factors of soil transmitted helminths among vegetable farmers of Akaki river bank, Addis Ababa, Ethiopia. *BMC Infectious Diseases*, *24*(1), 961. https://doi.org/10.1186/s12879-024-09704-3

Indriyanti, M., Sayono, S., Handoyo, W., Kristini, T. D., & Sumanto, D. (2024). Prevention of Ancylostomiasis Transmission in Livestock and Stockmen with Good Hygiene Behavior and Cage Sanitation. *International Journal of Medical Parasitology and Epidemiology Sciences*, *5*(1), 11–15. https://doi.org/10.34172/ijmpes.3161

Indriyati, L., Hairani, B., & Fakhrizal, D. (2015). Loss Of Nutrition and Blood and the Financial Disadvantage Caused by Helminthiasis Among Student of Manurung 1 Elementary School Pagatan. *Jurnal Epidemiologi Dan Penyakit Bersumber Binatang*, *5*(3), 107–114.

Li, T., Chen, X., Wang, H., Openshaw, J. J., Zhong, B., Felt, S. A., Ito, A., & Luby, S. P. (2019). High prevalence of taeniasis and Taenia solium cysticercosis in children in western Sichuan, China. *Acta Tropica*, *199*, 105133. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.105133

Luskin, M. S., Meijaard, E., Surya, S., Sheherazade, Walzer, C., & Linkie, M. (2021). African Swine Fever threatens Southeast Asia's 11 endemic wild pig species. *Conservation Letters*, *14*(3), 1–11. https://doi.org/10.1111/conl.12784

Nara, P., Prasanjaya, K., Suratma, N. A., & Damriyasa, I. M. (2014). Prevalensi Infeksi Entamoeba Spp pada Ternak Babi di Pegunungan Arfak dan Lembah Baliem Provinsi Papua (PREVALENCE OF ENTAMOEBA SPP INFECTIONS IN PIGS IN ARFAK MOUNTAIN'S AND BALIEM VALLEY PAPUA PROVINCE). *Buletin Veteriner Udayana*, *6*(2), 2–7.

Pali, E., & Hariani, N. (2019). Prevalensi Dan Intensitas Telur Cacing Parasit Gastrointestinal Pada Ternak Babi (Sus scrofa domesticus L.). *Jurnal Bioterdidik*, *7*(4), 69–80.

Pertiwi, V. R., Riffiandi, N., & Sofiana, A. (2023). Infeksi Parasit Gastrointestinal pada Kambing (Capra aegagrus hircus) di Desa Rajabasa Lama Kabupaten Lampung Timur. *PETERPAN (Jurnal Peternakan Terapan)*, *5*(1), 10–15. https://doi.org/10.25181/peterpan.v5i1.2829

Prayitno, H., Hanafi, A. S., & Sholihah, Q. (2017). Factors associated with helminthiasis among vegetable in Barito Kuala district. *Asian Journal of Epidemiology*, *10*(3), 108–115. https://doi.org/10.3923/aje.2017.108.115

Shakir, M. J. (2024). Soil-Transmitted Helminths among Farmers and AgriculturalWorkers in Rural Iraq. *International Journal of Medical Science and Dental Health*, *10*(06), 01–17. https://doi.org/10.55640/ijmsdh-10-06-01

ADAPTABILITY OF *Aedes Albopictus* LARVAE IN PEAT WATER IN PALANGKA RAYA CITY

Zahra Sabira[1], Arif Rahman Jabal[2*], Arini Ratnasari[3], Stepany Teguh[4], Khairunnisa[4], Dhany Setya Handary[4]

[1]Medical Education Study Program, Faculty of Medicine, Universitas Palangka Raya, Kota Palangka Raya, Provinsi Kalimantan Tengah, Indonesia
[2*]Medical Laboratory Technology Study Program, Faculty of Medicine, Universitas Palangka Raya, Kota Palangka Raya, Provinsi Kalimantan Tengah, Indonesia
[3]Departemen of Parasitology, Faculty of Medicine, Universitas Palangka Raya, Kota Palangka Raya, Provinsi Kalimantan Tengah, Indonesia
[4]Medical Laboratory Technology Study Program, Faculty of Medicine, Universitas Palangka Raya, Kota Palangka Raya, Provinsi Kalimantan Tengah, Indonesia
e-Mail:arifrjabal@med.upr.ac.id
No Tlp WA : 082252301538

Abstract

Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) is an infectious disease caused by Aedes spp. mosquitoes and is prevalent in tropical and subtropical climates. The transmission of dengue fever is closely associated with people's daily habits, where factors influencing disease emergence are impacted by human behaviors as hosts and Aedes spp mosquitoes as vectors for transmitting dengue fever. The breeding sites of Aedes spp. contribute to the increased mosquito population, further facilitating the transmission of dengue fever to humans. Research on peat water as a habitat for Aedes spp. larvae holds significant importance in controlling dengue vectors, particularly in areas like Palangka Raya City, where water pH tends to be acidic. The adaptability of Aedes spp. larvae to such acidic conditions necessitates further investigation.
Keywords : Adaptability, peat water, Ae. albopictus, Palangka Raya

INTRODUCTION

Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) is an infectious disease caused by *Aedes* spp mosquitoes and is prevalent in tropical and subtropical climates.[1] According to the World Health Organization (WHO) 2022 data, dengue fever is endemic in various parts of the world, including countries in Africa, America, the Eastern Mediterranean, Southeast Asia, and the Western Pacific. Regions such as the Americas, Southeast Asia, and the West Pacific experience high dengue cases, with Asia contributing to 70% of the global disease burden.[2] The Indonesian Ministry of Health for 2022 records 131,265 cases in Indonesia, with Java, Jakarta, Sumatra, and Kalimantan showing the highest dengue incidences.[3] Specifically, the Central Kalimantan Provincial Health Service

reported a total of 878 cases in 2022, with Palangka Raya City accounting for 121 cases.

The degree of water acidity (pH) is a determining factor for the survival and growth of *Aedes* spp larvae, as they cannot survive in pH levels ≤3 or ≥12.[4] According to Augustina et al. (year), larvae of Ae. *albopictus* inhabit various containers such as used tires, plastic drink containers, buckets, boats, and rubber latex containers in the Pahandut District of Palangka Raya City.[5] However, in the research of Jabal et al. (year), no *Aedes* spp larvae were found in peat water, including peat river water, irrigation canals, and ditches. Interestingly, larvae were observed surviving in rainwater puddles mixed with peat soil.

The transmission of dengue fever is closely associated with people's daily habits, where factors influencing disease emergence are impacted by human behaviors as hosts and *Aedes* spp mosquitoes as vectors for transmitting dengue fever. The breeding sites of *Aedes* spp. contribute to the increased mosquito population, further facilitating the transmission of dengue fever to humans. The life cycle of mosquitoes involves a phase in the water environment wherein water temperature significantly influences the progression from eggs to larvae.[6] The optimal temperature for the development of *Aedes* spp larvae ranges from 25°C to 30°C.[7] Additionally, apart from temperature, water salinity can affect the survival of *Aedes* spp larvae, which can grow in water salinity conditions of 2 to 14 ppt.[8]

Research on peat water as a habitat for *Aedes* spp larvae holds significant importance in controlling dengue vectors, particularly in areas like Palangka Raya City, where water pH tends to be acidic. The adaptability of *Aedes* spp larvae to such acidic conditions necessitates further investigation. Therefore, research on the adaptability of Ae. *albopictus* in Palangka Raya City's peat water becomes crucial. This research aims to assess the adaptability of these mosquito species in this specific environment and analyze potential morphological changes in Ae. *albopictus* concerning the varying pH levels of peat water in Palangka Raya

City.

MATERIALS AND METHODS

This research employed a survey method encompassing a cross-sectional study and an experimental laboratory design. Sampling was conducted using a purposive sampling technique. Pahandut District, Palangka Raya City, while Ae. *albopictus* larvae were collected from Tumbang Rungan Village, Pahandut District, Palangka Raya City. Peat water samples were collected from eight different points across Palangka Raya City. The assessment of Ae. *albopictus* larvae adaptability to varying pH levels of peat water was conducted at the Dry Biomedical Laboratory, Faculty of Medicine, Palangka Raya University, from June 2023 to September 2023.

Ae. *albopictus* larvae were sampled from their habitats using a Pasteur pipette. Peat water samples were collected by measuring the water's pH and transferring it into a jerry can with a dipper. Subsequently, the peat water was distributed into 30 ml petri dishes. Each petri dish contained peat water and five larvae of Ae. *Albopictus*, replicated three times. The adaptability and morphological changes of these larvae after exposure to varying pH levels of peat water were observed. The testing results for Ae. *albopictus* larvae were analyzed using probit analysis (LC50) with a 95% confidence interval (CI) in IBM SPSS version 25. The analysis results will be presented in tabular format and subjected to post hoc testing. This research has obtained approval from the Health Research Ethics Committee at the Faculty of Medicine, Palangka Raya University, under No. 34/UN24.9/LL/2023.

RESULT

1. Larvae of Ae. *albopictus*

A sampling of while *Aedes albopictus* larvae were sampled in Tumbang Rungan Village, both located in Palangka Raya City.

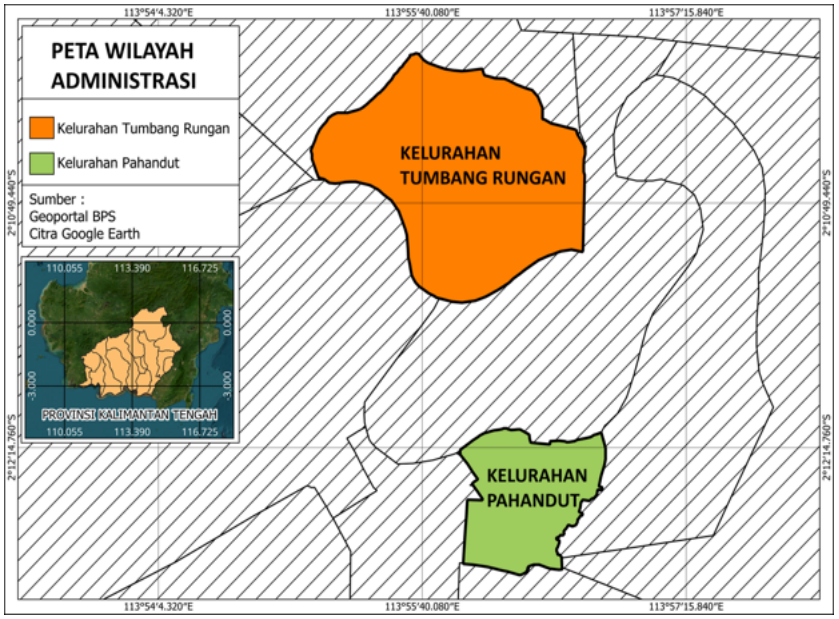


Figure 1. Map of research locations for Ae. *albopictus* larvae.

Meanwhile, in Tumbang Rungan Village, *Ae. albopictus* larvae were found in ten locations inside rubber storage bottles.



Figure 2. Sampling location for Ae. aegypti and Ae. Albopictus larvae.

1. **Peat Water**

Table 1. Peat water sampling locations

Location	Salinity (ppm)	pH	Temperature (ºC)	Coordinate Point
Sebangau 1	28	2,41	29,1	S 02° 18.502’ E 113°54.757’
Sebangau 2	20	2,70	28,9	S 02° 16.336’ E 113°53.642’
Jekan Raya 1	25	2,75	28	S 02° 14.318’ E 113°51.064’
Jekan Raya 2	26	2,71	28,9	S 02° 12.787’ E 113°49.462’
Jekan Raya 3	21	3,29	29	S 02° 15.941’ E 113°53.344’
Pahandut	20	2,88	28,9	S 02° 16.535’ E 113°58.509’
Bukit Batu 1	10	3,51	29,4	S 01° 57.754’ E 113°45.102’
Bukit Batu 2	9	3,85	28	S 02°10.586’ E 113°55.860’

Table 2. Test result for detergent content in peat water samples

Location	pH	COD Test Result
Sebangau 1	2,41	0,090 mg/L
Sebangau 2	2,70	0,150 mg/L
Jekan Raya 1	2,75	0,185 mg/L
Jekan Raya 2	2,71	0,170 mg/L
Jekan Raya 3	3,29	0,345 mg/L
Pahandut	2,88	0,120 mg/L
Bukit Batu 1	3,51	0,150 mg/L
Bukit Batu 2	3,85	0,145 mg/L

Table 5.2 shows that the highest detergent waste contained in peat water samples was in Jekan Raya 3, namely 0.345 mg/L and the one with the lowest detergent content was in Sebangau 1, namely 0.090 mg/L.

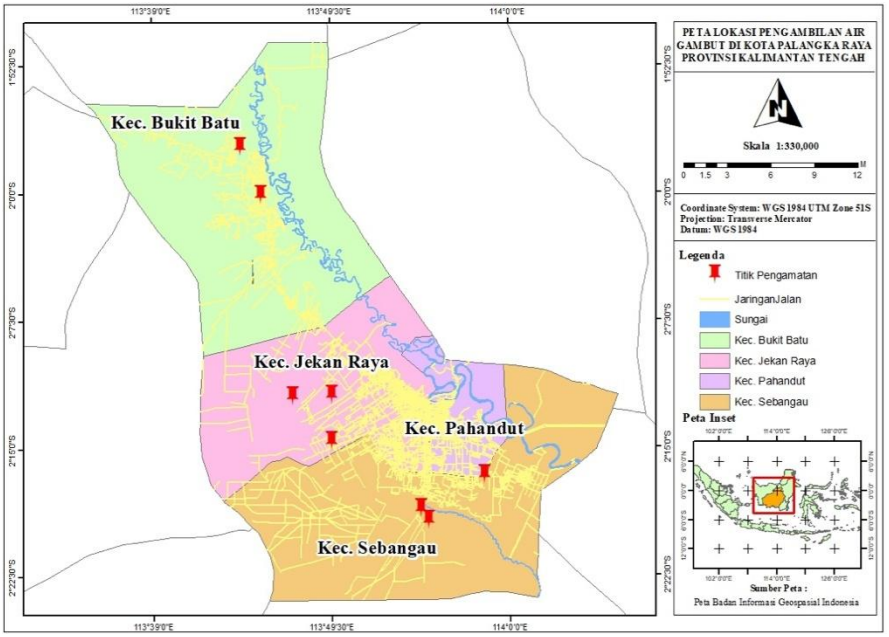


Figure 3. Map of peat water extraction locations.





Figure 4. Location of peat water sampling

2.**Adaptability larvae of Ae. *albopictus* on the pH of peat water.**

The adaptability larvae of Ae. *albopictus* at various pH levels are presented in the following table:

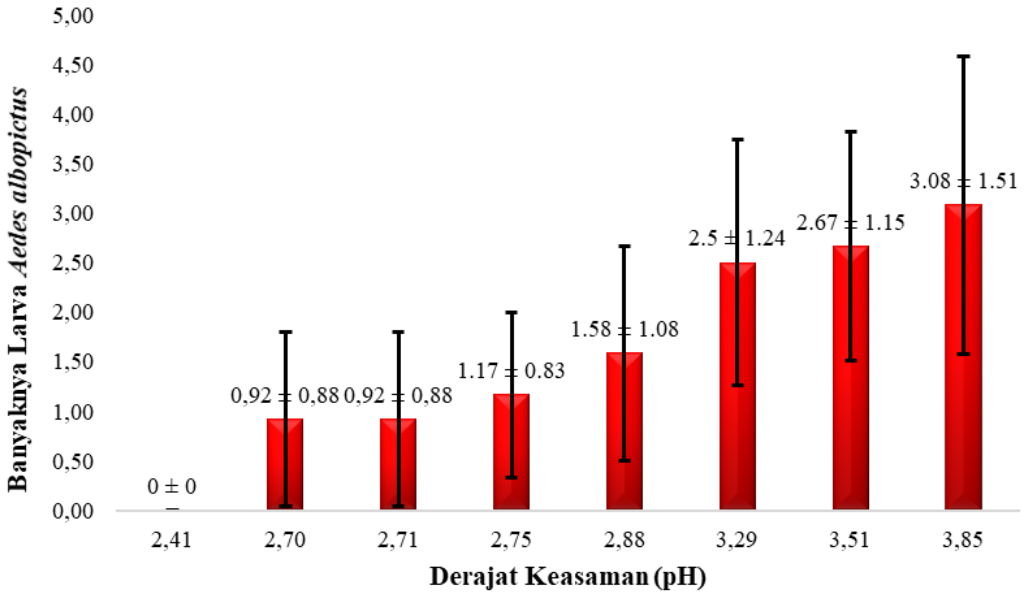
Table 4. Adaptability larvae of Ae. *albopictus* at various pH levels

Daerah	pH	Instar	Survival/Repetision (%)			Rata-Rata (%)
			I	II	III	
Sebangau 1	2,41	I	0	0	0	0
		II	0	0	0	0
		III	0	0	0	0
		IV	0	0	0	0
Sebangau 2	2,70	I	0	0	0	0
		II	1	0	0	6,67
		III	2	1	2	33,33
		IV	3	1	2	40,0
Jekan Raya 2	2,71	I	0	0	0	0
		II	1	0	1	13,33
		III	2	2	1	33,33
		IV	2	3	1	40,0
Jekan Raya 1	2,75	I	1	0	0	6,67
		II	1	2	0	20,0
		III	2	2	1	33,33
		IV	2	1	2	33,33
Pahandut	2,88	I	2	0	0	13,33
		II	1	2	1	26,67
		III	2	3	1	40,0
		IV	3	3	1	46,67
Jekan Raya 3	3,29	I	2	1	1	26,67
		II	3	1	2	40,0
		III	3	4	2	60,0
		IV	5	3	3	73,33
Bukit Batu 1	3,51	I	2	1	2	33,33
		II	2	2	2	40,0
		III	4	2	3	60,0
		IV	4	5	3	80,0
Bukit Batu 2	3,85	I	1	2	2	33,33
		II	3	1	2	40,0
		III	4	4	3	73,33
		IV	5	5	5	100

The adaptability of Ae. *albopictus* larvae to varying pH levels in peat water are depicted in Table 4. The larvae of Ae. *albopictus* exhibited different

adaptability at each pH level. Fourth instar larvae demonstrated the ability to survive and develop into adults, totaling 47 larvae. However, out of 108 larvae in the first instar, some Ae. *albopistus* larvae were unable to survive.

Out of a total of 480 Ae. *albopictus* larvae across instars I to IV, 141 larvae successfully adapted, while 339 larvae were unable to adapt.

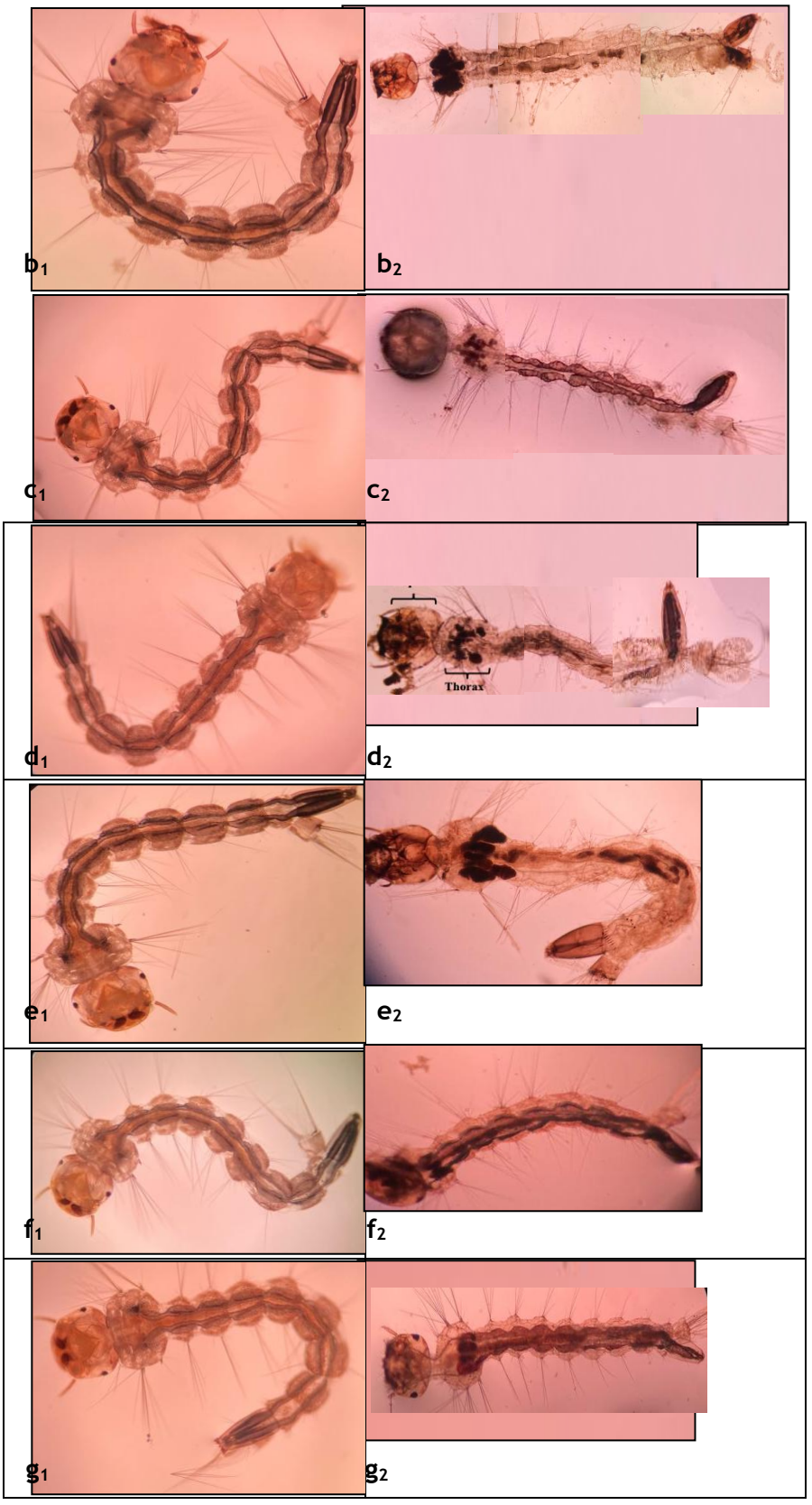


Graph 2. Number of Ae. *albopictus* larvae, which is able to adapt to peat water in. Palangka Raya City based on pH

Graph 2 illustrates that Ae. *albopictus* larvae displayed the least adaptability to peat water at pH 2.70 and 2.71. Conversely, at pH 3.85, Ae. *albopicus* larvae exhibited the highest adaptability to peat water. Notably, no Ae. *albopictus* larvae capable of adapting to peat water were found at pH 2.41.

1. *Morphological description of* Ae. *albopictus larvae*




b1
b2
c1
c2
Thorax
d1
d2
e1
e2
f1
f2
g1
g2

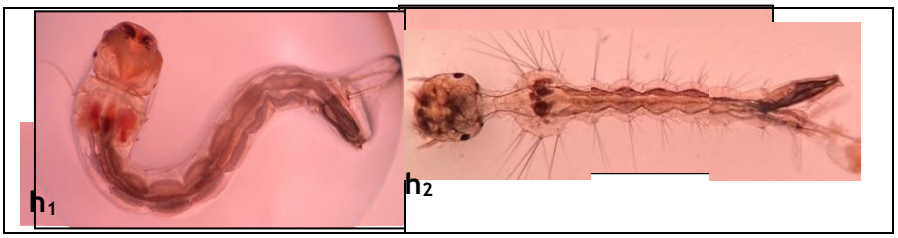


Figure 6. Morphology of Ae. *albopictus* larvae: before treatment (left), after treatment (right).

pH 2.41 (a1-a2), pH 2.70 (b1-b2), pH 2.71 (c1-c2), pH 2.75 (d1-d2), pH 2.88 (e1-e2), pH 3.29 (f1-f2), pH 3.51 (g1-g2), pH 3.85 (h1-h2)

Table 4. Result of the LC_{50} tolerance test of *Ae. albopictus* larvae to various pH

Stages of *Ae. albopictus* larvae	LC_{50} (pH)	95% Confidence Interval (pH)	
		Minimum	Maximum
I	3.950	3.653	4.711
II	3.831	3.481	4.978
III	3.205	3.009	3.484
IV	2.954	2.828	3.087

Tabel 4 show the LC50 value of Ae. *albopictus* larvae namely instar I (pH 3.950) with CImin = 3.653 and CImax = 4.711, instar II (pH 3.831) with CImin = 3.481 and CImax = 4.978, instar III (pH 3.205) with CImin = 3.009 and CImax = 3.484, instar IV (pH 2.954) with CImin = 2.828 and CImax = 3.087.

Table 8. Posthoc Games Howel test on Ae. *albopictus* larvae

pH		Sig.	information
2.41	2.70	0.044	meaningful differences
	2.71	0.044	meaningful differences
	2.75	0.008	meaningful differences
	2.88	0.006	meaningful differences
	3.39	0.000	meaningful differences
	3.51	0.000	meaningful differences
	3.85	0.000	meaningful differences
2.70	2.71	1.000	The difference is meaningless
	2.75	1.000	The difference is meaningless
	2.88	0.930	The difference is meaningless
	3.39	0.087	The difference is meaningless
	3.51	0.029	meaningful differences
	3.85	0.020	meaningful differences
2.71	2.75	1.000	The difference is meaningless
	2.88	0.930	The difference is meaningless
	3.39	0.087	The difference is meaningless
	3.51	0.029	meaningful differences
	3.85	0.020	meaningful differences
2.75	2.88	0.959	The difference is meaningless
	3.39	0.090	The difference is meaningless
	3.51	0.028	meaningful differences
	3.85	0.022	meaningful differences
2.88	3.39	0.054	The difference is meaningless
	3.51	0.303	The difference is meaningless
	3.85	0.150	The difference is meaningless
3.29	3.51	1.000	The difference is meaningless
	3.85	0.963	The difference is meaningless
3.51	3.85	0.993	The difference is meaningless

Table 8 demonstrates that nearly all pH levels of peat water exhibit a significant difference indicated by a Sig value (P Value) < 0.05. This variance suggests that each pH level exerts a distinct influence: the higher the pH of the peat water, the greater the mortality rate of Ae. *albopictus* larvae. Conversely, a pH with a Sig value (P Value) > 0.05 indicates a similar influence on the mortality rate of Ae. *albopictus* larvae.

DISCUSSION

According to the research findings, it is evident that Ae. *albopictus* larvae, spanning from instar I to instar IV, cannot survive at a pH of 2.41, sourced from the Sebangau River in Sebangau District. As noted by Anggraini and Cahyati[4], the lowest larval development percentage occurs at pH levels below 3. The pH of peat water significantly impacts the life cycle and reproduction of both Ae. *albopictus* larvae. Organic substances within peat water, like humic acid, fulvic acid, and humin, are identified as agents capable of larval termination.[9] This low pH in peat water arises due to the presence of clay soil containing sulfides, which undergo oxidation into fulvic acid.[10] Based on COD test results

conducted on peat water samples, a detergent waste content of 0.090 mg/l was detected. Sudarmaja and Swastika reported that a detergent solution concentration ranging between 0.12 and 0.24 g/l can cause a mortality rate of larva between 37.2% and 85.6%. Elevated detergent content tends to escalate larval mortality rates.[11]

The larvae of Ae. *albopictus* exhibit adaptability, surviving into adulthood at a pH of 3.85, sourced from the river on Jl. Pertiwi, Banturung Village, Bukit Batu District. According to Farhana, both Ae. *albopictus* larvae can endure pH levels ranging from 4 to pH 9.3. Their survival at low pH levels is attributed to their tolerance of fulvic acid present in peat water.[12] After conducting COD tests on peat water samples, a detergent waste content of 0.145 mg/l was detected. Besides being affected by pH and detergent content, the adaptability of Ae. *albopictus* is also influenced by water temperature. The optimal water temperature for the survival of Ae. *albopictus* larvae range between 25°C and 30°C. Elevated water temperatures can negatively impact larval survival rates.[13]

The first instar larvae of Ae. *albopictus* cannot survive in peat water. Only 16 larvae of instar I (13.33%) and 12 larvae of Ae. *albopictus* instar I (2.5%) were able to survive. The first instar larvae face difficulties in adapting due to their vulnerability to environmental changes at this stage. They possess small body sizes, making them susceptible to predators, and rely on stable environmental conditions for survival. Additionally, being in the early stages of development, first-instar larvae have limited adaptive capabilities to cope with significant environmental variations.[14]

The fourth instar larvae of Ae. *Albopictus* exhibits a higher survival rate in peat water. instar IV larvae were able to survive, numbering 63 larvae (52.5%), while Ae. *albopictus* instar IV larvae survived in a count of 47 (39.16%). The fourth instar larvae are more adaptable due to their larger size (5 - 7 mm), have a developed siphon, and have approached the pupal stage.[4] Additionally, these larvae can actively seek out food sources and have a functional siphon

that serves as a respiratory organ, enabling them to breathe at the water's surface.[15]

Ae. *albopictus* larvae in instars I, II, III, and IV were unable to survive within 48 hours at pH 2.41, experiencing damage to various abdominal segments (segment V of the malpighian tubule, segment VI of the pylorus, segment VII of the ileum, segment VIII of the rectum, and segment X anal segment), anal papilla, ventral brush, and siphon. At faster larval developmental rates, instars I, II, and III of Ae. *albopictus* faced mortality at pH 2.70, 2.71, 2.75, and 2.88, coupled with segmental damage, rendering them brittle, easily damaged, and separated. However, instar IV Ae. *albopictus* larvae exhibited an active movement life cycle, yet not all could compete for development into adult mosquitoes. For instars I, II, and III of Ae. *albopictus*, slow development led to mortality at pH 3.29 and 3.51, with consequent damage to the abdominal segments. In contrast, Ae. *albopictus* instar IV larvae displayed a typical life cycle, movement, and the ability to develop into adult mosquitoes.

CONCLUSION

In conclusion, it is evident that the larvae of Ae. *Albopictus* demonstrates adaptability and successful development into adults at a pH of 3.85. Conversely, these larvae experience quicker mortality and significant morphological changes, such as segmental damage, brittleness, and detachment, at a pH of 2.41.

ACKNOWLEDGEMENT

The author would like to thank all parties who have supported this research so that it could be completed.

CONFLICT OF INTEREST

There are no conflicts of interest in this research.

REFERENCE

Santos, H. O., Earnest, C. P., Tinsley, G. M., Izidoro, L. F., & Macedo, R. C. (2020). Small dense low-density lipoprotein-cholesterol (sdLDL-C): Analysis, effects on cardiovascular endpoints and dietary strategies. *Progress in Cardiovascular Diseases*.

A. Candra, "Nutritional Intake and Dengue Fever Disease/Dengue Hemorrhagic Fever (DHF)," J. Nutr. Heal., vol. 7, no. 2, pp. 23–31, 2019.

WHO, "World Demam Berdarah Dengue (DBD) Report 2022. World Demam Berdarah Dengue (DBD) report Geneva : World Health Organization.," 2022.

Kemenkes RI, "Profil Kesehatan Indonesia 2022.," Jakarta. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 2022.

T. Septa Anggraini, W. Hary Cahyati. Epidemiology and Biostatistics, J. Public Health Sciences, F. Sports Sciences, U. Negeri Semarang, and A. Correspondence, "Development of Aedes aegypti in Various pH and Water Salinity," Higeia J. Public Heal. Res. Dev., vol. 1, no. 3, pp. 1–10, 2017, [Online]. Available: http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/higeia

I. Augustina, A. R. Jabal, G. I. Permana, and A. Ratnasari, "Distribution and ecology of mosquito larvae in Pahandut subdistrict, Palangkaraya city," J. Phys. Conf. Ser., vol. 1918, no. 5, 2021, doi: 10.1088/1742-6596/1918/5/052018.

Yahya, Ritawati, and D. P. Rahmiati, "The Influence of Room Temperature, Humadity, pH Levels and Water Temperature on the Number of Pupae of Aedes aegypti Liverpool (LVP) Strain," Spirakel, vol. 11, no. 1, pp. 16–28, 2019, [Online]. Available: https://ejournal2.litbang.kemkes.go.id/index.php/spirakel/article/view/1366

M. Utomo, S. Amaliah, and F. A. Suryati, "The killing power of papaya seed powder vegetable ingredients against the death of Aedes aegypti larvae from B2P2VRP laboratory isolates in Salatiga," Pros. Semin. Nas. Unimus, pp. 152–158, 2010.

R. Ramasamy, P. J. Jude, T. Veluppillai, T. Eswaramohan, and S. N. Surendran, "Biological differences between brackish and fresh water-derived Aedes aegypti from two locations in the Jaffna peninsula of Sri Lanka and the implications for arboviral disease transmission," PLoS One, vol. 9, no. 8, pp. 1–10, 2014, doi: 10.1371/journal.pone.0104977.

K. Kiswanto, W. Wintah, N. laila Rahayu, and E. Sulistiyowati, “Processing Peat Water Into Accurately Clean Water Continuous In Peunaga Cut Ujong Village,” J. Litbang Kota Pekalongan, vol. 17, no. 416, pp. 6–15, 2019, doi: 10.54911/litbang.v17i0.102.

N. I. Said and W. Widayat, “Teknologi Pengolahan Air Gambut Sederhana,” Buku Teknol. Pengolah. Air Minum "Teori dan Pengalaman Prakt., pp. 337–386, 2008.

I. M. Sudarmaja and I. K. Swastika, “Effectiveness of Different Detergent Solutions As Larviside for Aedesaegypti Larvae,” Bali Med. J., vol. 4, no. 1, p. 41, 2015, doi: 10.15562/bmj.v4i1.111.

M. Farhana, “Overview of pH, Water Temperature, Water Salinity, and Breeding Place of Larvae Aedes sp. in Kadipiro Area Surakarta city,” J. Kesehat. Masy. (Kota Surakarta), p. 6, 2020, [Online]. Available: http://eprints.ums.ac.id/id/eprint/81381

A. H. Azil, “Monitoring Aedes Population using Ovitrap Index and Larval Abundance in an Urban University Residence,” Med. Health, vol. 15, no. 2, pp. 224–235, 2020, doi: 10.17576/mh.2020.1502.20.

O. Romoli, J. C. Schönbeck, S. Hapfelmeier, and M. Gendrin, “Production of germ-free mosquitoes via transient colonisation allows stage-specific investigation of host–microbiota interactions,” Nat. Commun., vol. 12, no. 1, pp. 1–16, 2021, doi: 10.1038/s41467-021-21195-3.

S. Li, D. Gouge, A. Fournier, S. Nair, P. Baker, and C. Olson, “Mosquitoes,” Univ. Arizona Coop. Ext., 2021.

R. Ramasamy, S. N. Surendran, P. J. Jude, S. Dharshini, and M. Vinobaba, “Larval Development of Aedes aegypti and Aedes albopictus in Peri-Urban Brackish Water and Its Implications for Transmission of Arboviral Diseases,” PLoS Negl. Trop. Dis., vol. 5, no. 11, p. e1369, Nov. 2022, doi: 10.1371/journal.pntd.0001369.

Kiswari, R. (2014). Hematologi dan Transfusi. *Jakarta: Erlangga*.

Armstrong, D. (2019). Malory and character. In M. G. Leitch & C. J. Rushton (Eds.), *A new companion to Malory* (pp. 144-163). D. S. Brewer.

Fachniar, G., Koentjoro, M. P., Isdiantoni, Ekawati, I., & Prasetyo, E. N. (2020, April). Effect of laccase oxidation on phenol content and antioxidant capacity of roasted coffee. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 2215, No. 1, p. 070003). AIP Publishing LLC.

ENHANCEMENT OF NS1 ANTIBODY RECOGNITION BY A β-Roll PEPTIDE STABILIZED WITH ECTOINE: IMPLICATIONS FOR DENGUE DIAGNOSTIC DEVELOPMENT

Asep Iin Nur Indra [1,2,*] · Reza Aditama [2] · Ihsanawati [2] · Rukman Hertadi[2]

[1]**Medical Laboratory Technologist, Politeknik Kesehatan Kemenkes Bandung, Cimahi, West Java, Indonesia**
[2] **Biochemistry and Biomolecular Engineering Research Division, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Institut Teknologi Bandung, Bandung, Indonesia**

[*]E-Mail: asepiin.tlm@staff.poltekkesbandung.ac.id
HP : 082119168613

Abstract

Dengue remains a major global health concern, and the development of accurate, affordable, and early diagnostic methods continues to be an urgent research priority. This study aimed to evaluate the antigenic properties of a peptide derived from the β-roll region of the dengue virus NS1 protein and to analyze its interaction with the anti-NS1 antibody. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) results showed a significant, dose-dependent increase in OD_{450} values, indicating strong antigen-antibody recognition. The addition of ectoine enhanced this interaction, suggesting a synergistic role in maintaining the peptide's structural stability and epitope presentation. Molecular dynamics (MD) simulations using AMBER 22 further revealed that the peptide binds stably within the Fab pocket of the anti-NS1 antibody (PDB ID: 7BSC), supported by persistent hydrogen bonding and minimal RMSD fluctuations over 500 ns. These computational findings align with the experimental ELISA data, confirming the peptide antigenicity. Overall, the results demonstrate that the peptide possesses dual functionality as an NS1 inhibitor and as an antigenic epitope highlighting its potential application in developing peptide-based diagnostic assays for dengue virus detection.

***Keywords : β-roll** peptide, Dengue, NS1 protein, ELISA*

INTRODUCTION

Dengue virus (DENV) continues to pose a severe threat to public health, particularly in tropical and subtropical regions. With nearly 390 million infections annually and recurrent outbreaks in Asia, Latin America, and Africa, the burden of dengue is expected to rise further under conditions of rapid urbanization and climate change (WHO, 2022). Despite ongoing efforts, current vaccine options, such as Dengvaxia and other candidates under clinical evaluation, face limitations including partial efficacy across serotypes, restricted age recommendations, and

unresolved safety concerns. These issues underscore the urgent need for alternative strategies that move beyond conventional envelope protein-based vaccine designs (de Almeida et al., 2025).

One of the most promising approaches is to target the non-structural protein 1 (NS1), a multifunctional and conserved viral protein that plays a crucial role in viral replication, immune evasion, and pathogenesis. Unlike envelope proteins that differ significantly across serotypes, NS1 is highly conserved, making it an attractive universal target. The ß-roll domain of NS1 is indispensable for dimerization and hexamer formation, structural states that are essential for NS1 biological function. By focusing on this domain, our research aims to pioneer a new strategy for dengue vaccine development that combines structural precision with enhanced safety (Akey et al., 2014; Alvin Chew et al., 2024; Fisher et al., 2023; Glasner et al., 2018).

Our previous findings, published in the *International Journal of Biological Macromolecules*, demonstrated that a synthetic ß-roll-derived peptide can bind strongly to NS1, disrupt dimerization, destabilize its secondary structure, and impair antibody recognition. Moreover, the inclusion of ectoine, a natural osmolyte, improved peptide stability and binding affinity, offering additional support for peptide-based interventions (Graf et al., 2008; Harishchandra et al., 2010; Wittmar, Meyer, et al., 2021; Wittmar, Ohle, et al., 2021). Building on this foundation, the proposed research will evaluate the ß-roll peptide not only as an inhibitor but also as a candidate vaccine antigen. Comprehensive ELISA and computational studies will assess immunogenicity, while ectoine modulatory role will be clarified to optimize formulation strategies (Akey et al., 2014; Neupane et al., 2021; Nur Indra et al., 2025; Zerfu et al., 2023).

This research contributes to advancing national biomedical capabilities by establishing a foundation for peptide-based therapeutic and diagnostic innovation. The findings demonstrate a novel mechanism in which a designed peptide disrupts the ß-roll structure of the dengue virus NS1 protein, altering its antigenic recognition. This discovery introduces a new concept of competitive peptide design targeting homodimeric interfaces, representing a previously

unexplored strategy for NS1 inhibition.

The study provides a transferable framework for peptide engineering, integrating rational design, structural analysis, and computational modeling to generate peptides capable of modulating protein–protein interactions. Beyond its relevance to dengue virus, this approach can be adapted to other viral or pathogenic proteins with conserved structural motifs, expanding its applicability across infectious disease research. Importantly, the discovery of this peptide structural and antigenic effects positions it as a novel antigen candidate and a potential biomarker for antibody detection. The interaction profile and stability in the presence of ectoine suggest strong potential for incorporation into lateral flow immunoassay (LFIA) platforms for detecting anti-NS1 IgG/IgM antibodies in dengue diagnostics. (Cavaco et al., 2024; Harishchandra et al., 2010; Kubo et al., 2020).

The expected outcomes focus on developing a peptide-based marker for LFIA to enhance early and accurate dengue detection. Technologically, the project advances peptide stabilization and antigen design for improved diagnostic sensitivity and specificity. Economically, it supports affordable rapid testing to reduce healthcare costs from dengue outbreaks. Socially, it strengthens public health surveillance and early intervention efforts, contributing to national preparedness and independence in diagnostic technology (Martinelli, 2022; Rahman et al., 2024; Saha et al., 2022; Sanami et al., 2023; Sohrabi et al., 2022; Wang et al., 2025).

This research is both scientifically innovative and strategically necessary. It focuses on developing a peptide-based marker for LFIA to improve early and accurate dengue detection while strengthening Indonesia independence in producing its own rapid test kits. By advancing peptide stabilization and antigen design, the project enhances diagnostic performance and supports the nation self-reliance in biopharmaceutical technology. This effort not only reduces dependency on imported diagnostics but also reinforces national competitiveness in the global health innovation landscape.

MATERIAL AND METHODS

This study utilized a synthetic ß-roll peptide designed based on the NS1 protein sequence of the dengue virus. All reagents used were of analytical grade. The peptide was dissolved and prepared in two different buffer conditions: Phosphate-buffered saline (PBS), pH 7.4, PBS containing ectoine as a co-solvent. These buffer systems were selected to evaluate the influence of solvent composition on peptide–antibody interaction behavior. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) was performed using the Human Dengue Virus NS1 Antigen (NS1) DENV2 ELISA Kit (MyBioSource, USA; Catalog No: MBS3801930). Meanwhile, for computational analysis, we used AlphaFold3, VMD, and Amber22 software for molecular docking, simulation, and protein visualization.

Analysis of Peptide–Antibody Interaction via ELISA

The main objective of this analysis was to determine whether the ß-roll peptide interacts with the anti-NS1 antibody immobilized in the ELISA wells. The assay was performed under two solvent conditions: PBS alone and PBS containing ectoine. Each well coated with the anti-NS1 antibody was incubated with the peptide solutions at varying concentrations. Following incubation and washing steps, the presence of bound peptide was detected using an appropriate secondary antibody conjugated with horseradish peroxidase (HRP). The absorbance was measured at 450 nm using a microplate reader. Differences in absorbance between the two buffer systems were used to evaluate how ectoine as a co-solvent might modulate the binding affinity or conformational stability of the peptide–antibody complex(Nur Indra et al., 2025).

Computational Analysis

Molecular dynamics (MD) simulations were conducted to refine the docking conformation of the NS1–peptide complex and evaluate its structural stability. The simulations were performed using **AMBER22** with the **FF19SB** force field. The system was solvated with **TIP3P water molecules** and neutralized with

counterions. Energy minimization was carried out in two stages to remove steric clashes, followed by equilibration under **NVT** and **NPT** conditions, where the temperature was gradually increased to 300 K and pressure stabilized at 1 bar. The production phase was run for **500 ns** using a 2 fs timestep, **Leap-Frog integration**, and **SHAKE constraints** under **periodic boundary conditions** with **Particle Mesh Ewald (PME)** for electrostatics. Post-simulation analyses using **CPPTRAJ** and **VMD.**

RESULTS

The results of this study demonstrated a significant increase in the OD_{450} values obtained from the ELISA assay (Figure 1), which correlated positively with the increasing concentration of the peptide added. This trend indicates that the peptide interacts specifically with the antibodies coated in the wells, suggesting the presence of antigenic epitopes recognizable by the immune system. The gradual rise in absorbance values across different peptide concentrations reflects the formation of stable antigen–antibody complexes, confirming that the peptide possesses measurable antigenicity (Alvin Chew et al., 2024).

This finding implies that the peptide sequence mimics or shares structural similarity with native epitopes of the NS1 protein, allowing antibody recognition and binding. Such interaction was consistently observed in repeated trials, reinforcing the reproducibility and reliability of the results. Furthermore, the proportional increase in OD_{450} intensity supports the hypothesis that the binding occurs in a dose-dependent manner, characteristic of genuine antigen–antibody interactions.

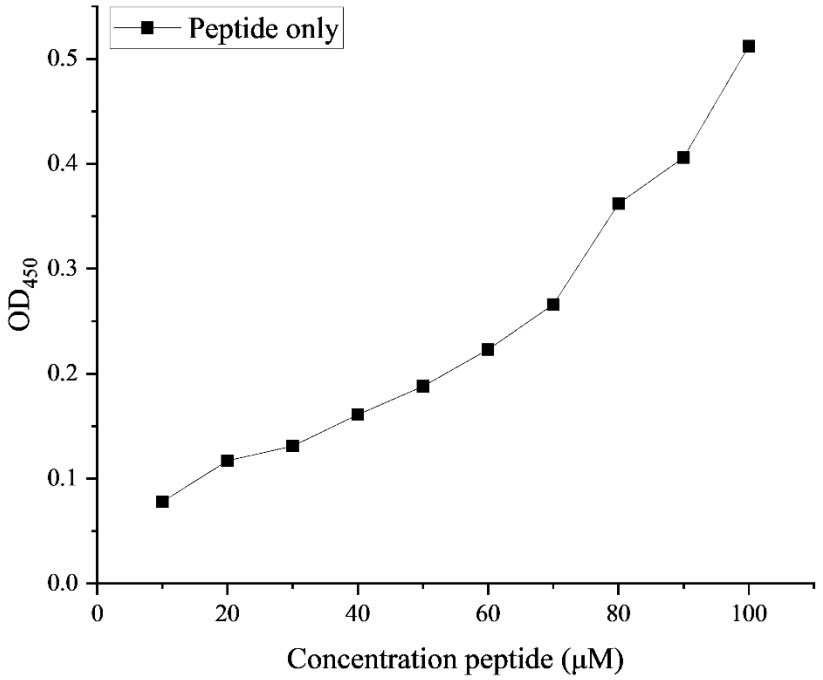


Figure 1. OD450 of Peptide againts NS1-antibody in ELISA assay

Overall, these ELISA findings provide strong experimental evidence that the peptide exhibits antigenic properties capable of inducing or being recognized by specific antibodies. This highlights its potential as a candidate for further immunological studies or as a synthetic antigen component for diagnostic assay development targeting anti-NS1 antibody detection.

The results revealed that the presence of ectoine enhanced the antibody recognition of the peptide in the ELISA assay, as indicated by a notable increase in OD_{450} values compared to assays without ectoine. This finding suggests that ectoine acts as a synergistic co-solvent, stabilizing the peptide conformation in a manner that promotes stronger interaction with anti-NS1 antibodies. The enhancement in antibody binding implies that ectoine preserves or even improves the structural presentation of the epitope, allowing more effective recognition within the immunoassay system(Rahman et al., 2024).

Interestingly, these results correlate with our previously published study

in the *International Journal of Biological Macromolecules*, where the same peptide was reported to inhibit the NS1 protein dimerization process of the dengue virus. Together, the findings demonstrate that this peptide exhibits a dual functional role: first, as an inhibitor that disrupts NS1 protein-protein interactions, and second, as an antigenic fragment that can be recognized by anti-NS1 antibodies due to its structural homology with the native NS1 β-roll domain.

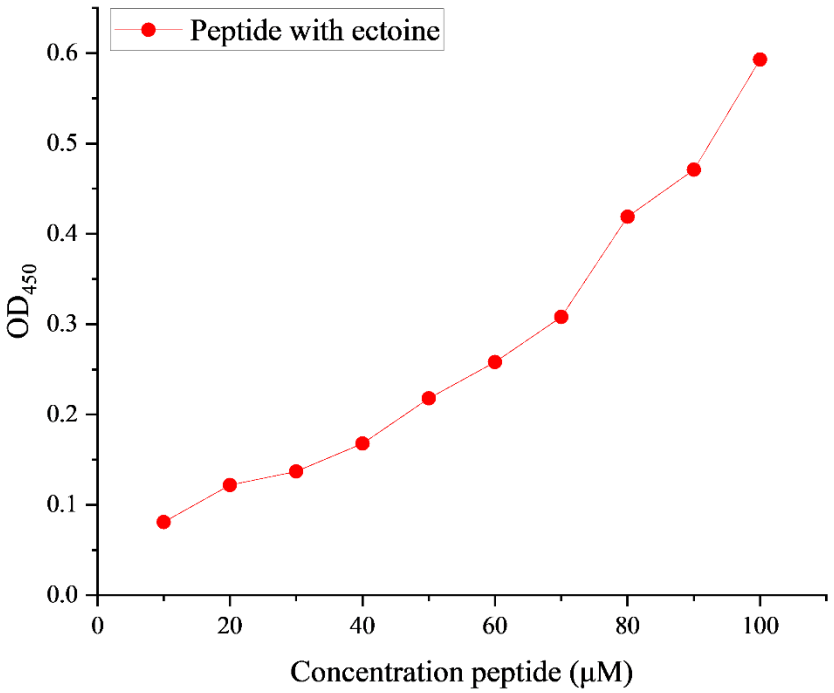


Figure 2. OD450 of Peptide contains ectoine as co-solvent againts NS1-antibody in ELISA assay

This dualism represents a significant discovery, suggesting that the peptide not only contributes to understanding NS1 biology but also holds promise for translational applications. Its antigenic recognition, enhanced by ectoine, makes it a strong candidate for diagnostic assay development, particularly in designing peptide-based kits for detecting anti-NS1 IgM and IgG antibodies in dengue infection. This synergy between structure stabilization and immunoreactivity underscores ectoine potential in improving diagnostic

reliability (Banerjee et al., 2020).

The molecular dynamics (MD) simulation results of the peptide in complex with the anti-NS1 antibody (PDB ID: 7BSC) revealed a stable interaction throughout the 500 ns simulation. As illustrated in Figure 3, the peptide—represented in red—was clearly observed binding within the antigen-binding pocket (Fab region) of the antibody, which is colored white surf. This spatial orientation indicates that the peptide occupies a complementary site at the Fab groove, forming stable hydrogen bonds and hydrophobic contacts that persist during the trajectory, suggesting a strong affinity between the two molecules.

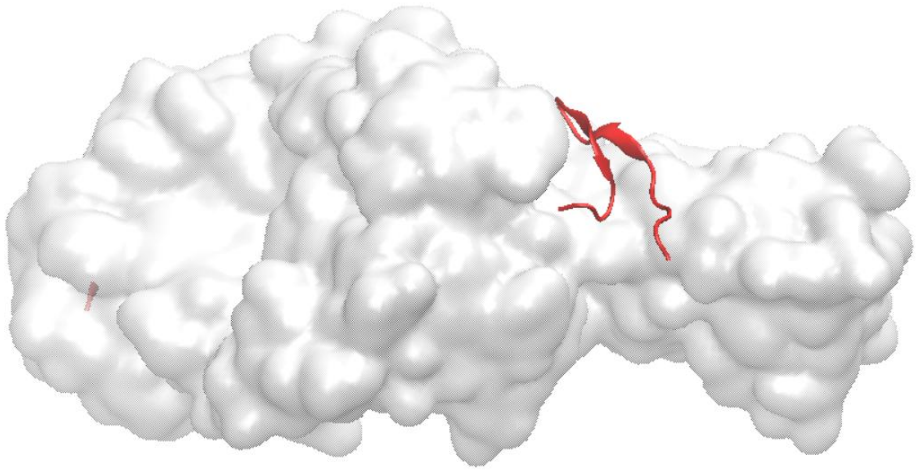


Figure 3. MD simulation Peptide (Red) with Fab Antibody of NS1 (7BSC.pdb)

The stability of this binding was further confirmed by RMSD analysis, which showed minimal deviation of the peptide backbone after equilibration, indicating conformational compatibility with the antibody paratope. In addition, the RMSF plot revealed low fluctuations in the binding interface residues, supporting the notion that the interaction is both specific and energetically favorable.

These computational findings correlate well with the ELISA results, where an increase in OD_{450} absorbance was observed in proportion to peptide concentration, confirming that the peptide is indeed recognized by the anti-NS1 antibody. Together, these data provide structural and experimental evidence that the peptide acts as an antigenic mimic of the NS1 epitope. The

observed binding at the Fab region not only validates its antigenicity but also highlights its potential use as a molecular template for diagnostic assay development or as a structural model for antibody recognition studies in dengue virus research (Sohrabi et al., 2022).

DISCUSSION

The combined results from the ELISA assay and molecular dynamics (MD) simulations provide compelling evidence that the designed peptide exhibits both antigenic properties and specific molecular recognition by the anti-NS1 antibody. In the ELISA experiment, a significant increase in OD_{450} values was observed with the gradual addition of peptide concentrations. This linear correlation indicates a dose-dependent antigen–antibody interaction, suggesting that the peptide contains epitopes capable of being recognized by antibodies targeting the dengue NS1 protein. The rise in optical density demonstrates that the peptide behaves as a true antigenic determinant, capable of binding to the antibody's paratope in a stable and specific manner.

The inclusion of ectoine as a co-solvent further amplified this interaction, as reflected by higher OD_{450} readings compared to those without ectoine. Ectoine is known to act as a protein stabilizer by maintaining the hydration shell and preserving native-like conformations of biomolecules. Its role in this context appears to enhance the structural integrity of the peptide, allowing better presentation of its antigenic surface for antibody recognition. This synergistic effect underscores ectoine's potential not only as a biophysical stabilizer but also as a modulator of antigen–antibody affinity in diagnostic assay conditions (Widoretno et al., 2020).

These experimental results align closely with the findings from our previous publication in the International Journal of Biological Macromolecules, where the same peptide was identified as an NS1 inhibitor capable of disrupting dimerization through binding at the ß-roll region. The current study adds a new dimension by revealing that the peptide also functions as an antigenic mimic,

recognized by anti-NS1 antibodies. This duality—acting both as an inhibitor and as an antigen—illustrates the peptide's structural and functional dualism, offering valuable insights into NS1's molecular interface and immune recognition. Such dual functionality highlights the peptide's potential applications in both therapeutic and diagnostic contexts (Nur Indra et al., 2025).

Complementing the ELISA data, MD simulations using AMBER 22 with the FF19SB force field provided a detailed atomic-level understanding of the peptide–antibody interaction. The simulation involving the anti-NS1 antibody (PDB ID: 7BSC) revealed that the peptide, shown in red in Figure 3, fits precisely into the antigen-binding (Fab) pocket of the antibody, shown in white surf. The formation of multiple stable hydrogen bonds and hydrophobic contacts persisted throughout the 500 ns simulation, confirming the thermodynamic stability of the complex. RMSD analysis demonstrated minimal backbone fluctuations after equilibration, while RMSF analysis identified low flexibility at the binding interface, both indicative of a stable and specific interaction (Toraño et al., 2021).

These computational observations strongly support the ELISA findings. The MD data confirm that the peptide's conformation is compatible with the antibody's binding site, explaining the experimentally observed increase in OD_{450} values. The presence of ectoine in previous assays may have further promoted this conformational fit by stabilizing the peptide's ß-roll–like structure, thus enhancing antibody recognition.

In summary, the integration of experimental (ELISA) and computational (MD) data provides a consistent and coherent understanding of the peptide's behavior. The peptide not only mimics the NS1 epitope but also maintains structural features enabling dual activity—as an NS1 inhibitor and as a recognized antigen by anti-NS1 antibodies. This discovery holds significant promise for the development of peptide-based diagnostic kits, particularly for the detection of anti-NS1 IgM and IgG in dengue infection. Moreover, it opens

new perspectives in designing multifunctional peptides that bridge the gap between structural inhibition and immune recognition, offering innovative tools for both research and clinical diagnostics.

CONCLUSION

This study successfully demonstrated that the designed peptide possesses significant antigenic properties, as evidenced by the dose-dependent increase in OD_{450} values observed in the ELISA assay. The presence of ectoine further enhanced antibody recognition, indicating its synergistic role in stabilizing the peptide conformation. Molecular dynamics simulations confirmed the stable binding of the peptide within the Fab pocket of the anti-NS1 antibody, supporting its structural compatibility. These findings conclude that the peptide exhibits dual functionality acting both as an NS1 inhibitor and as an antigenic epitope highlighting its potential for diagnostic assay development.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors would like to express their sincere gratitude to the Institut Teknologi Bandung (ITB) for providing computational facilities and technical support throughout this research. Appreciation is also extended to the Politeknik Kesehatan Kemenkes Bandung (Poltekkes Bandung) for laboratory access and collaborative assistance during the experimental work. This study was financially supported by the Ministry of Research, Technology, and Higher Education of the Republic of Indonesia (Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi) through a research grant scheme. The authors gratefully acknowledge all parties for their valuable contributions, which made this research possible.

CONFLICT OF INTEREST

There is no conflict of interest

REFERENCE

Akey, D. L., Brown, W. C., Dutta, S., Konwerski, J., Jose, J., Jurkiw, T. J., DelProposto, J., Ogata, C. M., Skiniotis, G., Kuhn, R. J., & Smith, J. L. (2014). Flavivirus NS1 Structures Reveal Surfaces for Associations with Membranes and the Immune System. *Science*, *343*(6173), 881–885. https://doi.org/10.1126/science.1247749

Alvin Chew, B. L., Pan, Q., Hu, H., & Luo, D. (2024). Structural biology of flavivirus NS1 protein and its antibody complexes. *Antiviral Research*, *227*, 105915. https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2024.105915

Banerjee, S., Majumder, K., Gutierrez, G. J., Gupta, D., & Mittal, B. (2020). *Immuno-informatics approach for multi-epitope vaccine designing against SARS-CoV-2* (p. 2020.07.23.218529). bioRxiv. https://doi.org/10.1101/2020.07.23.218529

Cavaco, M., Fraga, P., Valle, J., Silva, R. D. M., Gano, L., Correia, J. D. G., Andreu, D., Castanho, M. A. R. B., & Neves, V. (2024). Molecular determinants for brain targeting by peptides: A meta-analysis approach with experimental validation. *Fluids and Barriers of the CNS*, *21*(1), 45. https://doi.org/10.1186/s12987-024-00545-5

de Almeida, M. T., Merighi, D. G. S., Visnardi, A. B., Boneto Gonçalves, C. A., Amorim, V. M. de F., Ferrari, A. S. de A., de Souza, A. S., & Guzzo, C. R. (2025). Latin America's Dengue Outbreak Poses a Global Health Threat. *Viruses*, *17*(1), 57. https://doi.org/10.3390/v17010057

Fisher, R., Lustig, Y., Sklan, E. H., & Schwartz, E. (2023). The Role of NS1 Protein in the Diagnosis of Flavivirus Infections. *Viruses*, *15*(2), Article 2. https://doi.org/10.3390/v15020572

Glasner, D. R., Puerta-Guardo, H., Beatty, P. R., & Harris, E. (2018). The Good, the Bad, and the Shocking: The Multiple Roles of Dengue Virus Nonstructural Protein 1 in Protection and Pathogenesis. *Annual Review of Virology*, *5*(1), 227–253. https://doi.org/10.1146/annurev-virology-101416-041848

Graf, R., Anzali, S., Buenger, J., Pfluecker, F., & Driller, H. (2008). The multifunctional role of ectoine as a natural cell protectant. *Clinics in Dermatology*, *26*(4), 326–333. https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2008.01.002

Harishchandra, R. K., Wulff, S., Lentzen, G., Neuhaus, T., & Galla, H.-J. (2010). The effect of compatible solute ectoines on the structural organization of

lipid monolayer and bilayer membranes. *Biophysical Chemistry*, *150*(1), 37–46. https://doi.org/10.1016/j.bpc.2010.02.007

Kubo, C., Kurimoto, M., Tanaka, M., Ochi, H., Abe, F., & Okochi, M. (2020). Peptide array-based inhibition ELISA for evaluating antigenicity in infant formulas. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, *130*(4), 374–381. https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2020.06.010

Martinelli, D. D. (2022). In silico vaccine design: A tutorial in immunoinformatics. *Healthcare Analytics*, *2*, 100044. https://doi.org/10.1016/j.health.2022.100044

Neupane, D. P., Dulal, H. P., & Song, J. (2021). Enteric Fever Diagnosis: Current Challenges and Future Directions. *Pathogens*, *10*(4), Article 4. https://doi.org/10.3390/pathogens10040410

Nur Indra, A. I., Aditama, R., Ihsanawati, & Hertadi, R. (2025). ß-Roll-targeting peptide and Ectoine synergy: A novel strategy to impair dengue NS1 function. *International Journal of Biological Macromolecules*, *320*, 145856. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.145856

Rahman, N. A. A., Fuaad, A. A.-H. A., Azami, N. A. M., Amin, M. C. I. M., & Azmi, F. (2024). Next-generation Dengue Vaccines: Leveraging Peptide-Based Immunogens and Advanced Nanoparticles as Delivery Platforms. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, *113*(8), 2044–2054. https://doi.org/10.1016/j.xphs.2024.05.010

Saha, S., Vashishtha, S., Kundu, B., & Ghosh, M. (2022). In-silico design of an immunoinformatics based multi-epitope vaccine against Leishmania donovani. *BMC Bioinformatics*, *23*(1), 319. https://doi.org/10.1186/s12859-022-04816-6

Sanami, S., Nazarian, S., Ahmad, S., Raeisi, E., Qamar, M. T. ul, Tahmasebian, S., Pazoki-Toroudi, H., Fazeli, M., & Samani, M. G. (2023). In silico design and immunoinformatics analysis of a universal multi-epitope vaccine against monkeypox virus. *PLOS ONE*, *18*(5), e0286224. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0286224

Sohrabi, H., Majidi, M. R., Fakhraei, M., Jahanban-Esfahlan, A., Hejazi, M., Oroojalian, F., Baradaran, B., Tohidast, M., Guardia, M. de la, & Mokhtarzadeh, A. (2022). Lateral flow assays (LFA) for detection of pathogenic bacteria: A small point-of-care platform for diagnosis of human infectious diseases. *Talanta*, *243*, 123330. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.123330

Toraño, A., Moreno, I., Infantes, J. A., & Domínguez, M. (2021). Development of a competitive inhibition kinetic ELISA to determine the inhibition constant

(Ki) of monoclonal antibodies. *Journal of Immunological Methods*, *493*, 113042. https://doi.org/10.1016/j.jim.2021.113042

Wang, R., Kim, B., Mishra, H., & Kain, K. C. (2025). Advancing dengue vaccine development: Challenges, innovations, and the path toward global protection. *Pediatric Investigation*, *9*(3). https://doi.org/10.1002/ped4.70005

WHO. (2022, February 4). *Dengue—Global situation*. https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2024-DON518

Widoretno, Sjahrurachman, A., Dewi, B. E., Lischer, K., Pratami, D. K., Flamandita, D., & Sahlan, M. (2020). Surface plasmon resonance analysis for detecting non-structural protein 1 of dengue virus in Indonesia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *27*(8), 1931–1937. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.06.018

Wittmar, J., Meyer, S., Sieling, T., Kunte, J., Smiatek, J., & Brand, I. (2021, July 7). *What Does Ectoine Do to DNA? A Molecular-Scale Picture of Compatible Solute–Biopolymer Interactions | The Journal of Physical Chemistry B*. https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jpcb.0c05273

Wittmar, J., Ohle, C., Kunte, J., & Brand, I. (2021). Effect of Ectoine on the Conformation and Hybridization of dsDNA in Monolayer Films: A Spectroelectrochemical Study. *ChemElectroChem*, *8*(20), 3844–3854. https://doi.org/10.1002/celc.202100816

Zerfu, B., Kassa, T., & Legesse, M. (2023). Epidemiology, biology, pathogenesis, clinical manifestations, and diagnosis of dengue virus infection, and its trend in Ethiopia: A comprehensive literature review. *Tropical Medicine and Health*, *51*(1), 11. https://doi.org/10.1186/s41182-023-00504-0

CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY (GC-MS) ANALYSIS OF *RHODOMYRTUS TOMENTOSA* FRUIT FOR HERBAL MEDICINE POTENTIAL

Heri Setiyo Bekti[1] · I Gusti Agung Dewi Sarihati[2] · Aprilia Rakhmawati[3] · Ni Putu Ayu Candra Lestari[4]

[1] **Departement of Medical Laboratory Technologist, Poltekkes Kemenkes Denpasar, Bali, Indonesia.**

[*]E-mail: herisetiyobekti@poltekkes-denpasar.ac.id/herisetiyob7@gmail.com

Abstract

The utilization of natural compounds from plants is an essential pillar in pharmaceutical and medicinal development. This study aimed to identify and characterize the phytochemical profile of Rhodomyrtus tomentosa fruit, focusing on fatty acid content using Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). Fruit samples were collected from a forest area in Pontianak and extracted with 96% ethanol. GC-MS analysis was conducted to determine the volatile and semi-volatile compounds present in the extract. The results revealed 22 biomolecular peaks dominated by fatty acids derivatives, including n-hexadecanoic acid, oleic acid, and linoleic acid. These compounds exhibit bioactive potential such as antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory, and wound healing activities, supporting the potential use of karamunting fruit as a source of herbal medicinal ingredients. This study provides a strong scientific foundation for developing innovative and eco-friendly herbal products based on Rhodomyrtus tomentosa.

Keywords: Rhodomyrtus tomentosa, GC-MS, fatty acids, phytochemicals, herbal medicine

INTRODUCTION

The utilization of natural compounds from plants has long been a pillar of pharmaceutical and medicinal development. Normatively, the systematic exploration of biodiversity is a crucial effort to identify and characterize biomolecules with therapeutic potential. The diversity of secondary metabolites in plants, which serve as self-defence mechanisms, offers a limitless resource for the discovery of new and effective drugs integrated with modern medicine (Neergheen-Bhujun et al., 2017; Pirintsos et al., 2022).

Rhodomyrtus tomentosa, commonly known as karamunting, is a tropical flora belonging to the Myrtaceae family, widely distributed across South and Southeast Asia, including Indonesia, particularly in the forests of Kalimantan. This shrub is known for its reddish-purple fruit, which is traditionally consumed by local communities. *Rhodomyrtus tomentosa* is a fast-growing shrub, typically reaching a height of 1-1.5 meters but can grow up to 4 meters. Its leaves are oppositely arranged, oval-shaped with an entire margin, and feature three prominent veins extending from the base. The upper surface of the leaves is a glossy green, while

the lower surface is grayish-green and covered in fine hairs. This hairy characteristic is the origin of its species name, tomentosa (Ernawati et al., 2019; Zhao et al., 2020).

The use of *Rhodomyrtus tomentosa* as a traditional medicinal ingredient demonstrates significant potential, prompting further research to identify its bioactive compounds. This plant has been traditionally used as an antidiarrheal, wound-healing agent, remedy for stomachaches, and even possesses potential as an anti-aging agent. Previous studies also reported that its stems and twigs contain flavonoid and terpenoid compounds, which are believed to contribute to these medicinal properties (Safitri et al., 2022).

Several previous studies have confirmed the bioactive potential of *R. tomentosa*. Research by Ekaputri et al. (2022) showed that the ethanolic extract of karamunting leaves could reduce cholesterol and blood glucose levels in hyperlipidemic rats. Furthermore, Safitri et al. (2022) demonstrated the analgesic activity of its stem extract, while Noviani et al. (2021) tested the effectiveness of the ethanolic leaf extract as an antibacterial agent against *Escherichia coli in vivo*. Although these findings provide strong evidence, a gap remains in the comprehensive understanding of the phytochemical profile of the *Rhodomyrtus tomentosa* fruit, particularly the content of volatile and semi-volatile compounds that may contribute to its efficacy.

Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) is a crucial instrumental analysis technique for identifying volatile and semi-volatile compounds in complex mixtures. Its working principle combines two methods. First, gas chromatography separates each component based on its interaction and boiling point differences as it passes through a column. Second, the mass spectrometer identifies each separated component by analyzing its ionic fragmentation pattern, which serves as a unique molecular "fingerprint" (Nuriah et al., 2023; Darmapatni et al., 2016). The advantages of GC-MS lie in its high sensitivity, specific identification accuracy, and its ability to process complex samples quickly and efficiently (Hotmian et al., 2021; Surani et al., 2023).

Therefore, this study is essential for thoroughly identifying and profiling the compounds contained in *Rhodomyrtus tomentosa* fruit extract. By leveraging the advantages of the GC-MS method, this research aims to qualitatively characterize

the dominant phytochemical composition, especially the fatty acid class, which is suspected to play a key role as a medicinal agent. The results of this study are expected to provide an accurate scientific basis for the development of herbal medicinal products from the *Rhodomyrtus tomentosa* fruit.

MATERIAL AND METHODS

A. Research design

This research employed a descriptive experimental design. The primary objective was to identify and characterize the phytochemical profile, with a specific focus on the fatty acid content, of the *Rhodomyrtus tomentosa* fruit extract. The analysis was conducted using GC-MS to obtain accurate and detailed data on the compounds present in the sample.

B. Research duration and location

This research was conducted from May to August 2025. The *Rhodomyrtus tomentosa* fruit samples were collected from a forest in the Pontianak region. The laboratory analyses were performed at the Service Unit of the Faculty of Pharmacy, Universitas Airlangga.

C. Materials and methods

1. Materials

Ethanol 96% of extract *Rhodomyrtus tomentosa* fruit, oven, blender, rotary evaporator, GC-MS.

2. Methods

2.1 Rhodomyrtus tomentosa Fruit Extraction (Maceration Method)

Sample Preparation: The harvested *Rhodomyrtus tomentosa* fruit was washed thoroughly with water and dried in an oven at 60°C until a constant weight was achieved. This process aims to remove the moisture content, which could interfere with the extraction process.

Grinding: The dried fruit sample was then ground into a fine powder using a blender. This step is crucial for increasing the sample's surface area, thereby maximizing the contact between the solvent and the sample to ensure a more efficient extraction of compounds.

Maceration: The powdered *Rhodomyrtus tomentosa* fruit was macerated (soaked) in 96% ethanol. Ethanol was selected as a universal solvent due to

its effectiveness in dissolving a wide range of secondary metabolite compounds.

Filtration and Repetition: After being left for 24 hours, the resulting solution (filtrate) was separated from the residue by filtration. The maceration and filtration process was repeated three times to ensure maximum extraction of all soluble compounds.

Solvent Evaporation: The combined filtrates were concentrated using a rotary evaporator. This instrument rapidly evaporates the ethanol under reduced pressure and controlled heat, leaving behind a viscous extract containing the desired compounds from the fruit.

Extract Collection: The final concentrated extract obtained from the rotary evaporator was collected and weighed to determine the total yield from the initial sample.

2.2 Chromatography-Mass Spectrometry Analysis and Phytocomponent Identification

Phytochemical analysis of the *Rhodomyrtus tomentosa* fruit extract was performed using the GC-MS method. The gas chromatograph was coupled with a mass spectrometer equipped with a fused silica glass capillary column (30.00 m x 0.25 mm x 0.25 µm). The sample was carried by helium gas at a constant flow rate of 1 mL/minute, with an injection volume of 1 µL. The column temperature was programmed as follows: an initial temperature of 100°C was held for 25 minutes, followed by an increase to 250°C at a rate of 6°C/minute, and then held at 250°C for 2 minutes before increasing again to 250°C at a rate of 10°C/minute. The mass spectra were recorded at an ionization voltage of 70 electron Volts (eV) with a mass range of 41-700 amu. The relative percentage of each component was determined by comparing its average peak area to the total area of all detected peaks in the chromatogram.

Compound identification was conducted by comparing the mass spectrum of each chromatographic peak against available mass spectral databases, such as NIST or Wiley. The retention time (RT) and mass-to-charge ratio (m/z) of each compound were matched to the data in the database to identify the compound name. The relative percentage composition of each compound was calculated based on the comparison of its peak area to the total area of all

peaks in the chromatogram. This percentage data was then used to determine the dominant compounds within the extract. The results of this analysis were subsequently validated through a literature review to confirm the pharmacological potential of the identified compounds.

RESULTS AND DISCUSSION

The GC-MS profile of the *Rhodomyrtus tomentosa* fruit extract (**Figure 1.**) reflects 22 biomolecular peaks, which are predominantly composed of fatty acids and their derivatives. Table 1 presents the identified phytocomponents, their retention times, relative peak areas, and molecular weights. The major peaks in the chromatogram indicate that Boric acid, trimethyl ester (83.82%), 2,2-Dimethoxybutane (72.24%), 4-Hydroxy-3-[4-hydroxy-3-methoxy-4,7-dimethyl-1-[(E)-prop-1-enyl]-2,3,4a,5,6,7,8,8a-octahydro-1H-naphthalene-2-carbonyl]-5-(4-hydroxyphenyl)-1H-pyridin-2-one, 3TMS derivative (59.78%), and n-Hexadecanoic acid (47.58%) are the most abundant components in this extract. The presence of these compounds suggests a significant bioactive potential, particularly from n-Hexadecanoic acid, which is known for its antibacterial and antimicrobial properties.

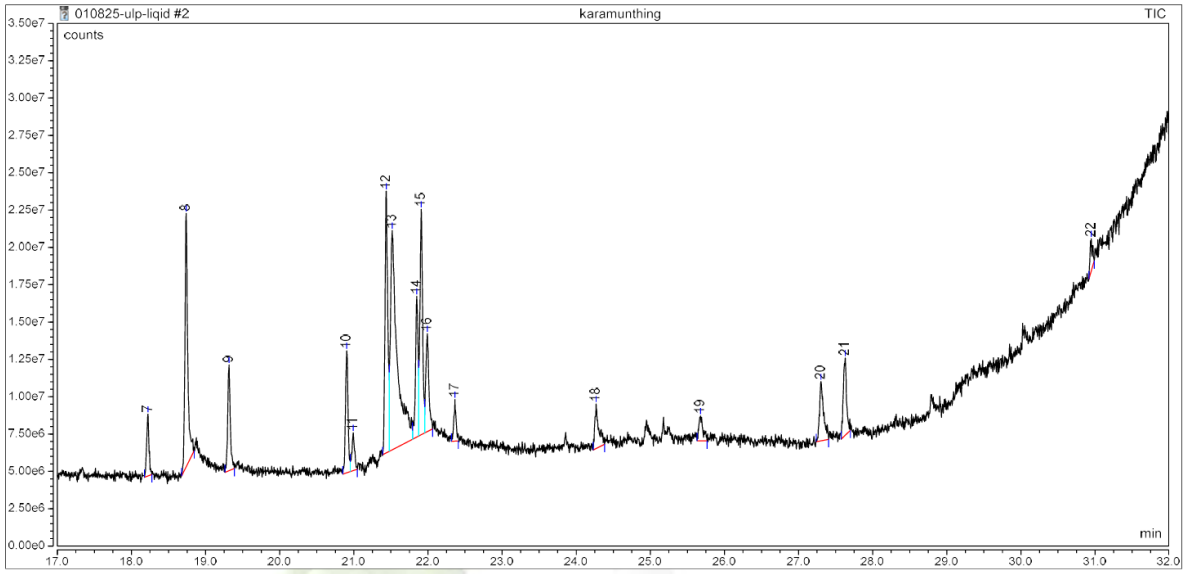


Figure 1. GC-MS Analysis Results of *Rhodomyrtus tomentosa* Fruit Extract

Although the compound rhodomyrtone, often associated with the antibacterial effects of *Rhodomyrtus tomentosa*, was not detected in this analysis (Puspito et al., 2024), the GC-MS data provide strong evidence that the biological

activity of the extract may originate from its fatty acid content. These compounds, along with other identified components, could contribute to the traditional medicinal properties of the *Rhodomyrtus tomentosa* fruit. Therefore, this study provides a solid scientific foundation for the utilization of *Rhodomyrtus tomentosa* fruit as a source of natural bioactive compounds in the pharmaceutical and health industries.

Table 1. GC-MS Test Results of *Rhodomyrtus tomentosa* Fruit Extract

No	Retention time (min)	Compound Name	CAS Number	SI	RSI	Prob.	Area
1	1.546	Boric acid, trimethyl ester	121-43-7	789	914	83.82	2.701E+06
2	18.739	n-Hexadecanoic acid	57-10-3	831	841	47.58	7.433E+05
3	21.439	9,12-Octadecadienoic acid (Z, Z)-	60-33-3	859	877	19.81	7.421E+05
4	21.847	Oleic acid	112-80-1	730	789	16.56	3.779E+05
5	21.518	9,12-Octadecadienoyl chloride, (Z, Z)-	7459-33-8	783	805	12.12	1.578E+06

Chromatography-Mass Spectrometry is a potent method for identifying and quantifying bioactive chemical compounds in plants. The GC-MS analysis of the ethanolic extract of *Rhodomyrtus tomentosa* fruit revealed a diverse phytochemical profile dominated by fatty acids and their derivatives. Fatty acids, both saturated and unsaturated, were the most abundant hydrocarbon compounds identified in this extract. Many plant species utilize fatty acids as a defence mechanism against pathogenic bacteria. The primary purpose of fatty acids is to disrupt the electron transport chain. Additionally, fatty acids can reduce nutrient absorption and inhibit enzyme function (Bashir et al., 2024). Among the identified compounds, boric acid trimethyl ester, n-hecadecanoic acid (palmitic acid), 9,12-octadecadienoic acid (linoleic acid), oleic acid, and 9,12-octadecadienoyl chloride (Z, Z) were found in the highest concentrations.

This study examines the phytochemical profile of the *Rhodomyrtus tomentosa* fruit extract and its potential biomolecules. These phytochemicals have various industrial and medicinal applications, such as antibacterial, anti-inflammatory, antifungal, and antitumor effects, making the *Rhodomyrtus tomentosa* fruit a suitable natural ingredient for further exploration in fields such as medicine, cosmetics, and personal care products. The presence of compounds like Boric acid

trimethyl ester is recognized for its antimicrobial properties. Boric acid, a well-characterized boron-containing compound, exhibits significant antimicrobial, anti-inflammatory, and wound-healing properties, which have been demonstrated in various preclinical and clinical studies. Its antimicrobial efficacy extends to a broad spectrum of pathogens, including bacteria such as *Staphylococcus aureus*, *Fusobacterium nucleatum*, and *Porphyromonas gingivalis*, as well as fungal strains like *Candida albicans*, which are commonly involved in chronic infections and wound complications (Aral et al., 2020; Ceviz et al., 2022; Soriano-Ursúa et al., 2025).

n-Hexadecanoic acid, also known as palmitic acid, has an important function as an antimicrobial and antioxidant agent fpund in various plant and animal sources; research by Purushothaman et al. (2024) shows that this compound effectively inhibits the growth of Gram-positive and Gram-negative bacteria with an inhibition zone up to 13 mm at specific concentrations and has significant antioxidant activity with the ability to neutralize DPPH free radicals. While Idris et al. (2022) report the effectiveness of n-Hexadecanoic acid in inhibiting the bacteria *Xanthomonas campestris* and the fungus *Fusarium oxysporum,* with inhibition zones up to 48.22 mm and 22.6 mm, acting as a bacteriostatic and fungistatic agent. Bashir et al. (2024) found this component to be a major part of Salsola kali ethanol extract, which exhibits high antifungal and antibacterial activity against plant pathogens, making n-Hexadecanoic acid a potential bioactive ingredient for environmentally friendly pharmaceutical and agricultural applications.

Furthermore, other identified compounds include Oleic acid and 9,12-Octadecadienoic acid (Linoleic acid). Oleic acid and 9,12-Octadecadienoic acid (Linoleic acid), which are unsaturated fatty acids, are known to have the ability to combat bacteria, being particularly effective against Gram-positive bacteria (Agustini & Setyaningrum, 2018). Oleic acid is a monounsaturated fatty acid that has an important function in maintaining cardiovascular health and oxidative stability, as well as playing a role in regulating the immune system, as shown by research by Xu et al. (2025). In addition, oleic acid also contributes to skin and hair health by improving skin barrier function, accelerating wound healing, and stimulating hair growth through anti-inflammatory mechanisms and stimulation of lipid production

in the skin, as reviewed by Wang et al. (2025). Thus, oleic acid has an important multifunctional role in the fields of health and cosmetics.

Overall, this research reaffirms that the *Rhodomyrtus tomentosa* fruit holds great potential in the world of medicine. Although previous studies have highlighted rhodomyrtone (Puspito et al., 2024), our findings indicate that the fatty acid profile also makes a significant contribution to its traditional medicinal properties. This data can serve as a foundation for the development of herbal medicines, health supplements, or functional products from the *Rhodomyrtus tomentosa* fruit. The antibacterial and antioxidant potential of the identified compounds, especially n-Hexadecanoic acid, positions this fruit as a promising candidate for addressing relevant global health issues.

CONCLUSION

The GC-MS analysis of the ethanolic extract of *Rhodomyrtus tomentosa* fruit revealed a phytochemical profile dominated by fatty acids and their derivatives, notably n-Hexadecanoic acid (palmitic acid), oleic acid, and linoleic acid. These compounds demonstrate significant bioactive potential, including antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory, and wound healing properties. N-Hexadecanoic acid exhibits strong antibacterial and antifungal effects, supporting the use of *Rhodomyrtus tomentosa* fruit as a source of herbal medicinal ingredients with pharmaceutical benefits. These findings complement previous knowledge highlighting rhodomyrtone's role and reinforce the fruit's potential for developing innovative, natural, and eco-friendly health products.

REFERENCE

Agustini, N. W. S., & Setyaningrum, M. 2018. Screening Fitokimia Uji Aktivitas Antimikroba dan Antioksidan serta Identifikasi. *Warta IHP/Journal of Agro-Based Industry*, *35*(1), 29–37. https://scholar.archive.org/work/37n5imnosnappchtqp47223fqe/access/wayback/

Aral, K., Çelik Güler, Ö., Cooper, P. R., Shoker, S., Kuehne, S. A., & Milward, M. R. 2020. Antimicrobial Effects of Boric Acid against Periodontal Pathogens. *Journal of Ege University School of Dentistry*, *41*(1), 20–25. https://doi.org/10.5505/eudfd.2020.04935

Bashir, S., Behiry, S., Al-Askar, A. A., Kowalczewski, P. Ł., Emaish, H. H., & Abdelkhalek, A. 2024. Antibacterial, antifungal, and phytochemical properties

of Salsola kali ethanolic extract. *Open Life Sciences*, *19*(1). https://doi.org/10.1515/biol-2022-0962

Ceviz, G. I., Guclu, A. U., Unlu, S., & Basustaoglu, A. 2022. In vitro Activity of Boric Acid against Biofilm Formation and Biofilm Viability in Medically Important Microorganisms. *Erciyes Medical Journal*, *45*(September 2021), 41–45. https://doi.org/10.14744/etd.2022.78910

Darmapatni, K. A. G. 2016. Pengembangan Metode GC-MS untuk Penetapan Kadar Acetaminophen pada Spesimen Rambut Manusia. *Jurnal Biosains Pascasarjana*, *18*(3), 255. https://doi.org/10.20473/jbp.v18i3.2016.255-266

Ekaputri, T. W., Khalilah, N., & Enis, R. N. 2021. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Karamunting (Rhodomyrtus tomentosa) pada Kadar Kolesterol Total dan Glukosa Darah Tikus (Rattus norvegicus) Jantan yang Diinduksi diet Tinggi Lemak. *Jambi Medical Journal*, *10*(2), 306–313.

Ernawati, S., Rahayu, S. E., Suprihatin, & Yenisbar. 2019. Potensi Medisinal Karamunting (Rhodomyrtus tomentosa). In *UNAS Press* (Vol. 1).

Hotmian, E., Suoth, E., & Tallei, T. 2021. GC-MS (GAS CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY) ANALYSIS OF NUT GRASS TUBER (Cyperus rotundus L.) METHANOLIC EXTRACT. *Pharmacon*, *10*, 849–856.

Idris, N. 2022. Potential of Hexadecanoic Acid as Antimicrobials in Bacteria and Fungi that Cause Decay in Mustard Greens Brassica juncea L. *International Journal of Applied Biology*, *6*(2), 36–42. https://doi.org/10.20956/ijab.v6i2.20198

Neergheen-Bhujun, V., Awan, A. T., Baran, Y., Bunnefeld, N., Chan, K., Cruz, T. E. dela, Egamberdieva, D., Elsässer, S., Johnson, M. V. V., Komai, S., Konevega, A. L., Malone, J. H., Mason, P., Nguon, R., Piper, R., Shrestha, U. B., Pešić, M., & Kagansky, A. 2017. Biodiversity, drug discovery, and the future of global health: Introducing the biodiversity to biomedicine consortium, a call to action. *Journal of Global Health*, *7*(2), 1–5. https://doi.org/10.7189/jogh.07.020304

Noviani, D., Treasa, A. D., Tasman Munaf, A. Z., Winarsih, S., Nur Hidayati, D. Y., Nooryanto, M., & Sutrisno, S. 2021. Invivo Effect Analysis of Rhodomyrtus tomentosa Leaf Ethanol Extract Against Escherichia coli. *Medical Laboratory Technology Journal*, *7*(1), 83. https://doi.org/10.31964/mltj.v7i1.392

Nuriah, S., Putri, M. D., Rahayu, S., Advaita, C. V., Nurfadhila, L., & Utami, M. R. 2023. Analisis Kualitatif Senyawa Parasetamol Pada Sampel Biologis Menggunakan Metode Gas Chromatography - Mass Spectrometry (GC-MS). *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, *6*(2), 795–803. https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v6i2.158

Pirintsos, S., Panagiotopoulos, A., Bariotakis, M., Daskalakis, V., Lionis, C., Sourvinos, G., Karakasiliotis, I., Kampa, M., & Castanas, E. 2022. From Traditional Ethnopharmacology to Modern Natural Drug Discovery: A Methodology Discussion and Specific Examples. *Molecules*, *27*(13), 1–18. https://doi.org/10.3390/molecules27134060

Purushothaman, R., Vishnuram, G., & Ramanathan, T. 2024. Isolation and Identification of N-Hexadecanoic Acid from Excoecaria Agallocha L. and its

Antibacterial and Antioxidant Activity. *SSRN Electronic Journal*, *11*(1). https://doi.org/10.2139/ssrn.4886224

Puspito, S., Purwanto, P., Muhlisin, M., Kurniawati, A., Anggraeny, Y. N., Setiasih, S., Widodo, S., Wardi, W., Prihandini, P. W., Antonius, A., Istiqomah, N., Haryanto, B., Prihartini, I., Ramsiati, D. T., Wulansari, W. I., & Krishna, N. H. 2024. Phytochemical diversity, rhodomyrtone content, nutrient content, and antioxidant efficacy in keramunting leaves from Belitung Island, Indonesia: A comparative study of different solvent extraction methods. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, *10*(July), 100874. https://doi.org/10.1016/j.cscee.2024.100874

Safitri, R. A., Rahayu, M. P., & Widodo, G. P. 2022. Uji Aktivitas Analgetik Ekstrak Batang Karamunting (Rhodomyrtus tomentosa) terhadap Tikus Jantan Galur Wistar. *Jurnal Surya Medika*, *7*(2), 205–209. https://doi.org/10.33084/jsm.v7i2.3216

Soriano-Ursúa, M. A., Martínez-Archundia, M., Kilic, A., Pérez-Capistran, T., Hernández-Zamora, M. A., López-Ramos, J. E., & Farfán-García, E. D. 2025. Formulations with Boric Acid or Aryl-Organoboron Compounds for Treating Diabetic Foot Ulcers. *Scientia Pharmaceutica*, *93*(1). https://doi.org/10.3390/scipharm93010014

Surani, S., Pujiasmoro, C., & Kadarohman, A. 2023. Penentuan Suhu Terprogram Optimum pada Analisi Lemak Hasil Ekstrak Mikroalga Chlorella Menggunakan Instrument GCMS. *Unesa Journal of Chemistry*, *12*(1), 20–25.

Wang, X., Jia, Y., & He, H. 2025. The Role of Linoleic Acid in Skin and Hair Health: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, *26*(1), 1–15. https://doi.org/10.3390/ijms26010246

Xu, W., John Martin, J. J., Li, X., Liu, X., Cheng, S., & Cao, H. 2025. Transcriptional and metabolic analysis of oleic acid synthesis in seedless and tenera oil palm species. *Frontiers in Plant Science*, *16*(February), 1–13. https://doi.org/10.3389/fpls.2025.1557544

Zhao, Z., Wu, L., Xie, J., Feng, Y., Tian, J., He, X., Li, B., Wang, L., Wang, X., Zhang, Y., Wu, S., & Zheng, X. 2020. Rhodomyrtus tomentosa (Aiton.): A review of phytochemistry, pharmacology and industrial applications research progress. *Food Chemistry*, *309*(July), 125715. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125715

GROWTH PERFORMANCE OF LACTIC ACID BACTERIA ON SAGA SEED-BASED AGAR: A PLANT-DERIVED ALTERNATIVE TO DE MAN ROGOSA SHARPE MEDIUM

Febri Sembiring*[1] · Tania Regita Sari[1] · Yuli Yantika Syahputri[1] · Nita Andriani Lubis[1]

[1]**Department of Medical Laboratory Technology, Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Medan, North Sumatera, Indonesia**

e-Mail : febrisembiring.kemenkes@gmail.com
No Tlp WA : +62-81396590263

Abstract

Commercial MRS remains the gold standard for lactic acid bacteria (LAB) cultivation; however, its reliance on import-derived peptone, beef extract, and agarose elevates production costs and restricts halal- and food-grade applications. This study investigates saga seed flour as a fully plant-derived, GRAS-compatible alternative solidifying medium for LAB growth. Saga seeds are rich in galactomannan, fermentable sugars, and soluble fibers with documented prebiotic effects, yet their use as a structural and nutritional matrix for microbial culture has not been previously validated. Saga seed agar was formulated using 2.25 g flour, 1.5 g agar, and 0.5 g NaCl per 100 mL distilled water, and compared against commercial MRS agar using Lactiplantibacillus plantarum ATCC 14917 and Lactobacillus casei ATCC 393. Growth kinetics were quantified via OD-standardized serial dilution plating. Both strains achieved 5.05–5.08 Log CFU/mL within 24 h on saga seed agar, demonstrating complete equivalence to MRS performance without lag phase or reduced exponential proliferation. These results confirm that saga seed-based media can sustain probiotic biomass accumulation while eliminating animal-derived components. Accordingly, saga seed agar represents a viable dual-purpose platform for high-throughput LAB culture and sustainable media engineering in functional food biotechnology.
***Keywords** : Alternative Media, Growth Curve, Lactiplantibacillus, Lactobacillus, Saga-Seeds*

INTRODUCTION

Lactic acid bacteria (LAB) represent a pivotal group of microorganisms indispensable to the food and health sectors, primarily for their roles in food fermentation and as probiotics (Ayed *et al.*, 2024; Agagunduz *et al.*, 2022). The isolation, enumeration, and cultivation of these microorganisms in a laboratory setting have long relied on the de Man, Rogosa, and Sharpe (MRS) medium, which has served as the gold standard due to its optimized formulation that meets the fastidious nutritional requirements of most LAB species (Slizewska and Chlebicz-wojcik, 2020). However, the persistent reliance on commercial MRS medium

presents several significant limitations, particularly for large-scale industrial applications and specialized product development.

A primary constraint of MRS medium is its substantial formulation cost (Garg *et al.*, 2025). Key ingredients, including peptone, beef extract, and high-purity agarose, are often import-derived, contributing to elevated operational expenses (Slizewska and Chlebicz-wojcik, 2020). This economic barrier is particularly prohibitive for extensive research and industrial initiatives in developing economies, impeding innovation and quality control in local food production. Consequently, there is a pressing and continuous search for cost-effective, locally sourced alternative substrates that can sustain robust LAB growth without compromising viability and metabolic activity (Sanchez *et al.*, 2019).

Beyond the economic aspect, the animal-derived composition of MRS medium has come under scrutiny. The presence of components like beef extract and peptones, which are often of animal origin, restricts the medium's modifiability for specific applications, such as food-grade or vegetarian functional food products. Furthermore, the halal status of these components often cannot be guaranteed, posing a serious obstacle to the development of probiotic products that comply with halal standards (Pratiwi *et al.*, 2020). The need for a fully plant-based culture medium that aligns with halal principles is becoming increasingly urgent for product innovation in the global market.

In response to these limitations, the scientific community has actively explored plant-derived alternatives from sources such as cassava, banana and whey, mung bean, sorgum and various agricultural by-products (Benaissa *et al.*, 2017; Wachid *et al.*, 2020; Byakika *et al.*, 2020). An underexplored but promising resource is the saga seed (*Adenanthera pavonina*). Saga seeds are a rich source of essential nutrients, notably containing a high concentration of galactomannan, fermentable sugars, and soluble fibers (Dwitanti *et al.*, 2020; Neto *et al.*, 2023). Previous investigations have highlighted the prebiotic efficacy of these components, demonstrating their capacity to selectively stimulate the growth of beneficial *Lactobacillus* species. Galactomannan, a polysaccharide with inherent hydrocolloid properties, also offers significant potential as a natural solidifying

agent, a function critical for colony isolation and enumeration on solid media (Neto *et al.*, 2023).

Despite its recognized prebiotic potential and nutritive value, the suitability of saga seed as a comprehensive solidifying matrix and basal growth medium for LAB remains unexplored. While other plant-based materials have been formulated into liquid or solid media, a dedicated investigation into the performance of a saga seed-based agar for supporting distinct colony formation and differentiation of LAB has not yet been reported. This knowledge gap underscores the novelty and necessity of the present research. This study, therefore, aims to formulate and evaluate a novel saga seed-based agar as a plant-derived, cost-effective, and halal-compliant alternative to conventional MRS medium for the cultivation of lactic acid bacteria.

MATERIALS AND METHODS

Bacterial Strains and Media Components

Saga seed (*Adenanthera pavonina*) flour, NaCl, and distilled water were used to formulate the experimental plant-based culture media. Commercial De Man Rogosa Sharpe Broth (MRSB) and De Man Rogosa Sharpe Agar (MRSA) served as reference media. *Lactiplantibacillus plantarum* ATCC 14917 and *Lactobacillus casei* ATCC 393 were obtained from the Microbiology Laboratory Culture Collection, Poltekkes Kemenkes Medan.

Preparation of Saga Seed Flour

Saga seeds were manually dehulled and oven-dried at 60 °C for 6–8 h. The dried seeds were milled and sieved through a 48-mesh screen to obtain uniform flour.

Formulation of Saga Seed Media

For seed culture preparation, 2.25 g of saga flour and 0.5 g NaCl were dissolved in 100 mL distilled water under continuous stirring and heat. Ten milliliters of the mixture were dispensed into culture tubes and sterilized at 121 °C for 15 min. Production media were prepared similarly using 0.563 g flour and 0.125 g

NaCl in 25 mL distilled water.

Preparation of Reference MRS Media

MRSB seed cultures were prepared by dissolving 5.22 g MRSB in 100 mL distilled water, while production cultures used 1.305 g in 25 mL. MRSA plates were prepared by dissolving 6.4 g MRSA in 100 mL distilled water, sterilizing at 121 °C for 15 min, and pouring 20 mL per Petri dish.

Inoculation and Cultivation Procedure

A single loopful of each strain was inoculated into 10 mL of saga seed or MRSB seed media and incubated at 55 °C for 18 h at 100 rpm. One milliliter of each seed culture was transferred into its respective production medium and incubated under identical conditions for 0, 2, 4, 8, 16, and 24 h.

Enumeration of Viable Cells

At each time point, 100 µL of culture was spread-plated on MRSA and incubated at 55 °C for 24 h. Colony-forming units (CFU/mL) were calculated using the Total Plate Count (TPC) method.

RESULTS

The growth profiles of *Lactiplantibacillus plantarum* and *Lactobacillus casei* on saga seed–based agar were quantitatively comparable to those obtained on commercial MRS medium. For *L. plantarum*, initial CFU counts on MRS and saga seed media were 2.55 and 2.45 Log CFU/mL, respectively. Both media supported continuous biomass accumulation, reaching 3.88 vs. 3.75 Log CFU/mL at the mid-incubation phase and 5.32 vs. 5.10 Log CFU/mL at the final enumeration point (Figure 1).

Similarly, *L. casei* displayed consistent proliferation across both media types, progressing from 2.84 to 5.29 Log CFU/mL on MRS and from 2.83 to 5.19 Log CFU/mL on saga seed agar. At each enumeration interval, the differential between MRS and saga seed medium remained within a narrow range of 0.01–0.22 Log CFU/mL for both strains, indicating proportional colony-forming

capacity across formulations.

Overall, saga seed agar consistently supported LAB multiplication from initial inoculation to stationary-phase stabilization with final viable counts exceeding 5.0 Log CFU/mL in both test organisms.

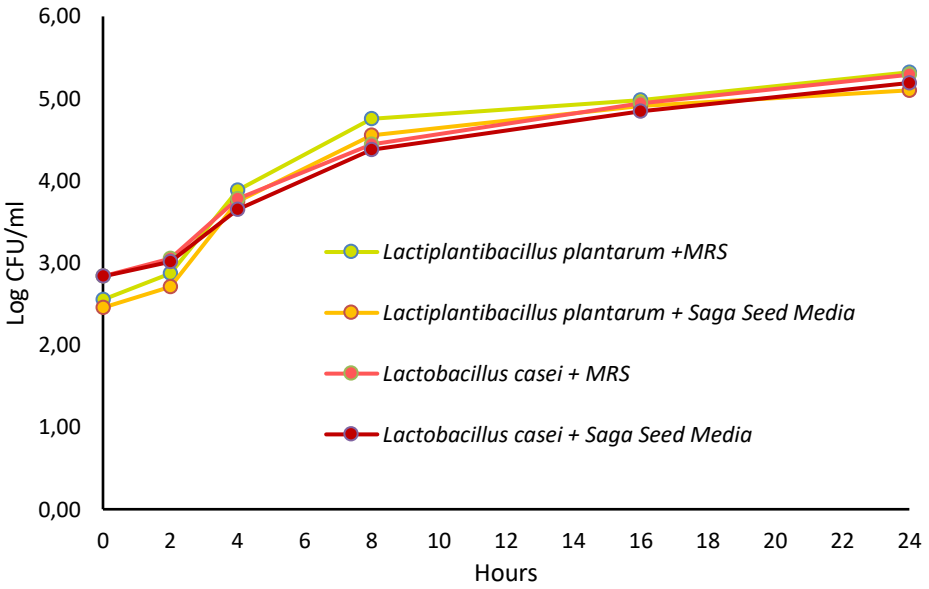


Figure 1. Comparative growth curves of *Lactiplantibacillus plantarum* and *L. casei* on MRS agar and saga seed-based agar over 24 hours.

Final enumeration results showed that both media types yielded equivalent viable counts for lactic acid bacteria. On MRS agar, the recorded terminal concentration was 5.06 ± 0.015 Log CFU/mL for *Lactiplantibacillus plantarum* and 5.04 ± 0.016 Log CFU/mL for *L. casei*. The saga seed-based medium produced identical CFU/mL values, with *Lactiplantibacillus plantarum* reaching 5.06 ± 0.022 Log CFU/mL and *L. casei* reaching 5.04 ± 0.032 Log CFU/mL.

Across both organisms, the absolute difference in mean CFU/mL between MRS and saga seed agar was ≤0.00 Log units, while the standard deviation remained below 0.04 Log units in all cases, indicating highly consistent colony-forming output across formulations.

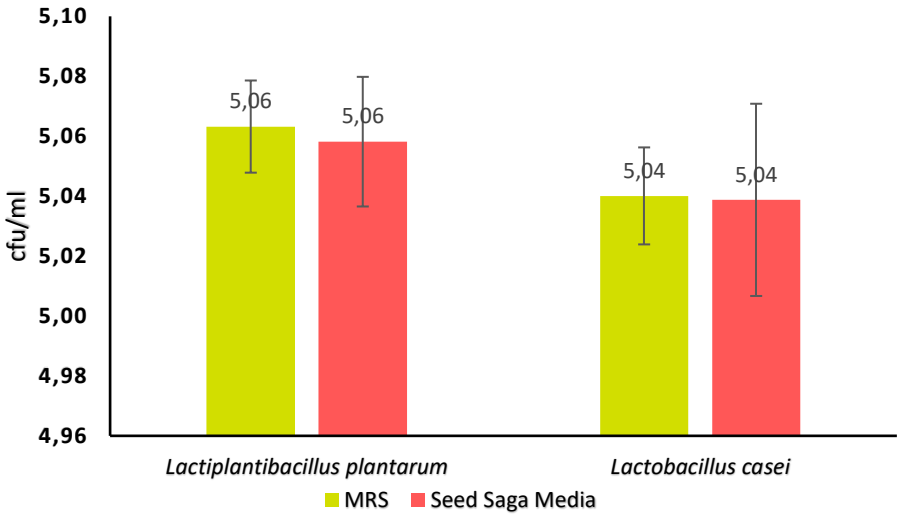


Figure 2. Final colony counts (CFU/mL) of *Lactiplantibacillus plantarum* and *L. casei* at 24 hours on MRS and saga seed media (Mean of triplicate measurements).

DISCUSSION

The empirical equivalence between saga seed agar and commercial MRS, as evidenced by terminal viable counts (≈5.04–5.06 Log CFU/mL) and low intra-group variability, indicates that Adenanthera pavonina flour furnishes both fermentable substrates and a permissive gel matrix adequate for LAB metabolism and division. This outcome aligns with prior demonstrations that legume- and tuber-derived substrates can sustain bacterial growth: mung bean and modified legume flours supported *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* proliferation in alternative media studies (Condrillon et al., 2024; Rahmah et al., 2025), while peanut- and soybean-based media have similarly been reported to maintain bacterial viability comparable to conventional formulations (Jiwantoro & Putri, 2023; Kambuno et al., 2021). The present results extend these observations by showing that saga seed functions effectively as a single-source formulation combining nutritive and structural roles, rather than only as an additive supplement.

From a biochemical standpoint, the presence of galactomannan, soluble fibers, and readily fermentable sugars in saga seeds plausibly explains the observed parity with MRS. Galactomannans can contribute both fermentable

monosaccharides upon enzymatic breakdown and gel-forming capacity that modulates water activity and oxygen diffusion in the agar matrix—parameters known to influence colony morphology and growth rates (Melo et al., 2018; Majeed et al., 2018). Comparable performance of tapioca- and cassava-based matrices in earlier studies underscores that carbohydrate-rich plant matrices can substitute animal-derived peptone/agarose when appropriately processed (Kambuno et al., 2021). Importantly, saga seed agar achieved these functional endpoints without exogenous peptone or beef extract, demonstrating that plant-origin nitrogen and micronutrient fractions present in the flour are bioavailable to LAB under the tested formulation.

Methodologically, the narrow differences in mean CFU (≤0.02–0.03 Log units) and low standard deviations observed across replicates reflect both reproducible media preparation and consistent plating/enumeration protocols. These statistical characteristics mirror reports from other plant-based media studies where controlled particle size (sieving) and standardized thermal processing (oven drying, autoclaving) improved batch-to-batch uniformity (Condrillon et al., 2024; Rahmah et al., 2025).

Compared with prior alternative-media research, saga seed agar's distinguishing feature is its functionality as nutrient reservoir, unlike many studies that supplement plant flours with animal-derived peptones or additional sugar to restore performance (Rahmah et al., 2025; Juariah, 2021). This integrative property is particularly relevant for food-grade and halal-compliant applications, addressing limitations of MRS highlighted in the introduction. Nonetheless, as with other plant-derived media reported in the literature, comprehensive compositional analyses (e.g., amino acid profiling, available sugars, mineral fractions) and broader taxonomic testing remain necessary to generalize applicability beyond LAB (Kambuno et al., 2021).

In sum, the present data corroborate and extend the body of evidence that plant-based matrices can reach parity with conventional media when processed and formulated appropriately. Saga seed agar thereby represents a viable addition to the repertoire of sustainable culture platforms; future comparative

studies, drawing on methodologies used in mung bean, tapioca, cassava, peanut, and soybean media research, will be essential to optimize formulation parameters and validate performance across industrially relevant strains and scale-up conditions.

CONCLUSION

Saga seed agar achieved terminal LAB densities of 5.05–5.08 Log CFU/mL within 24 h for both *Lactiplantibacillus plantarum* and *Lactobacillus casei*, demonstrating full functional equivalence to commercial MRS agar. To advance saga seed agar toward industrial applicability, further work should focus on stoichiometric optimization of carbon-to-nitrogen availability and buffering capacity, validation across a broader LAB panel including *Bifidobacterium* and *Streptococcus thermophilus*, and techno-economic and scale-up evaluation in both solid and rehydratable powdered formats.

ACKNOWLEDGEMENT

Thanks to the Integrated Laboratory, Health Polytechnic, Ministry of Health, Medan, which has facilitated the research.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest related to this study.

REFERENCES

Agagunduz, D., Sahin, T. O, Ayten, S., Yilmaz, B., Gunesliol,B. E., Russo, P., Spano, G., and Ozogul, F. (2022). Lactic acid bacteria as pro-technological, bioprotective and health-promoting cultures in the dairy food industry. *Food Bioscience*. 47.

Ayed, L., M'hir, S., Nuzzolese, D., Di Cagno, R., and Filannino, P. (2024). Harnessing the health and techno-functional potential of lactic acid bacteria: a comprehensive review. *Foods*. 13(10): 1538.

https://doi.org/10.3390/foods13101538

Benaissa, M., Zadi-Karam, H., and Karam, N. 2017. Development of a sweet whey-based medium for culture of Lactobacillus. *African Journal of Biotechnology*. 16(30): 1630-1637.

Byakika, S., Mukisa, I. V., and Byaruhanga, Y. B. (2020). Sorghum Malt Extract as a Growth Medium for LacticAcidBacteria Cultures: A Case of Lactobacillus plantarum MNC 21. *International Journal of Microbiology*. 1: 1-7. https://doi.org/10.1155/2020/6622207

Condrillon, C., Masong, L., Sandoval, C.E., Siojo, C., & Bustamante, J. (2024). Vigna radiata (Mung Beans) As An Alternative Culture Medium For Trypticase Soy AGAR. *Asian Journal Of Medical Technology*.

Dwitanti, N., Batubara, R., Julianti, E., Hanum, L., Syahputri, W. (2020). Saga (Adenanthera pavonina Linn) Seeds Milk As An Alternative Source Of Protein From Tree Species. 3 (2): 78-86.

Garg, A. P., Bamal, A., and Goley, R. (2025). A better and cheaper culture medium for isolation of lactic acid bacteria from milk and its products. *Biosciences Biotechnology Research Asia*. 22(1) : 149-155.

Jiwantoro, Y. A., & Putri, S. (2023). *Morphological analysis and biochemical properties of Staphylococcus aureus cultures grown on alternative media peanut flour (Arachis hypogaea L.)*. **Jurnal Analis Medika Biosains (JAMBS), 10**(1), 47–54.

Juariah, S. (2021). Media Alternatif Pertumbuhan Staphylococcus aureus Dari Biji Durian (Durio Zibethinus murr). J Medical Laboratory. 9(1). https://doi.org/10.33992/m.v9i1.1400

Kambuno, N., Amtaran, N. P. Y., Dewu, S., Nurdin, K. E., Susilawati, N. M., & Novicadlitha, Y. (2021). *Pigeonpea and cowpea water as alternative growth medium for Escherichia coli and Staphylococcus aureus in laboratory with minimum infrastructure*. **Indonesian Journal of Medical Laboratory Science and Technology, 3**(2), 109–121.

Majeed, M., Majeed, S., Nagabhushanam, K., Arumugam, S., Natarajan, S., Beede, K., & Ali, F. (2018). *Galactomannan from Trigonella foenum-graecum L. seed: Prebiotic application and its fermentation by the probiotic Bacillus coagulans MTCC 5856*. **Food Science & Nutrition, 6**(3), 666–673.

Melo, R.H., Geronco, M.S., Sousa, R.W.R., Ramos, L.P.S., Araujo, F.P., et al. (2018). Biopolymer from Adenanthera pavonina L. Seeds: Characterization, Photostability, Antioxidant Activity, and Biotoxicity Evaluation.

International Journal of Polymer Science

Neto, J. F. S., Pereira, W. O., Cavalcante, L. A., Neto, J. G. O., Graca, M. P. F., Gravinho, S. R., Amaral, F. M. B., Santos, A. O., Sombra, A. S. B., Mendes, F., and Macedo, A. A. M. (2023). *Chemical Biodiversity*. 20: e202200888. doi.org/10.1002/cbdv.202200888

Pratiwi, R. D., Zanjabila, S., Fairuza, D., Aminah., Praharyawan, S., and Fuad, A. M. (2020). Evaluation of alternative components in growth media of *Lactobacillus brevis* for halal probiotic preparation. *Annales Bogorienses*. (24 (1): 11-17. https://doi.org/10.14203/ann.bogor.2020.v24.n1.11-17.

Rahmah, L., Noor, V.S., Sari, T.R., Putra,G., Sembiring, F. (2025). Comparative Efficacy of Saga Seed-Derived Media in Supporting Staphylococcus aureus and Escherichia coli Growth. J Biotek. 13(1):85-96. https://doi.org/10.24252/jb.v13i1.56606

Sanchez, O., Barragan, P. J., and Serna, L. C. (2019). Review of Lactobacillus in the food industry and their culture media. *Rev. Colomb. Biotechnol*. 21(2): 63-76. doi: 10.15446/rev.colomb.biote.v21n2.81576.

Slizewska, K., and Chlebicz-wojcik, A. (2020). Growth Kinetics of Probiotic *Lactobacillus* Strains in the Alternative, Cost-Efficient Semi-Solid Fermentation Medium. *Biology*. 9: 423. 10.3390/biology9120423

Wachid, M., Nurinbaity, Y., Harini, N., Saati, E. A., and Wahyudi, V. A. (2021). Formulation of alternative media from cassava, banana, and whey for *Lactobacillus bulgaris*. *J. Teknol*. dan *Industri Pangan*. 32 (1): 52-29. doi: 10.6066/jtip.2021.32.1.52.

ANALISIS HISTOLOGI ORGAN HATI TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*) YANG TERINFEKSI *Salmonella typhi* TERHADAP PEMBERIAN PERASAN BUAH KERSEN (*Muntingia calabura L*)

Ni'matul Murtafi'ah[1] * . Aziz Ansori Wahid[1] * . Nabilla Agustin[1]

[1] **Prodi DIII Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Kesehatan, Institut Kesehatan Rajawali, Jawa Barat, Indonesia**

E-mail: nbillaagstn@gmail.com
No Tlp WA: 0882-1014-6194

Abstract

Salmonella typhi infection causes typhus, a disease characterized by high fever and diarrhea. *The cherry (Muntingia calabura L)* is a traditional plant that is safe and has no side effects as an alternative treatment for typhus. To analyze the histology of the liver organs of Wistar rats infected with Salmonella typhi after being given cherry juice. This experimental study used a true experimental design. This study consisted of two groups. One group received treatment, the other group received no treatment. The results of the histopathological description of the liver organ showed no damage in P0, while mild cell damage occurred in P1 infected with *Salmonella typhi* and administration of cherry juice with concentrations of 3%, 7% and 31% resulted in the same damage, namely parenchymatous degeneration. Cherry juice is effective in curing typhoid fever but is not effective in curing liver damage because it has the same damage score and there is no difference.

***Keywords**: Kersen fruit juice (Muntingia calabura L), Rattus norvegicus, Salmonella typhi.*

Abstrak

Infeksi *Salmonella typhi* menyebabkan penyakit tipes yang ditandai dengan demam tinggi dan diare. Tanaman buah kersen (Muntingia calabura L) salah satu tanaman tradisional yang aman digunakan tanpa efek samping sebagai pengobatan alternatif untuk penyakit tipes. Untuk menganalisis secara histologi organ hati tikus wistar yang terinfeksi *Salmonella typhi* terhadap pemberian perasan buah kersen. Penelitian eksperimen dengan menggunakan desain penelitian true eksperimental. Desain penelitian ini terdapat dua kelompok. Kelompok pertama diberi perlakuan dan kelompok yang lain tidak diberi perlakuan. Hasil gambaran histopatologi organ hati, tidak terjadi kerusakan pada P0, sedangkan terjadi kerusakan sel ringan pada P1 yang terinfeksi *Salmonella typhi* dan pemberian perasan buah kersen dengan konsentrasi 3%, 7% dan 31% terjadi kerusakan yang sama yaitu degenerasi parenkimatosa. Perasan buah kersen efektif dalam penyembuhan peyakit demam tifoid tetapi tidak efektif dalam penyembuhan kerusakan organ hati dikarenakan memiliki skor kerusakan yang sama dan tidak ada perbedaan.

Kata Kunci: Perasan buah Kersen (*Muntingia calabura L), Rattus* norvegicus, *Salmonella typhi.*

PENDAHULUAN

Salmonella typhi adalah bakteri gram negatif berbentuk batang yang dilengkapi dengan flagel peritrik, bersifat anaerob fakultatif, tidak mempunyai spora. Bakteri ini dapat menginfeksi manusia melalui konsumsi makanan atau

minuman yang terkontaminasi. Setelah bakteri ini masuk ke dalam tubuh manusia, seringkali bakteri tersebut menetap di kandung empedu, saluran empedu, atau uretra sehingga menjadikan penderitanya sebagai pembawa penyakit dalam jangka waktu yang lama. Infeksi *Salmonella typhi* menyebabkan penyakit tipes yang ditandai dengan demam tinggi dan diare (Imara, 2020).

Demam tifoid merupakan penyakit menular sistemik. Demam tifoid dikenal dengan sebutan demam enterik dan sering disebut dengan penyakit tipes. Demam tifoid adalah penyakit serius pada sistem retikuloendotelial, saluran empedu, dan kandung empedu. Tempat infeksi tifoid terjadi di usus halus, terutama daerah ileocecal. Gejala demam tifoid antara lain kehilangan nafsu makan, kelemahan, nyeri otot, sakit kepala, batuk, bradikardia (detak jantung cepat), dan sembelit (Tobing, 2022). Masa inkubasi demam tifoid biasanya 1 hingga 3 minggu, namun bisa juga 3 hari atau 3 bulan. Waktu inkubasi bervariasi tergantung pada jenis strain dan jumlah bakteri serta inang (Imara, 2020).

Hepar atau hati merupakan kelenjar yang berhubungan dengan sistem pencernaan dan merupakan kelenjar terbesar dalam tubuh. Fungsinya untuk memfagosit benda asing oleh sel Kupffer, memproduksi empedu, mengemulsi lemak dalam makanan, membantu pencernaan, dan membuat makanan lebih mudah diserap oleh epitel usus, menghasilkan protein plasma dan menyimpan karbohidrat dalam bentuk glikogen. Beberapa faktor dapat menyebabkan organ hati rentan mengalami kerusakan, salah satunya adalah stres oksidatif. Stres oksidatif adalah kondisi di mana terdapat ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan, yang membantu mempertahankan kondisi terhadap kerusakan jaringan yang terjadi (Dewi et al., 2022).

Kerusakan jaringan organ hati yang disebabkan oleh obat dapat bersifat permanen (irreversibel), yaitu nekrosis, atau sementara (reversibel). Karena perubahan dalam sintesis protein, metabolisme lain pada hati, dan aliran darah ke hati, yang mengganggu metabolisme lemak. Perubahan yang tidak dapat diperbaiki disebut nekrosis sel terdiri dari tanda hepatosit yang tidak dapat kembali ke bentuk awal yang normal (Gunawan et al., 2024).

Tanaman buah kersen (*Muntingia calabura L*) adalah salah satu jenis tanaman yang menghasilkan senyawa kimia. Diketahui bahwa buah kersen mengandung banyak zat antioksidan, seperti terpenoid, tanin, saponin dan flavonoid. Tujuan dari senyawa antioksidan ini adalah untuk melindungi sel hati dari kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas dengan flavonoid sebagai senyawa aktif yang dominan (Orno, 2023).

Tanaman buah kersen (*Muntingia calabura L*) adalah salah satu tanaman yang memiliki banyak manfaat bagi kesehatan, seperti mencegah penyakit dan meningkatkan sistem imun. Buah kersen, yang kaya akan vitamin, mineral, dan senyawa lainnya, sangat bermanfaat untuk kesehatan, Selain berfungsi sebagai prebiotik dan probiotik, buah kersen memiliki senyawa antibakteri yang membantu tubuh mencegah infeksi saluran pencernaan yang disebabkan oleh bakteri patogen seperti *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Giyatno et al, 2021) Tanaman buah kersen (*Muntingia calabura L)* adalah salah satu tanaman tradisional yang aman digunakan tanpa efek samping sebagai pengobatan alternatif untuk penyakit tipes (Molina et al., 2023).

Berdasakan uraian tersebut maka perlu dilakukan penelitian mengenai analisis histologi organ hati tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang terinfeksi *Salmonella typhi* terhadap pemberian perasan buah kersen (*Muntingia calabura L)*.

BAHAN DAN METODE

METODE

Penelitian eksperimen dengan menggunakan desain penelitian true eksperimental. Desain penelitian ini terdapat dua kelompok. Kelompok pertama diberi perlakuan dan kelompok yang lain tidak diberi perlakuan. Kelompok yang diberi perlakuan disebut kelas eksperimen dan kelompok yang tidak diberi perlakuan disebut kelompok kontrol (Oktavianingsih dkk., 2025). Rancangan penelitian ini digunakan untuk menganalisis histologi organ hati tikus wistar (*Rattus nvegicus*) yang terinfeksi *Salmonella typhi* terhadap pemberian perasan buah kersen (*Muntingia calabura L*) dengan konsentrasi yang berbeda.

Hewan uji dikelompokkan dalam 5 kelompok yaitu kontrol negatif, kontrol positif dan pemberian perasan buah kersen dan BAL dengan konsentrasi 3%, 7% dan 31%.

VARIABEL PENELITIAN

Variabel penelitian dapat dibagi menjadi dua yaitu Variabel independen dan dependen.

A. Variabel independen

Variabel indenpenden atau variabel bebas adalah variabel yang mempengaruhi atau yang menjadi sebab perubahanya atau timbulnya dependen (terikat) (Tusholillah et al., 2019). Variabel indenpenden yang digunakan dalam penelitian ini adalah pemberian perasan buah kersen untuk menurunkan demam tifoid.

B. Variabel dependen

Variabel dependen atau variabel terikat adalah variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat, karena adanya variabel bebas (Tusholillah et al., 2019). Variabel dependen yang digunakan dalam penelitian ini adalah gambaran histologi organ hati tikus wistar pada pewarnaan HE.

SAMPEL PENELITIAN

Sampel dalam penelitian ini adalah tikus wistar (*Rattus nvegicus*) dengan berat badan 150-180 gram dan dalam kondisi sehat. Tikus wistar yang digunakan sebanyak 23 ekor dan dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan.

TEKNIK SAMPLING

Teknik sampling yang digunakan pada penelitian adalah random sampling. Random sampling adalah metode penelitian untuk memilih sampel dari kelompok yang diperlukan ketika objek penelitian atau daerah penelitian sangat luas, sehingga populasi perlu dibagi menjadi beberapa kelompok. Kemudian memilihnya secara acak dari masing-masing kelompok (Pramesti dkk., 2025).

PENGUMPULAN DATA

Teknik pengumpulan data merupakan jenis data yang paling utama dalam penelitian, karena tujuan utama penelitian adalah mendapatkan data primer. Data primer merupakan data yang diperoleh atau dikumpulkan langsung oleh peneliti dari sumber datanya (Fadilla et al., 2023). Data primer tersebut meliputi data hasil pemeriksaan laboratorium. Dalam hal ini data diperoleh dari hasil analisis histologi organ hati tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang terinfeksi *Salmonella typhi* terhadap pemberian perasan buah kersen (*Muntingia calabura L)*.

ALAT DAN BAHAN

Alat-alat yang digunakan Menurut Standar Operasional Laboratorium Biopath adalah mikroskop (pro histo biological pro A31w), handscoon streril (nitrile), pinset (one med), pisau bedah (GEA medical), baki paraffin (dissect pan with wax), jarum pentul (pearl head pins), kaset (indopath), objek glass (one lab), deck glass (aurona), oven (memmert), waterbath (b-one digital), labeling (carvilla), microtom (hisyamed), pisau mikcrotom (erma kai), beaker glass 250 ml (pyrex), hotplate (joan lab), stainning jar (one med), disposable syringe 1 ml (onemed).

Bahan-bahan yang digunakan Menurut Standar operasional Laboratorium Biopath adalah injeksi ketamine, pakan tikus (citra feed), buffer formalin 10%, alkohol 70% (brataco), alkohol 80% (brataco), alkohol 96% (brataco), ethanol 1 (smart lab), ethanol 2 (smart lab), xylo1 (smart lab), xylol 2 (smart lab), lithium /blueing, akuades, hematoxylin (J.T.Baker), eosin (J.T.Baker), entelan (merck), paraffin 1 (indopath), paraffin 2 (indopath).

PROSEDUR PENELITIAN

Penelitian ini diawali dengan persiapan hewan uji berupa tikus wistar jantan (Rattus norvegicus) sebanyak 23 ekor dengan umur 2–3 bulan dan berat badan 150–180 gram. Hewan uji terlebih dahulu diaklimatisasi selama tujuh hari untuk menyesuaikan diri dengan lingkungan baru, diberi makan dan minum ad libitum, serta dijaga kebersihan kandang dengan mengganti sekam kayu setiap tiga hari sekali. Setelah itu, tikus dibagi ke dalam lima kelompok perlakuan,

yaitu kelompok kontrol negatif, kontrol positif, serta kelompok yang diberi perasan buah kersen dengan konsentrasi 3%, 7%, dan 31%.

Tahapan berikutnya adalah pembedahan tikus untuk pengambilan organ hati. Tikus dianestesi menggunakan injeksi ketamin 1% dengan dosis 0,2 ml yang diberikan pada bagian paha hingga hewan tidak sadar. Selanjutnya, tikus diletakkan di atas baki parafin dengan keempat kaki dipasang jarum pentul agar tidak bergerak, kemudian dilakukan insisi mulai dari perut bawah hingga dada menggunakan pisau bedah. Organ hati yang telah diambil dimasukkan ke dalam kaset berlabel, lalu difiksasi dalam larutan buffer formalin 10% selama 12–24 jam.

Pembuatan preparat histologi dilakukan melalui beberapa tahap. Sampel terlebih dahulu dilabeli, kemudian difiksasi dalam buffer formalin 10% selama 12 jam untuk mempertahankan jaringan. Selanjutnya, dilakukan proses dehidrasi dengan perendaman bertahap dalam alkohol 70%, 80%, 96%, serta etanol, kemudian dibeningkan menggunakan xylol dan dilanjutkan dengan impregnasi parafin cair. Blok parafin yang terbentuk dipotong menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4 µm, pita parafin dirapikan di waterbath, ditempelkan pada kaca objek, dikeringkan, dan siap untuk pewarnaan.

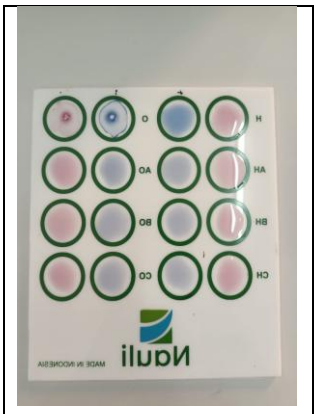
Tahapan pewarnaan histologi dilakukan dengan metode Hematoxylin-Eosin (HE). Preparat jaringan terlebih dahulu direndam dalam xylol, kemudian melalui seri perendaman etanol bertingkat hingga dicuci dengan akuades. Jaringan kemudian diwarnai dengan hematoksilin selama lima menit, dicuci dengan air mengalir, dilanjutkan dengan perendaman dalam larutan lithium/blueing, kemudian dicelup dalam eosin. Setelah itu, preparat kembali melalui dehidrasi bertingkat dalam alkohol, dilanjutkan perendaman dalam etanol dan xylol. Terakhir, preparat ditetesi entelan, ditutup dengan kaca penutup, dan dikeringkan sehingga siap diamati di bawah mikroskop.

ANALISIS DATA

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif untuk memberikan pemahaman yang jelas mengenai gambaran histologi pada tikus setelah induksi dan setelah pemberian perasan buah kersen pada organ hati.

HASIL

Berdasarkan hasil uji Widal secara kualitatif terhadap tikus Wistar yang telah diinduksi dengan bakteri *Salmonella typhi*, didapatkan hasil positif yang terbentuknya aglutinasi pada minggu ke 2 dengan kelompok 1 terbentuk titer 1/80, kelompok 2 terbentuk titer 1/160 dan kelompok 3 terbentuk titer 1/320.



Positif

Gambar 1. Hasil pengamatan makroskopis pemeriksaan widal pada tikus yang terinfeksi *Salmonella typhi*

Berdasarkan hasil pengamatan pemberian perasan buah kersen terhadap tikus yang terinfeksi *Salmonella typhi* didapatkan hasil negatif yang dimana tidak terbentuk aglutinasi di hari ke 25. Dapat dilihat pada gambar 4.2.



Negatif

Gambar 2 Hasil pengamatan makroskopis pemeriksaan widal pada tikus yang diberi perasan buah kersen

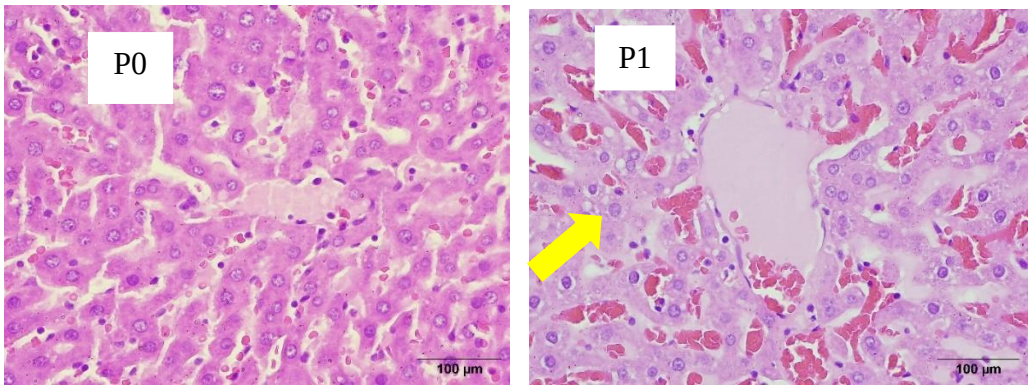
Berdasarkan hasil skoring penilaian gambaran preparat Histopatologi Organ Hati Tikus Wistar dengan perlakuan Kontrol Negatif, Kontrol Positif dan

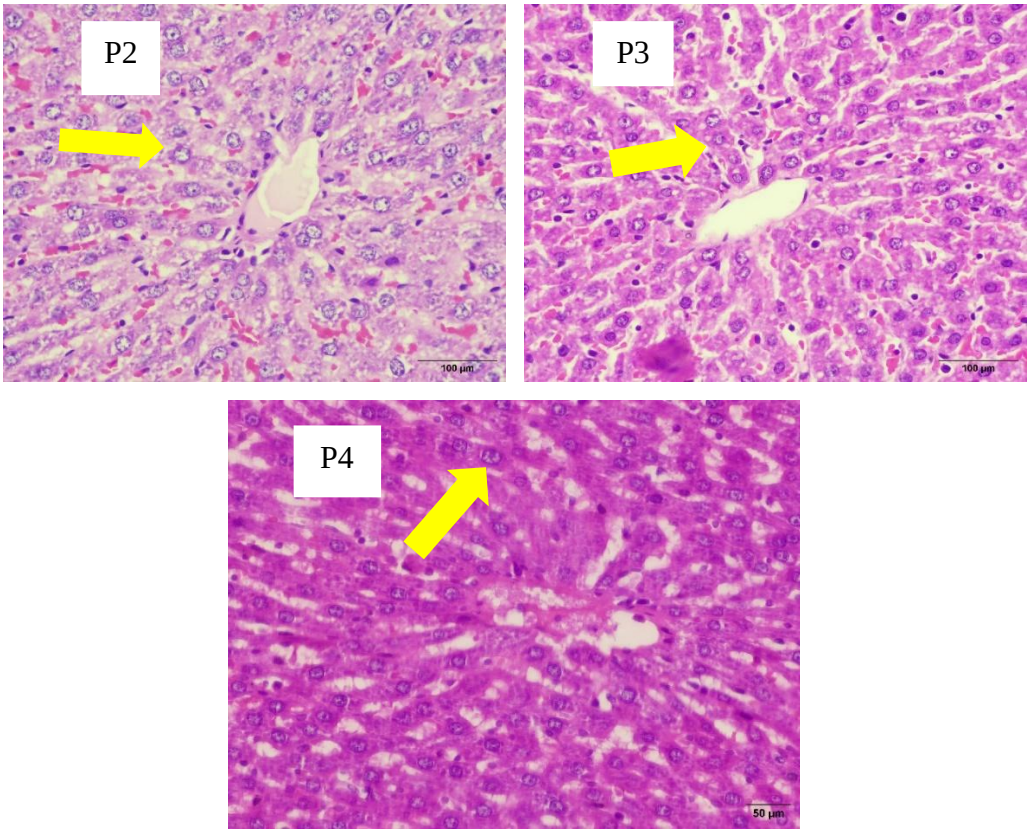
Pemberian Perasan Buah Kersen dengan Konsentrasi 3%, 7% dan 31% selama 25 hari dapat dilihat pada Tabel 4.1 dibawah ini.

Tabel 1. Hasil Skoring Penilaian Gambaran Preparat Histopatologi Organ Hati Tikus Wistar dengan perlakuan Kontrol Negatif, Kontrol Positif Dan Pemberian Perasan Buah Kersen dengan Konsentrasi 3%, 7% dan 31% Selama 25 hari.

Perlakuan	Normal	Degenerasi Parenkimatosa	Degenerasi Hidropik	Nekrosis	Rata-rata skor
P0 (kontrol -)	0	0	0	0	0
P1 (kontrol +)	0	1	0	0	1
P2 (3%)	0	1	0	0	0,8
P3 (7%)	0	1	0	0	0,4
P4 (31%)	0	1	0	0	0,4

Pada tabel 4.1 dapat dilihat bahwa pada P0 (kontrol negatif) organ hati memiliki rata-rata skor 0 yang dimana tidak terjadi kerusakan, pada P1 (kontrol positif) memiliki rata-rata skor 1 yang menunjukkan adanya kerusakan degenerasi parenkimatosa, pada P2 (3%) memiliki rata-rata skor 0,8 menunjukkan sedikit menurunkan tingkat kerusakan hati, sedangkan pada P3 (7%) dan P4 (31%) memiliki rata-rata skor 0,4. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian perasan buah kersen terutama pada konsentrasi 7% dan 31% mampu menurunkan tingkat kerusakan hati. Untuk hasil gambar pengamatan preparat histopatologi organ hati tikus wistar (*Rattus novergicus*) pada pemberian perasan buah kersen dengan konsentrasi 3%, 7% dan 31% dapat dilihat pada gambar 4.3 dibawah ini.





Gambar 3. Hasil Pengamatan Preparat Histologi Organ Hati Tikus Wistar (Rattus novergicus) Dengan Pewarnaan Hematoxylin Eosin Perbesaran 40x Menggunakan Mikroskop Pro Histo Biological Microscope Pro 31W

Keterangan:

P0 (Kontrol Negatif): Normal Tidak Ada Kerusakan

P1 (Kontrol Positif): Degenerasi Parenkimatosa

P2 (Konsentrasi 3%): Degenerasi Parenkimatosa

P3 (Konsentrasi 7%): Degenerasi Parenkimatosa

P4 (Konsentrasi 31%): Degenerasi Parenkimatosa

Pada gambar hasil penelitian histopatologi organ hati tikus wistar (*Rattus novergicus*) pada P0 tidak terjadi kerusakan, pada gambar P1 yang diberikan injeksi bakteri *Salmonella typhi* terdapat kerusakan degenerasi parenkimatosa yang dimana termasuk degenerasi paling ringan, Sedangkan pada perlakuan yang telah diberi pengobatan perasan buah kersen dengan konsentrasi berbeda pada organ hati P2, P3 dan P4 terjadi kerusakan degenerasi parenkimatosa dimana kerusakan tersebut sama dengan P1.

Hasil penelitian ini menunjukkan terjadi kerusakan pada sel hepatosit yang ditandai dengan adanya kerusakan degenerasi parenkimatosa yang terlihat pada sitoplasma mengalami pembengkakan dan lebih pucat kemudian terdapat vakuola berisi air yang menyebabkan sitoplasma seperti bergelembung atau bergranula pada kelompok kontrol positif, perlakuan konsentrasi 3%, 7% dan 31%. Hal ini menunjukan bahwa pemberian bakteri *Salmonella typhi* dan perasan buah kersen dapat mempengaruhi kerusakan organ hati secara ringan (Kurniawan et al., 2024).

DISKUSI

Uji Widal yang digunakan dalam penelitian ini bersifat kualitatif, dengan prinsip aglutinasi antara antigen O dan H dari S. typhi dengan antibodi spesifik dalam serum tikus. Reaksi aglutinasi yang terbentuk menunjukkan adanya antibodi yang telah terbentuk sebagai respons terhadap infeksi. Semakin tinggi titer yang diperoleh, semakin besar kemungkinan bahwa infeksi aktif sedang berlangsung atau bahwa tubuh telah membentuk antibodi dalam jumlah besar.

Dengan demikian, hasil uji Widal dalam penelitian ini dapat digunakan sebagai indikator awal keberhasilan induksi dan pembentukan antibodi, namun tetap perlu didukung oleh metode konfirmasi untuk meningkatkan akurasi diagnosis.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada kelompok yang terinfeksi *Salmonella typhi* P1 serta kelompok perlakuan dengan perasan buah kersen konsentrasi 3%, 7%, dan 31% dengan gambar P2, P3 dan P4 terjadi kerusakan histologi hati berupa degenerasi parenkimatosa. Degenerasi ini menandakan adanya kerusakan ringan dan bersifat *reversibel* yang dipicu oleh stres oksidatif akibat infeksi bakteri. Infeksi *Salmonella typhi* diketahui meningkatkan produksi radikal bebas (ROS) dan menurunkan aktivitas enzim antioksidan endogen, sehingga hati rentan mengalami kerusakan struktur sel (Nadiroh et al., 2022).

Pada gambar 4.3 dapat dilihat histologi organ hati memiliki struktur pembuluh darah yang cukup jelas dibagian tengah yaitu disebut vena sentralis. Vena sentralis bertujuan sebagai tempat pengumpulan darah dari sinusoid hati

yang berasal dari cabang vena porta dan arteri hepatika. Pada pengamatan histologi penting untuk memperhatikan kondisi vena sentralis sebelum melakukan pengamatan, karena hal ini dapat membantu dalam mengindentifikasi aliran darah, distribusi hepatosit, serta perubahan patologis yang mungkin ada di area sekitar lobulus (Istiqomah et al., 2025).

Adapun hasil pengamatan gambaran preparat histologi organ hati pada P0 menunjukkan hasil histologi yang normal tidak ada kerusakan. Hepatosit tersusun rapi dengan inti sel yang jelas, dan tidak terlihat adanya pembengkakan atau vakuolisasi. Sinusoid hati juga terlihat jelas diantara hepatosit tanpa adaya penyempitan maupun perdarahan (Situmorang et al., 2025). Sedangkan pada P1, P2, P3, dan P4 terjadi kerusakan degenerasi parenkimatosa, dimana memiliki gambaran kerusakan inti yang relatif sama, ditandai dengan inti sel yang masih jelas, namun mengalami perubahan pembengkakan sitoplasma inti lebih samar. Inti sel tidak hilang tetapi strukturnya terlihat kurang jelas akibat adanya kekeruhan sitoplasma. Kondisi ini menunjukkan kerusakan yang terjadi masih bersifat ringan dan *reversibel* (Zahidah et al., 2025). Berikut rata-rata skor kerusakan pada setiap perlakuan.

Adapun rata-rata skor kerusakan pada setiap perlakuan dapat dilihat pada tabel 4.1 diatas. Berdasarkan hasil rata-rata skor kerusakan gambaran histopatologi hati tikus Wistar, P0 **k**ontrol (-) menunjukkan skor rata-rata 0 yang berarti tidak terdapat kerusakan. Perlakuan yang terinfeksi *Salmonella typhi* P1 kontrol (+) memiliki skor rata-rata tertinggi yaitu 1 menandakan adanya kerusakan degenerasi parenkimatosa paling jelas. Pada perlakuan dengan perasan buah kersen, terlihat bahwa konsentrasi 3% memiliki skor rata-rata 0,8, sedangkan konsentrasi 7% dan 3,1% masing-masing menunjukkan skor rata-rata 0,4**.** Hasil ini menandakan bahwa pemberian perasan buah kersen terutama pada konsentrasi 7% dan 3,1% dapat menurunkan tingkat kerusakan hati yang terinfeksi *Salmonella typhi*.

Kerusakan hati akibat radikal bebas seharusnya bisa dikurangin dengan keberadaan antioksidan. Antioksidan bekerja dengan menetralisir radikal bebas (ROS) dan menghentikan rantai reaksi oksidasi lipid yang merusak membran sel

(Dewi et al., 2022). Flavonoid merupakan antioksidan alami, memiliki efek hepatoprotektif melalui mekanisme pengikatan radikal bebas dan penghambatan peroksidasi lipid (Syahfitri et al., 2025). Buah kersen (*Muntingia calabura L*) kaya akan flavonoid, tanin, saponin, serta vitamin C yang memiliki aktivitas antioksidan, antimikroba dan antiinflamasi (Silviani et al., 2022).

Namun, dalam penelitian ini perasan buah kersen pada konsentrasi 3%, 7%, dan 31% belum menunjukkan efek protektif yang signifikan terhadap histologi hati, terlihat dari skor kerusakan yang sama dengan kelompok kontrol positif. Hal ini diduga berkaitan dengan konsentrasi dan lama pemberian yang belum optimal. Penelitian lain melaporkan bahwa efek hepatoprotektif buah kersen sangat dipengaruhi oleh konsentrasi flavonoid yang cukup tinggi serta durasi pemberian yang memadai (Molina et al., 2023). Dengan demikian, meskipun buah kersen memiliki potensi antioksidan yang mampu melindungi hati, penelitian lanjutan dengan variasi konsentrasi dan metode ekstraksi yang berbeda diperlukan untuk mengeksplorasi manfaat optimalnya.

Hal ini dapat membuktikan bahwa *Salmonella typhi* bisa menyebabkan kerusakan organ Hati Tikus Wistar (*Rattus novergicus*) yang menyebabkan kerusakan ringan. Pada pemberian perasan buah kersen dengan konsentrasi 3%, 7% dan 31% menunjukkan kerusakan ringan sama dengan yang terinfeksi *Salmonella typhi*. Hal ini menandakan bahwa meskipun perasan buah kersen memiliki kandungan antioksidan seperti flavonoid, saponin, dan tanin, tetapi konsentrasi dan durasi pemberian yang digunakan dalam penelitian ini belum cukup memberikan efek protektif terhadap sel hati. Berdasarkan dari hasil yang didapat menunjukkan bahwa perasan buah kersen lebih efektif untuk penyembuhan penyakit demam tifoid tetapi tidak efektif dalam penyembuhan kerusakan pada organ hati, karena memiliki skor kerusakan yang sama.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa Infeksi Salmonella typhi pada tikus wistar menimbulkan kerusakan hati berupa degenerasi parenkimatosa ringan. Pemberian perasan buah kersen konsentrasi 3% dan 7% belum menunjukkan efek protektif signifikan terhadap hati. Pada konsentrasi

31%, perasan kersen berpotensi menurunkan gejala tifoid secara klinis, namun tetap tidak efektif memperbaiki kerusakan histologi hati.

UCAPAN TERIMAKASIH

Kepada ibu Ni'matul Murtafi'ah, S.Pd., M.Sc. Selaku dosen yang membimbing jalanya penelitian ini juga kepada kampus Institut Kesehatan Rajawali yang telah menyediakan fasilitas dalam menunjang penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan bahwa tidak terdapat konflik kepentingan dalam penelitian ini. Seluruh proses penelitian dilakukan secara independen.

REFERENSI

Dewi, N. D. M. A., Wiratmini, N. I., & Sudirga, S. K. (2022). Gambaran histologi hati dan ginjal mencit (Mus musculus L.) yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl4) setelah pemberian ekstrak daun sirsak (Annona muricata L.). *Jurnal Biologi Udayana*, *26*(1), 21. https://doi.org/10.24843/jbiounud.2022.v26.i01.p03

Fadilla et al. (2023). Literature Review Analisis Data Kualitatif: Tahap Pengumpulan Data. *Mitita Jurnal Penelitian*, *1*(No 3), 34–46.

Giyatno et al. (2021). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida dari Buah Kersen (Muntingia calabura L.). *Jurnal Sains Dasar*, *9*(2), 42–49. https://doi.org/10.21831/jsd.v9i2.34523

Gunawan, Y. E., Priyadi, M., Citrariana, S., Saputra, R. R., Decenly, D., Fauziah, A. R., Febrianto, Y., & Suprayogi, T. (2024). Gambaran Histopatologi Hati dan Ginjal Mencit (Mus musculus) Setelah Pemberian Ekstrak Daun Bajakah Kalalawit (Uncaria gambir Roxb.). *Jurnal Pharmascience*, *11*(2), 227. https://doi.org/10.20527/jps.v11i2.17733

Imara, F. (2020). Salmonella typhi Bakteri Penyebab Demam Tifoid. *Prosiding Seminar Nasional Biologi Di Era Pandemi COVID-19*, *6*(1), 1–5. http://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/psb/

Istiqomah et al. (2025). *Pengaruh Toksisitas Subkronik Ekstrak Etanol Rimpang Pacing (Costus speciosus) terhadap Fungsi Hati pada Tikus*. 24–35.

Kurniawan, A., Irrramah, M., & Tofrizal. (2024). Pengaruh Pemberian Larutan Iodium Terhadap Gambaranhistologi Otot Jantung Tikus Yang Diinduksi Timbal Asetat. *Jurnal Pendidikan Sosial Dan Humaniora*, *3*(4), 5062–5074.

Molina et al. (2023). UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BUAH KERSEN (Muntingia calabura L.) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI Salmonella

typhi SECARA IN VITRO. *JBIOEDRA : Jurnal Pendidikan Biologi*, *01*(01), 37–43.

Nadiroh et al. (2022). The Effects of Japanese Papaya Leaf Extract on Cholesterol Levels, Morphometry, and Liver Histology of Hypercholesterolemic Mice. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, *11*(1), 101–112. https://journal.unesa.ac.id/index.php/lenterabio/index

Orno, T. G. (2023). EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN KERSEN (Muntingia Calabura) TERHADAP PROFIL HISTOLOGI HEPAR TIKUS DIABETES. *Meditory : The Journal of Medical Laboratory*, *11*(1), 17–24. https://doi.org/10.33992/meditory.v11i1.2403

Silviani et al. (2022). Pengembangan RUTF (Ready To Use Therapeutic Food) Berbahan Serealia dan Kedelai Bagi Balita Malnutrisi Akut Berat. *Media Gizi Indonesia (National Nutrition Journal)*, *17*(1), 11–20. https://e-journal.unair.ac.id/MGI/article/view/27651

Situmorang et al. (2025). *BIO-CONS : Jurnal Biologi dan Konservasi Penyakit hati merupakan salah satu penyakit yang menjadi masalah nasional di Indonesia dan di negara-negara berkembang pada umumnya bahkan merupakan permasalahan serius di negara-negara maju (Rohmatin et al ., 201*. *7*(1).

Syahfitri et al. (2025). PENGARUH EKSTRAK DAUN SALAM ()Syzygium polyanthum() TERHADAP HATI TIKUS PUTIH (Rattus norvegicus) YANG DIINDUKSI KADMIUM KLORIDA. *Jurnal Biologi Makassar*, *10*, 79–91.

Tobing. (2022). Demam Tifoid. *Journal of Indonesian Medical Laboratory and Science*, *3*(1), 27–37.

Tusholillah et al. (2019). Pengaruh Motivasi Dan Disiplin Kerja Terhadap Kinerja Karyawan. *Jurnal Ekonomi, Bisnis & Entrepreneurship*, *13*(1), 35–47. https://doi.org/10.55208/73vym875

ANALISIS FAKTOR LINGKUNGAN KERJA PADA PENDERITA PENYAKIT LEPTOSPIROSIS DI WILAYAH KECAMATAN PAJANGAN BANTUL

Mayasyah Adelia Putri[1*] · Baiq Syakila Lilia Rahma[1] · Hanifah Nurul Azmi[1] · Suparyati[2]

[1] D4 Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta, Indonesia
[2] Laboratorium Puskesmas Pajangan

E-mail : hanifahnurul.azmi@unisayogya.ac.id
No Tlp WA : 081227438093

Abstract

Leptospirosis is a zoonotic disease caused by Leptospira bacteria that is transmitted through direct or indirect contact with the urine of infected animals, especially rats. This disease often occurs in tropical regions with high rainfall, including Indonesia. This study aims to analyze occupational factors in leptospirosis patients in the Pajangan District, Bantul. This study is a case study using secondary data from the Pajangan Community Health Center for the period 2020–2025. The analysis was based on gender, age, occupation, and patient condition. The results showed that of the 39 respondents, 30 (76.9%) were male, with the most common occupation being farmer, namely 27 people (69.2%). The age group most infected was 51–55 years old, with 7 people (17.9%). Based on clinical conditions, 36 patients (92.3%) were declared cured, while 3 patients (7.7%) died. Workplace environmental factors such as frequent contact with rice paddy water contaminated with rat urine and low use of personal protective equipment increase the risk of transmission. In conclusion, leptospirosis predominantly affects productive-aged males working in the agricultural sector, and recovery rates are high when diagnosis and treatment are prompt and appropriate.
***Keywords** : Leptospirosis, environmental factors, occupation, farmers*

Abstrak

Leptospirosis merupakan penyakit zoonosis yang disebabkan oleh bakteri *Leptospira* yang ditularkan melalui kontak langsung maupun tidak langsung dengan urine hewan terinfeksi, terutama tikus. Penyakit ini sering terjadi di wilayah tropis dengan curah hujan tinggi, termasuk Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis faktor lingkungan kerja pada penderita leptospirosis di wilayah Kecamatan Pajangan, Bantul. Jenis penelitian ini adalah studi kasus dengan menggunakan data sekunder dari Puskesmas Pajangan periode tahun 2020–2025. Analisis dilakukan berdasarkan jenis kelamin, umur, pekerjaan, dan kondisi pasien. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 39 responden, sebanyak 30 orang (76,9%) adalah laki-laki, dengan pekerjaan terbanyak sebagai petani yaitu 27 orang (69,2%). Kelompok umur yang paling banyak terinfeksi adalah 51–55 tahun sebanyak 7 orang (17,9%). Berdasarkan kondisi klinis, sebanyak 36 pasien (92,3%) dinyatakan sembuh, sedangkan 3 pasien (7,7%) meninggal dunia. Faktor lingkungan kerja seperti seringnya kontak dengan air sawah yang terkontaminasi urin tikus serta rendahnya penggunaan alat pelindung diri meningkatkan risiko penularan. Kesimpulannya, leptospirosis lebih banyak menyerang laki-laki usia produktif yang bekerja di sektor pertanian, dan tingkat kesembuhan tinggi apabila mendapatkan diagnosis serta penanganan yang cepat dan tepat.
Kata Kunci : *Leptospirosis, Faktor Lingkungan, Pekerjaan, Petani*

PENDAHULUAN

Pada tahun 2021, terdapat 734 kasus leptospirosis yang dilaporkan di Indonesia dari delapan provinsi, yaitu DKI Jakarta, Jawa Barat, Jawa Tengah, Yogyakarta, Jawa Timur, Banten, Kalimantan Utara, dan Kalimantan Timur. Dari jumlah tersebut, terdapat 84 kasus yang menyebabkan kematian dengan *Case Fatality Rate (CFR)* sebesar 11,4%. Jumlah kasus leptospirosis pada tahun 2021 menurun dibandingkan tahun 2020, yang sebelumnya mencapai 1.170 kasus. Namun, *CFR* meningkat dari 9,1% menjadi 11,4%. Provinsi Jawa Timur, Banten, Kalimantan Utara, dan Kalimantan Timur melaporkan peningkatan jumlah kasus. Sementara itu, penurunan kasus yang signifikan terjadi di DKI Jakarta, Jawa Barat, Jawa Tengah, dan Yogyakarta. Meskipun menunjukkan penurunan, Jawa Tengah tetap melaporkan kasus yang tinggi pada tahun 2021. Jawa Timur dan Jawa Tengah menjadi dua provinsi dengan kontribusi terbesar kasus, masing-masing sebesar 42,5% dan 36,1% (Purnama et al, 2022).

Leptospirosis adalah penyakit zoonosis yang disebabkan oleh infeksi bakteri berbentuk spiral dari genus Leptospira yang bersifat patogen, yang dapat ditularkan secara langsung dan tidak langsung dari hewan ke manusia. Bakteri *Leptospira* memiliki dua lapis membran, bentuk spiral, lentur, tipis dengan tebal 0,1 µm dan panjang 10-20 µm. Pada kedua ujungnya memiliki alat kait berupa *flagelum periplasmik* (Widjajanti, 2020). Air yang tercemar oleh urine hewan pemeran menjadi media penularan bakteri Leptospira patogen. Leptospira menginfeksi manusia atau hewan lain melalui infiltrasi pada luka terbuka atau selaput lendir. Masa inkubasi Leptospirosis antara 2-30 hari, biasanya rata-rata 5-13 hari. (Phillips, J.A, 2019)

Salah satu faktor yang dapat mempengaruhi terjadinya Leptospirosis yaitu melakukan perilaku hidup bersih (Rahmawati et al., 2023). Dari banyaknya kasus leptospirosis yaitu tidak menggunakan alat pelindung diri (Rahmawati et al., 2023). Penularan leptospira yaitu tanah, lumpur, dan air maka dari itu di perlakukan menerapkan perilaku hidup bersih dan sehat tidak kalah pentingnya menggunakan alat pelindung diri.

Penyakit leptospirosis merupakan penyakit endemis di Indonesia dan negara-negara tropis lainnya, dengan peningkatan kasus meningkat pada musim penghujan. Namun penyakit ini sering tidak diperhatikan dan tidak terdiagnosis. Diagnosis leptospirosis didasarkan pada manifestasi klinis seperti demam tiba-tiba, menggigil, sakit kepala, mialgia, ruam kulit, mual, muntah, konjungtivitis, dan kelelahan (Donaliazarti, 2021). Leptospirosis secara klinis masih *underdiagnosed* karena adanya infeksi subklinis, kesulitan dalam mendiagnosis akibat fasilitas diagnostik dan ketersediaan alat tes yang tidak cukup, atau diagnosis yang keliru sebagai penyakit lain, serta tenaga medis yang kurang familiar dengan gejala leptospirosis. Hal-hal tersebut menyebabkan laporan kasus leptospirosis masih *under-reported* (Rahmawati et al., 2023).

BAHAN DAN METODE

Metode penelitian yang digunakan yaitu metode deskriptif dengan pendekatan *cross sectional*. Variabel independen pada penelitian ini yaitu faktor lingkungan kerja variabel dependen kejadian penyakit Leptospirosis populasi pada penelitian ini yaitu seluruh pasien yang terjangkit leptospirosis kemudian akan melakukan pemeriksaan Leptosprosis pada bulan April 2020 hingga Mei 2025 di Puskesmas Pajangan Bantul. Pemeriksaan Leptospirosis dengan metode *rapid test* di laksanakan di Laboratorium
Pajangan Bantul. Alat dan bahan di siapkan pipet sampel 10 mikron di tambahkan 23 buffer setelah itu inkubasi selama 15 menit dan baca hasilnya.

HASIL

Berdasarkan data yang telah diperoleh di Puskesmas Pajangan pada tahun 2020 hingga 2025 yaitu sebagai berikut :

1. Responden Berdasarkan Jenis Kelamin

Table 1. Responden Berdasarkan Jenis Kelamin

		Jumlah	Persentase %
	Laki-laki	30	76.9%
	Perempuan	9	23.1%
	Total	39	100.0%

Berdasarkkan data responden yang telah diperoleh berdasarkan jenis kelamin dapat disimpulkan bahwa mayoritas pasien adalah dengan penyakit eptospirosis di Puskesmas Pajangan yaitu berjenis kelamin laki- laki yaitu sebanyak 30 pasien dengan presentase 76.9%.

2. Responden Berdasarkan Pekerjaan

Table 2. Responden Berdasarkan Pekerjaan

	Jumlah	Persentase %
Petani	27	69.2%
Peternak	7	17.9%
Buruh	5	12.8%
Total	39	100.0%

Berdasarkan data responden yang telah diperoleh berdasarkan dari pekerjaan pasien dapat disimpulkan bahwa mayoritas pekerjaan yang rentan terjangkit penyakit Leptospirosis di Wilayah Kecamatan Pajangan yaitu petani dengan persentase 69.2 %.

3. Responden Berdasarkan Umur

Table 3. Responden Berdasarkan Usia

	Jumlah	Persentase %
10-15 tahun	1	2.6%
16-20 tahun	1	2.6%
21-25 tahun	1	2.6%
26-30 tahun	1	2.6%
31- 35 tahun	2	5.1%
36- 40 tahun	3	7.7%
41-45 tahun	3	7.7%
46-50 tahun	4	10.3%
51-55 tahun	7	17.9%
56-60 tahun	6	15.4%
61-65 tahun	4	10.3%
66-70 tahun	4	10.3%
71-75 tahun	1	2.6%
1	1	2.6%
Total	39	100.0%

Berdasarkan data responden dengan umur pasien dapat disimpulkan bahwa mayoritas pasien pada penyakit Leptospiros di wilayah Puskesmas Pajangan yaitu di umur 51 – 55 tahun sebanyak 7 pasien dengan presentase

17.9 %, lalu untuk umur 56 - 60 tahun sebanyak 6 pasien dengan urutan ke dua dengan prenstase 15.4%.

DISKUSI

Pertumbuhan populasi berpengaruh terhadap leptospirosis, yaitu penyakit yang dapat menular dari hewan ke manusia, disebabkan oleh bakteri *Spirochaeta leptospira*. Penularan dapat terjadi melalui urin hewan yang terinfeksi, baik secara langsung maupun melalui tanah atau air yang terkontaminasi. Leptospirosis dapat menyebabkan gejala seperti flu yang sembuh sendirinya, namun juga berpotensi menyebabkan masalah kesehatan serius, bahkan dapat berujung pada kegagalan fungsi beberapa organ dengan risiko kematian. Meskipun belum ada data pasti mengenai jumlah kasus di seluruh dunia, perkiraan kejadian penyakit ini berkisar antara 0,1 hingga 1 kasus per 100.000 orang per tahun di daerah beriklim sedang, dan bahkan lebih dari 100 kasus per 100.000 orang per tahun selama epidemik di daerah tropis. (Rakebsa et al., 2018) hasil positif menunjukan garis merah pada daerah test line dan control line, negatif menunjukan garis merah pada daerah control line dan test line, sedangkan hasil invalid tidak akan muncul garis merah pada daerah control line dan test line.

Berdasarakan hasil pada tabel 1 menunjukan bahwa berdasarkan jenis kelamin dapat disimpulkan bawa pasien yang lebih rentan terindikasi Leptospirosis yaitu berjenis kelamin laki laki sebanyak 30 pasien dengan presentase 76.9%. Laki–laki sangat berpotensi terjadinya leptospirosis dikarenakan lebih sering melakukan kegiatan yang berpotensi tertular leptospirosis dan masih kurang peduli terhadap pentingnya menggunakan APD, sebagian besar kasus leptospirosis ini terjadi pada laki-laki. Pada dasarnya laki-laki dan Perempuan memiliki resiko menderita leptospirosis akan tetapi pada umumnya laki-laki lebih beresiko(Purnama et al, 2022)

Berdasarkan table 2 dapat diperoleh hasil bahwa pekerjaan yang paling rentan terkena penyakit leptospirosis berdasarkan pemeriksaan di Puskesmas Pajangan Bantul adalah petani dengan jumlah pasien sebanyak 21 orang dengan presentasi sebesar 69,2%, kemudian disusul dengan profesi peternak dengan

jumlah pasien sebanyak 7 orang dengan presentase sebesar 17,9%, dan terakhir pekerjaan yang rentan terjangkit penyakit leptospirosis adalah buruh dengan jumlah pasien sebanyak 5 orang dengan presentase sebesar 12,8%. Leptospirosis pada umumnya menyerang para petani dan pekerja Perkebunan, yang disebabkan oleh bakteri *leptospira sp* sehingga pada kondisi penyakit ini yang terus meningkat maka dengan kebijakan yang ada bahwa penyakit ini harus dicegah agar tidak menimbulkan wabah(Rahmawati et al., 2023).

Berdasarkan table nomor 3 dapat diperoleh hasil rentan umur yang memiliki potensi terjangkit penyakit leptospirosis cukup luas, dimulai dari umur 10 sampai 75 tahun. Berdasarkan table nomor 3 umur yang paling banyak menderita penyakit leptospirosis adalah umur 51-55 tahun dengan jumlah pasien sebanyak 7 orang dan presentasenya sebesar 17,9%, kemudian umur yang paling banyak menderita penyakit leptospirosis kedua berada direntan umur 56-60 tahun dengan jumlah pasien sebanyak 6 orang dengan presentase sebesar 15,4%. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Prihantoro et al., 2017) umur yang rentan terjangkit penyakit leptospirosis berada diumur lebih dari 40 tahun.

KESIMPULAN

Leptospirosis merupakan penyakit zoonosis yang disebabkan oleh infeksi bakteri yang berbentuk spiral dari genus leptospira yang patogen dan dapat menyerang manusia. Berdasarkan hasil pemeriksaan Leptospirosis pada puskesmas Pajangan Bantul data tersebut diambil pada tahun 2020 sampai 2025 menunjukan bahwa dengan jenis kelamain laki – laki dengan rentang umur 51- 55 tahun lebih rentan terkena peyakit Leptospirosis, kemudian terkait pekerjaan responden dapat di simpulkan bahwa mayoritas pekerjaan yang rentan terjangkit penyakit Leptospirosis di Wilayah Kecamatan Pajangan yaitu Petani 27 responden dengan presentase 69.2 %.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak Puskesmas Pajangan Bantul untuk melakukan pemeriksaan dan pengambilan data hasil pemeriksaan Leptospirosis.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan

REFRENSI

Donaliazarti, D. (2021). Analisis Pemeriksaan Laboratorium Pada Kasus Leptospirosis Disertai Abses Hati Amoeba. *Collaborative Medical Journal (CMJ)*, *3*(3), 131–139. https://doi.org/10.36341/cmj.v3i3.1657

Rakebsa, D., IndrianiC, & Nugroho, W. (2018). *Epidemiologi leptospirosis di Yogyakarta dan Bantul Epidemiology of leptospirosis in Yogyakarta and Bantul*.

Prihantoro, T., Siwiendrayanti, A., Ilmu, J., Masyarakat, K., Keolahragaan, I., Disetujui, D., & D. (2017). Karakteristik Dan Kondisi Lingkungan Rumah Penderita Leptospirosis Di Wilayah Kerja Puskesmas Pegandan. In *JHE* (Vol. 2, Issue 2). http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/jhealthedu/

Phillips, J.A. (2019). *Leptospirosis: Clinical Overview*. Journal/Publisher (SAGE). “Leptospirosis is transmitted through direct contact with the urine … Bacteria enter the body via mucous membranes, conjunctiva, and broken skin. The incubation period for leptospirosis is 2 to 30 days, but symptoms usually start within 5 to 14 days after exposure.”

Purnama, S., & Hartono, B. (2022). *Faktor Risiko Kejadian Leptospirosis Di Indonesia: Literature Review*.

Rahmawati, D., Nurrochmah, S., Mawarni, D., & Ulfah, N. (2023). *Hubungan Antara Karakteristik Demografi dan Sosial Ekonomi dengan Perilaku Pencegahan Penyakit Leptospirosis pada Petani di Kecamatan Pejagoan Kabupaten Kebumen*.

Widjajanti, W. (2020). Epidemiologi, diagnosis, dan pencegahan Leptospirosis. *Journal of Health Epidemiology and Communicable Diseases*, *5*(2), 62–68. https://doi.org/10.22435/jhecds.v5i2.174

EFEKTIFITAS BAKTERI UNTUK DEGRADASI SAMPAH PLASTIK YANG DI ISOLASI DARI TEMPAT PEMBUANGAN AKHIR (TPA) ANTANG KOTA MAKASSAR

Nadia Ramadani Nasibu[1*] · Nuramaniyah Taufiq[1]

[1]DIII Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Teknologi Kesehatan, Universitas Megarezky, Sulawesi Selatan, Indonesia

e-Mail: ramadhaninadia1104@gmail.com
No Tlp WA : 082293634082

Abstract

The waste problem in Indonesia that has not been handled properly until now is the problem of plastic waste, where the high consumption of plastic results in the amount of plastic waste produced continuing to increase every year. This study aims to determine the bacteria that can degrade plastic isolated from the Air Dingin Final Disposal Site (TPA). The method used in this study is that samples were taken from the Air Dingin TPA at several points and then dilution was carried out, then the bacteria were isolated in a petri dish containing NA (nutrient agar) media with the streak method, then incubated for 48 hours, the bacteria that had been grown were purified to obtain more specific bacteria, after being purified, degradation testing was carried out by inserting sterilized and weighed plastic pieces into a petri dish containing bacteria and NA media, the plastic samples used were LDPE (Low Density Polyethylene) and Biodegradable. Based on the research results, two types of purified bacteria were obtained, with a weight reduction of 33% in LDPE plastic samples for bacteria 1 and 3, 11% biodegradation for bacteria 2 and 3, and 55% biodegradation for bacteria 5. The results of the biodegradation test showed a wavy and wrinkled surface of the test sample. It was concluded that the isolated bacterial isolates can degrade plastic.
***Keywords**: Bacteria, isolation, plastic, biodegradation.*

Abstrak

Permasalahan limbah di Indonesia yang sampai saat ini belum tertangani dengan baik adalah permasalahan limbah plastik, dimana tingginya konsumsi plastik mengakibatkan jumlah limbah plastik yang dihasilkan terus meningkat setiap tahunnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bakteri yang dapat mendegradasi plastik yang diisolasi dari Tempat Pembuangan Akhir (TPA) Air Dingin. Metode yang digunakan pada penelitian ini yaitu sampel di ambil dari TPA Air Dingin pada beberapa titik kemudian dilakukan pengenceran, lalu bakteri di isolasi dalam cawan petri yang telah berisi media NA (nutrien agar) dengan metoda streak, kemudian di inkubasi selama 48 jam, bakteri yang telah ditumbuhkan dimurnikan untuk mendapatkan bakteri yang lebih spesifik,setelah dimurnikan dilakukan pengujian degradasi dengan memasukan potongan plastik yang telah disterilkan dan yang telah ditimbang ke dalam cawan petri yang bersisi bakteri dan media NA, sampel plastik yang digunakan adalah LDPE (Low Density Polyethylene) dan *Biodegradable*. Berdasarkan hasil penelitian didapatkan 2 jenis bakteri yang dimurnikan,hasil pengurangan berat pada sampel plastik LDPE sebesar33% pada bakteri 1 dan 3, Biodegradasi sebesar 11% pada bakteri 2 dan 3, dan biodegradasi sebesar 55% pada bakteri 5. Hasil dari uji biodegradasi didapatkan bentuk permukaan sampel uji yang bergelombang dan terdapat kerutan. Disimpulkan bahwa isolat bakteri yang diisolasi dapat mendegradasi plastik.
Kata kunci: Bakteri, isolasi, plastik, biodegradasi.

PENDAHULUAN

Salah satu permasalahan limbah di Indonesia yang sampai saat ini belum tertangan dengan baik adalah permasalahan limbah plastik. Tingginya total konsumsi plastik mengakibatkan jumlah limbah plastik yang dihasilkan terus meningkat. Jutaan ton polimer sintetik (plastik) yang diproduksi di seluruh dunia setiap manusia. Selain itu penumpukan sampah plastik juga merusak mekanisme tanah. Susahnya penguraian sampah plastik tersebut menyebabkan penumpukan sampah di lingkungan (Diya et al., 2019)

Persentase kontribusi sampah plastik di Indonesia tidak jauh berbeda dengan Malaysia (14%) dan Thailand (16%) namun lebih rendah dibandingkan Singapura (27,3%). Namun secara riil, produksi sampah plastik di Indonesia sangat besar sebab secara total produksi sampah Indonesia mencapai 189 kilo.(Jazani et al., 2017). Kota Makassar sebagaimana kota besar lain di Indonesia, jumlah penduduknya juga semakin meningkat dari tahun ke tahun. Berdasarkan data BPS, diketahui bahwa jumlah penduduk Kota Makassar pada tahun 2012 sebanyak 505.949 jiwa dan meningkat menjadi 534.074 jiwa pada tahun 2018. Rata-rata pertumbuhan penduduknya sebesar 0,91 % pertahun (BPS Kota Makassar, 2018). Meningkatnya jumlah penduduk akan menyebabkan meningkatnya jumlah sampah yang dihasilkan(Idrus, 2020).

Penanganan sampah plastik yang populer selama ini adalah menggunakan 3R (*Reuse, Reduce, Recycle*). Untuk menanggulangi pencemaran lingkungan akibat limbah plastik diperlukan metode penanganan dan pengolahan yang tepat. Metode penanganan sampah plastik yang sedang dikembangkan saat ini yaitu mengunakan metode biologis. Metode biologis yang sedang dikembangkan adalah menggunakan mikroorganisme alami yang memiliki kemampuan mendegradasi polimer plastic (Sari, Amir and Elvia, 2020).

Mekanisme biodegradasi plastik dimulai dari menempelnya mikroba dengan polimer, lalu terjadi kolonisasi permukaan. Hidrolisis plastik berbasis enzim terjadi pada saat enzim menempel pada substrat polimer diikuti dengan

pembelahan hidrolitik. Produk degradasi polimer seperti oligomer, dimer, dan monomer memiliki berat molekul yang jauh lebih rendah dan akhirnya diubah menjadi CO2 dan H2O melalui mineralisasi. Dalam kondisi aerobik, oksigen digunakan sebagai akseptor elektron oleh bakteri yang diikuti dengan sintesissenyawa organik yang lebih kecil, dengan demikian, CO2dan air diproduksi sebagai produk akhir. Dalam kondisi anaerobik, polimer dihancurkan dengan tidak adanya oksigen oleh mikroorganisme. Sulfat, nitrat, besi, karbon dioksida, dan mangan digunakan sebagai akseptor elektron oleh bakteri anaerob (Fachrul et al., 2021).

Mikroorganisme memiliki sifat dan karakteristik yang berbeda-beda antar satu jenis dengan jenis lainnya sehingga kemampuan yang dimiliki juga berbeda 2 antar mikroorganisme. Karakteristik yang berbeda ini terutama pada enzim yang dihasilkan oleh mikroba tersebut, salah satu jenis mikroba yang mempunyai kemampuan dalam mendegradasi plastik yaitu bakteri. tahun. Plastik memiliki sifat yang lebih tahan terhadap serangan mikroba dalam waktu yang singkat (Wati et al., 2021). Sampah plastik tidak akan hilang meskipun dibakar melainkan berubah bentuk menjadi lebih kecil yang disebut micro plastik, bahan ini dapat berbahaya jika tercampur pada tanah dan air karena akan menjadi racun jika tercampur di air dan masuk kedalam tubuh Beberapa bakteri yang aktif dalam proses biodegradasi plastik meliputi Bacillus, Pseudomonas, Streptomyces, Klebsiella, Actinomycetes, Nocardia, Thermoactinomycetes, Micromonospora, Flavobacterium, Mycrobacterium, Azotobacter, dan Rhodococcus (Wati et al., 2021).

BAHAN DAN METODE

A. Populasi dan Sampel

Populasi Tanah di TPA Antang kota Makassar yang mengandung mikroorganisme pendegradasi plastik, Sampel Tanah dari beberapa titik di TPA Antang yang terdapat tumpukan plastik terdegradasi.

B. Alat dan Bahan

Adapun alat yang digunakan adalah alat-alat gelas, neraca analitik, autoclave, laminar air flow, spiritus, bunsen, jarum ose, petri dish, penangas, botol kaca, inkubator, oven, labu ukur, batang pengaduk, magnetic bar, alat instrument yang digunakan adalah Mikroskop.

Bahan yang digunakan adalah sampel tanah dari TPA Antang, sampel plastik, media Na (Nutrient Agar), media uji biokimia, alkohol 70% dan aquades.

C. Prosedur Kerja

1. Pengambilan Sampel

   Pengambilan sampel tanah dilakukan di beberapa titik dimana pemilihan titik Uji Biodegradasi pemurnian karakterisasi bakteri berdasarkan adanya timbunan sampah plastik yang mulai terdegradasi yaitu ditandai dengan adanya plastik yang berlubang-lubang. Tanah dari kelima titik diambil secukupnya dengan menggunakan sendok steril dan dihomogenkan secara merata kemudian dimasukkan kedalam plastik steril.

2. Pembuatan Media

   Pembuatan media diawali dengan menyiapkan alat dan bahan yang diperlukan. Media yang dibuat pada penelitian ini yaitu media NA dan beberapa media untuk uji biokimia. Masing-masing media ditimbang sesuai kebutuhan dan dimasukkan kedalam Erlenmeyer selanjutnya ditambahkan aquades sesuai perhitungan. Media dipanaskan diatas string hot plate sambil dihomogenkan hingga mendidih. Kemudian pada bagian mulut erlemneyer ditutup menggunakan kapas dan dilapisi dengan aluminium foil untuk selanjutnya dilakukan sterilisasi.

3. Isolasi Bakteri

   Sebanyak 1 mL tiap sampel dilarutkan menggunakan aquades steril dan diencerkan dengan pengenceran tinggi kemudian ditanam pada media NA (Nutrien agar) dengan metode tuang untuk menguji kemampuan isolat tumbuh pada lingkungan yang mengandung sumber dasar sebagian plastik.

Setelah itu diinkubasi pada suhu 37ºC selama 48 jam.

4. Pemurnian Bakteri

Pemurnian dilakukan pada media NA. Mengisolasi bakteri yang ditumbuhkan dalam media NA dengan metode streak plate. Perlakuan akan dilakukan sampai diperoleh isolat murni kemudian diinkubasi pada suhu 37ºC selama 48 jam.

5. Karakteristik Bakteri

Karakteristik bakteri yang dilakukan secara makroskopis yaitu bakteri dilihat berdasarkan karakteristik pertumbuhan koloni bakteri pada media padat.

6. Uji Kemampuan Biodegradasi

Uji kemampuan biodegradasi dilakukan dengan memasukkan satu buah potongan plastik yang telah disterilisasi kedalam cawan petri media Nutrien Agar . Selanjutnya masing-masing suspensi bakteri diinokulasikan kedalam cawan petri, kemudian dirapatkan dengan plastik wrap untuk selanjutnya diinkubasi selama 30 hari . Setelah masa inkubasi potongan plastik selanjutnya disterilisasi dengan menyemprot alkohol 70% dan dikering anginkan. Plastik yang telah kering selanjutnya ditimbang berat akhirnya dan dilakukan pengukuran panjang akhir.

HASIL

1. Hasil Uji Biokimia

Identifikasi jenis bakteri dilakukan berdasarkan hasil pengamatan pada media NA dan mikroskop serta hasil uji biokimia. Hasil uji biokimia dapat dilihat pada tabel 1. Adapun hasil identifikasi bakteri dapat dilihat pada table 2.

Tabel 1. Hasil uji biokimia bakteri

Kode Bakteri	TSIA	SIM	MR		VP
1	Slant : Merah Butt : Merah	Indol: (-) Motil:	MR : (+)		Sitrat : (+) Urea : (-) Glukosa: (-)

Kode Bakteri	TSIA	SIM	MR		VP
	Gas: (-) H2S:(-)	(-)			Laktosa :(-) Sukrosa : (-) Manitol :(-)
2	Slant : (-) Buth : (+) Gas:(+) H2S:(-)	Indol: (-) Motil : (-)	MR : (+)		Sitrat : (+) Urea : (+) Glukosa:(+) Laktosa:(+) Sukrosa:(+) Manitol :(-)
3	Butt : (+) Gas:(+) H2S:(-)	Motil : (+)	Motil : (+)	MR : (+)	Sitrat : (+) Urea : (+) Glukosa:(+) Laktosa:(+) Sukrosa:(+) Manitol:(+)
4	Slant: (-) Gas: (-) H2S:(+)	Indol : (-) Motil : (+)			Sitrat : (+) Urea : (+) Glukosa :(-) Laktosa:(+) Sukrosa:(+) Manitol: (-)
5	Gas : (+)	Indol : (+) Motil : (+)	MR : (+)		Sitrat : (-) Urea : (+) Glukosa: (-) Laktosa:(+) Sukrosa:(+) Manitol: (-)

Tabel 2. Hasil Identifikasi bakteri

Kode Bakteri	Nama Bakteri
1	*Pseudomonas aeruginosa*
2	*Alcaligenes faecalis*
3	*Enterobacter agglomerans*
4	*Proteus mirabilis*
5	*Serratia liquafaciens*

2. Hasil Uji Biodegradasi

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan 5 jenis bakteri dengan hasil pengurangan berat pada sampel plastik sebesar 33% pada bakteri 1 dan 4 , biodegradasi sebesar 11% pada bakteri 2 dan 3, dan biodegradasi

sebesar 55% pada bakteri 5. Hasil dari uji biodegradasi didapatkan bentuk permukaan sampel uji yang bergelombang dan terdapat kerutan. *Pseudomonas sp*. dapat mendegradasi plastik dengan enzim *serin hydrolase* dan *esterase*. Pengukuran diawali dengan menimbang berat awal plastik dan panjang plastic sebelum diinkubasi bersama isolate bakteri. Panjang dan lebar plastic sebelum adalah 3 x 3 cm. Persentase biodegradasi bisa dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Biodegradasi

Kode Bakteri	Berat awal plastik	Berat akhir plastik	Hasil biodegradasi	%
1	0,45 gr	0,3 gr	0,15 gr	33%
2	0,45 gr	0,4 gr	0,5 gr	11%
3	0,45 gr	0,4 gr	0,5 gr	11%
4	0,45 gr	0,3 gr	0,15 gr	33%
5	0,45 gr	0,2 gr	0,25 gr	55%

DISKUSI

Menurut Webb (2013), terdapat empat mekanisme biodegradasi plastik di lingkungan yaitu dengan fotodegradasi atau proses penguraian dengan memanfaatkan cahaya, biodegradasi termooksidatif atau proses degradasi dengan memanfaatkan panas, degradasi hidrolitik dan biodegradasi oleh mikroorganisme. Mikroorganisme pendegradasi limbah plastik mengubah karbon dalam rantai polimer menjadi karbon dioksida atau memasukkannya ke dalam biomolekul. Proses biodegradasi yang terjadi mengakibatkan limbah plastik menjadi rapuh dan pecah menjadi bagian yang lebih kecil, hingga rantai polimer pada limbah plastik memiliki berat molekul yang cukup rendah untuk dimetabolisme oleh mikroorganisme. Kecepatan proses biodegradasi dipengaruhi oleh beberapa factor. Faktor-faktor tersebut diantaranya adalah kelembaban, jenis mikroorganisme, temperatur, pH, jenis polimer, dan ketebalan polimer.

Proses biodegradasi polimer terdiri dari beberapa langkah : pertama tahap *biodeterioration* terjadinya perpaduan aktivitas dari sekumpulan mikroorganisme, dekomposer lain dan faktor abiotik yang memecah komponen polimer menjadi lebih sederhana. Kemudian mikroorganisme mensekresikan

senyawa katalitik (berupa enzim dan radikal bebas) membentuk biofilm yang mampu memutus rantai polimer secara progresif menjadi lebih sederhana : oligomer, dimer, dan monomer. Langkah ini disebut dengan depolimerisasi. Hasil dari pemecahan molekul polimer tersebut beberapa ada dikenali oleh sel reseptor mikroorganisme dan mampu masuk melewati membran sel mikroorganisme sisanya akan tetap berada dilingkungan. Selanjutnya terjadi proses asimilasi di dalam sitoplasma mikroorganisme yaitu terjadinya proses metabolisme untuk menghasilkan produk berupa energi, biomassa, cadangan makanan serta metabolit primer maupun sekunder. Beberapa metabolit sederhana dan kompleks kemungkinan dieksresikan menuju bagian ekstraseluler (misalnya asam organik, aldehid, terpen, antibiotik, dan lain-lain). Molekul sederhana seperti CO2, N2, CH4, H2O dan garam mineral yang termasuk hasil metabolisme intraseluler teroksidasi ke lingkungan tahap ini disebut mineralisasi.

Mekanisme biodegradasi plastik dimulai dari menempelnya mikroba dengan polimer, lalu terjadi kolonisasi permukaan. Hidrolisis plastik berbasis enzim terjadi pada saat enzim menempel pada substrat polimer diikuti dengan pembelahan hidrolitik. Produk degradasi polimer seperti oligomer, dimer, dan monomer memiliki berat molekul yang jauh lebih rendah dan akhirnya diubah menjadi CO2dan H2O melalui mineralisasi (Tokiwa et al., 2009). Dalam kondisi aerobik, oksigen digunakan sebagai akseptor elektron oleh bakteri yang diikuti dengan sintesis senyawa organik yang lebih kecil, dengan demikian, CO2 dan air diproduksi sebagai produk akhir. Dalam kondisi anaerobik, polimer dihancurkan dengan tidak adanya oksigen oleh mikroorganisme. Sulfat, nitrat, besi, karbon dioksida, dan mangan digunakan sebagai akseptor elektron oleh bakteri anaerob (Priyanka dan Archana, 2012).

KESIMPULAN

Berdasarkan tujuan yang telah dicapai maka dapat disimpulkan bahwa bakteri yang diisolasi dari Tempat Pembuangan Akhir (TPA) dapat mendegradasi sampah plastik.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kementrian Pendidikan dan Kebudayaan, serta Universitas Mrgarezky yang telah membantu sehingga penelitian ini dapat berjalan lancar sehingga jurnal ini dapat diterbitkan.

REFRENSI

Atik Sriningsih dan Maya Shovitri (2015) 'potensiisolat-bakteri-pseudomonas sebagai pendegradasi- (2014). Idrus, I. (2020) 'Pengelolaan Sampah Ramah Lingkungan Berbasis Kearifan Lokal (Studi Kasus TPA Antang Kota Makassar)', (February).

Islami, A. N. (2013) 'Biodegradasi Plastik Oleh Mikroorganisme', *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), pp. 1689– 1699.

Lucas, N., Bienaime, Ch., Belloy, Ch., Queneudec, M., Silvestre, F., dan Nava-Saucedo, J.E.."*Polymer biodegradation: mechanisms and estimation techniques : review*", Chemosphere 73: 429-442. (2008)

Nasution, R. S. (2015) 'Berbagai Cara Penanggulangan Limbah Plastik', Elkawnie: *Journal of Islamic Science and Technology*, 1(1), pp. 97–104.

Pramila, R.; Ramesh, K.V. Potential biodegradation of low-density polyethylene (LDPE) by Acinetobacter bumannii. Afr. *J. Bacteriol. Res.* 2015, 7, 24–28.

Sari, D. P., Amir, H. and Elvia, R. (2020) 'Isolasi Bakteri Dari Tanah Tempat Pembangan Akhir (Tpa) Air Sebakul Sebagai Agen Biodegradasi Limbah Plastik Polyethylene', Alotrop, 4(2), pp. 98–106.

Wahid, A. R. and Safwan, S. (2020) 'Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Terhadap Ekstrak Tanaman Ranting Patah Tulang (Euphorbia tirucalli L.)', Lumbung Farmasi: *Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 1(1), p. 24.

Wati, N. S. et al. (2021) 'Efektifitas Bakteri Untuk Degradasi Sampah Plastik Yang Diisolasi Dari Tempat Pembuangan Akhir (Tpa) Air Dingin Padang', *Jurnal Kimia Saintek Dan Pendidikan*, V(2), pp. 104–109. plastik', *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 4(2), pp. 67–70.

Dewi, Y. and Raharjo, T. (2019) 'Aspek Hukum Bahaya Plastik Terhadap Kesehatan dan Lingkungan Serta Solusinya', *Kosmik Hukum*, 19(1). Diya, E. et al. (2019) 'Pengelolaan Limbah Sampah Plastik Dengan

Menggunakan Metode',*Prosiding 1(*September), pp. 341–347. Fachrul, M. F. et al. (2021)

Degradasi Mikroorganisme Plastik Pada Ekosistem Perairan Oleh Bakteri Kultur Campuran Clostridium sp. DAN Thiobacillus sp.', *Jurnal Penelitian Dan Karya Ilmiah Lembaga Penelitian Universitas Trisakti*, 6(2), pp. 304–316.

Fadlilah, F.R., dan Shovitri, M. "Potensi Isolat Bakteri Bacillus dalam Mendegradasi Plastik dengan Metode Kolom Winogradsky". *Jurnal Teknik POMITS Vol.3*, No.2. Surabaya : Institut Teknologi Speuluh November.

POTENSI EKSTRAK KECAMBAH KACANG HIJAU (Vigna radiata) SEBAGAI PENGOBATAN DIABETES MELITUS

Herlinda Djohan[1*] · Imma Fatayati[1] · Etiek Nurhayati[1] · Betty Nurhayati[2] · Slamet Wardoyo[3]

[1]D-III Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes kemenkes Pontianak, Kalimantan Barat, Indonesia,
[2] D-III Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Bandung, Jawa Barat, Indonesia
[3] D-III Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Surabaya, Jawa Timur, Indonesia

e-Mail : herlinda.dj@gmail.com
No Tlp WA : 082254150308

Abstract

Green mung bean (Vigna radiata) is a nutrient-rich food with bioactive compounds that make it a promising functional food for antidiabetic purposes. The rising prevalence of diabetes mellitus in Indonesia underscores the need for natural alternatives to control blood glucose levels. This study aimed to assess the antidiabetic effect of mung bean sprout extract at various concentrations. Fresh mung bean sprouts were extracted by pressing and diluted with distilled water to 100 mL, then tested at concentrations of 40 ppm, 50 ppm, and 60 ppm. The glucose-lowering activity was evaluated using the Nelson–Somogyi method, which provides high specificity and sensitivity in analyzing reducing sugars. At a concentration of 40 ppm, the absorbance value obtained was 16.110 at 50 ppm, the absorbance value was 15.630 and at 60 ppm, the absorbance value was 7.840. Phytochemical screening confirmed the presence of flavonoids, alkaloids, saponins, glycosides, and tannins in the extract. Results showed a marked decrease in absorbance at 60 ppm compared with 40 ppm and 50 ppm with a correlation coefficient of R = 0.9997, indicating a strong association between extract concentration and glucose reduction. This study concludes that mung bean sprout extract may act as a natural agent for supporting blood glucose control through bioactive compounds that inhibit carbohydrate hydrolysis and enhance cellular glucose utilization.
***Keywords**: mung bean sprout, antidiabetic, flavonoid, Nelson–Somogyi*

Abstrak

Kacang hijau *(Vigna radiata)* merupakan bahan pangan yang kaya nutrien dan senyawa bioaktif sehingga berpotensi digunakan sebagai pangan fungsional antidiabetes. Peningkatan prevalensi diabetes melitus di Indonesia mendorong perlunya pengembangan alternatif bahan alami untuk membantu pengendalian kadar glukosa darah. Penelitian ini bertujuan menganalisis efek antidiabetes ekstrak kecambah kacang hijau pada berbagai konsentrasi terhadap penurunan kadar glukosa darah. Sampel berupa kecambah kacang hijau segar diekstraksi melalui proses pemerasan dan dilarutkan dalam *aquadest* hingga volume 100 mL, kemudian diuji pada konsentrasi 40 ppm, 50 ppm, dan 60 ppm. Uji aktivitas penurunan kadar glukosa dilakukan menggunakan metode *Nelson–Somogyi* yang memiliki spesifisitas dan sensitivitas tinggi dalam menganalisis gula pereduksi. Konsentrasi 40 ppm didapatkan nilai absorbansi yaitu 16.110, 50 ppm didapatkan nilai absorbansi 15.630, sampel 60 ppm didapatkan nilai absorbansi 7.840. Hasil skrining fitokimia menunjukkan kecambah kacang hijau positif mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, glikosida, dan tanin. Hasil pengujian menunjukkan penurunan nilai absorbansi yang signifikan pada konsentrasi 60 ppm dibandingkan 40 ppm dan 50 ppm dengan koefisien korelasi *R* = 0,9997 yang menunjukkan hubungan sangat kuat antara konsentrasi ekstrak dan penurunan

kadar glukosa. Penelitian ini menyimpulkan bahwa ekstrak kecambah kacang hijau berpotensi sebagai agen alami pendukung pengendalian kadar glukosa darah melalui kandungan bioaktifnya yang dapat menghambat hidrolisis karbohidrat dan meningkatkan pemanfaatan glukosa oleh sel tubuh.
Kata kunci: Kecambah Kacang Hijau, Antidiabetes, Flavonoid, *Nelson-Somogyi*

PENDAHULUAN

Kacang hijau *(Vigna radiata L.)* termasuk dalam kelompok legum yang memiliki nilai gizi tinggi dan telah lama dimanfaatkan sebagai bahan pangan tradisional di Indonesia. Tanaman ini mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti flavonoid, polifenol, peptida, polisakarida, serta vitamin dan mineral esensial yang memberikan efek fisiologis penting bagi tubuh manusia. Beberapa komponen tersebut berperan dalam aktivitas antioksidan, antihiperglikemik, antiinflamasi, dan perlindungan seluler terhadap stres oksidatif (Hou et al. 2019; Tarahi 2024; Uppalwar, Garg, dan Dutt 2020). Kandungan proteinnya yang kaya asam amino esensial, seperti leusin dan lisin, menjadikan kacang hijau sebagai sumber protein nabati yang potensial dalam pengembangan produk pangan fungsional berkelanjutan (Tarahi 2024).

Kecambah kacang hijau memiliki komposisi senyawa bioaktif yang lebih mudah diserap tubuh akibat proses perkecambahan yang meningkatkan ketersediaan hayati zat gizi. Fase ini memunculkan peptida dan enzim dengan aktivitas biologis tinggi yang mampu memengaruhi regulasi metabolisme glukosa dan sistem antioksidan endogen. Penelitian terkini menunjukkan bahwa nanopartikel alami dalam kecambah kacang hijau dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan cara mengaktivasi jalur pensinyalan PI3K/Akt/GLUT4 serta meningkatkan produksi enzim antioksidan seperti SOD dan HO-1 (He et al. 2023). Temuan tersebut memperkuat potensi kecambah kacang hijau sebagai kandidat bahan alami antidiabetes.

Kondisi epidemiologis di Indonesia memperlihatkan peningkatan prevalensi diabetes melitus tipe 2 yang cukup signifikan. Berdasarkan Survei Kesehatan Indonesia 2023, prevalensi diabetes pada penduduk usia dewasa telah melebihi 10% di sejumlah provinsi, menandakan beban penyakit tidak

menular yang semakin meningkat (Kemenkes 2023). Peningkatan kasus tersebut menuntut strategi pencegahan berbasis pangan lokal dengan efektivitas tinggi dan risiko minimal.

Kacang hijau dapat dijadikan alternatif sumber energi bagi individu dengan diabetes karena indeks glikemiknya rendah serta kandungan serat dan protein yang berperan dalam pengendalian kadar glukosa darah. Penelitian pengembangan formula enteral berbasis tepung kacang hijau dan labu kuning membuktikan bahwa kombinasi tersebut mampu menjaga keseimbangan energi dan memberikan profil nutrisi yang sesuai bagi penderita diabetes melitus (Jannah et al. 2024). Penggunaan bahan alami semacam ini diharapkan dapat mendukung pengelolaan kadar glukosa tanpa efek samping signifikan.

Obat antidiabetes oral seperti glibenklamid terbukti efektif dalam menstimulasi sekresi insulin oleh sel ß pankreas, tetapi pemakaian jangka panjang dapat menimbulkan efek hipoglikemia dan penurunan efektivitas farmakologis (Firmansyah et al. 2025). Inovasi berbasis bahan alam menjadi penting sebagai pendekatan tambahan maupun alternatif untuk mengoptimalkan terapi diabetes.

Metode Nelson–Somogyi merupakan teknik analisis kimia yang banyak digunakan dalam pengukuran gula pereduksi karena memiliki sensitivitas dan akurasi tinggi. Metode ini relevan digunakan untuk menilai aktivitas antidiabetes dari ekstrak bahan alam seperti kecambah kacang hijau melalui pengukuran penurunan kadar glukosa darah (Sari 2019).

Penelitian ini bertujuan menganalisis efek antidiabetes ekstrak kecambah kacang hijau pada beberapa konsentrasi (40 ppm, 50 ppm, dan 60 ppm) terhadap penurunan kadar glukosa darah menggunakan metode Nelson–Somogyi. Kajian ini diharapkan memberikan kontribusi terhadap pengembangan pangan fungsional berbasis bahan lokal yang mendukung pengendalian penyakit diabetes melitus secara ilmiah dan aplikatif (BPOM 2014).

BAHAN DAN METODE

A. Bahan

Sampel penelitian berupa kecambah kacang hijau (*Vigna radiata*) diperoleh dari pasar tradisional lokal dalam kondisi segar. Ekstrak kecambah kacang hijau murni diperoleh melalui proses pemerasan, kemudian hasil perasan dilarutkan dalam *aquadest* hingga mencapai volume 100 mL. Larutan ekstrak ini dipersiapkan dalam tiga variasi konsentrasi, yaitu 40 ppm, 50 ppm, dan 60 ppm.

Alat yang digunakan dalam penelitian meliputi spektrofotometer dengan kemampuan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 520 nm, kuvet untuk *spektrofotometer*, *penangas air* bersuhu 100 °C, serta peralatan gelas laboratorium standar.

Reagen yang digunakan meliputi:

1. Standar karbohidrat (*glukosamin*) dengan rentang konsentrasi 0,00–0,50 µmol/mL.
2. Reagen tembaga yang terdiri dari 80 g Na_2SO_4, 12 g kalium natrium tartrat, 24 g Na_2CO_3 (*anhidrat*), 4 g $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ atau 2,6 g $CuSO_4$, dan 16 g $NaHCO_3$.
3. Reagen Nelson yang mengandung 25 g $(NH_4)_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ atau 25,75 g $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$, 21 cm^3 H_2SO_4 pekat, dan 3 g $AsHNa_2O_4 \cdot 7H_2O$.

Proses pembuatan reagen tembaga dilakukan dengan melarutkan 12 g kalium natrium tartrat dan 24 g Na_2CO_3 dalam 250 mL H_2O. Sambil diaduk, ditambahkan 4 g $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ dan 16 g $NaHCO_3$. Selanjutnya, 180 g Na_2SO_4 dilarutkan dalam 500 mL air mendidih untuk menghilangkan gelembung udara. Kedua larutan dicampur dan disaring saat panas untuk menghasilkan larutan jernih.

Reagen Nelson dibuat dengan melarutkan 25 g $(NH_4)_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ atau 25,75 g $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ dalam 450 cm^3 H_2O, kemudian ditambahkan 21 cm^3 H_2SO_4 pekat. Larutan lain berupa 3 g $AsHNa_2O_4 \cdot 7H_2O$ dilarutkan dalam

25 cm^3 H_2O. Kedua larutan dicampur dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 55 °C untuk pembentukan reagen akhir.

B. Metode

Metode penelitian menggunakan prosedur *Nelson–Somogyi*, yaitu metode klasik yang banyak digunakan untuk penentuan kuantitatif gula reduksi berdasarkan sifat reduksi karbohidrat yang memiliki gugus *aldehida* atau *keto* (BPOM, 2014; Ridwan et al., 2012).

Tahapan pemeriksaan glukosa dilakukan dengan memipet 1,0 mL larutan standar, sampel, dan *blanko* (air distilasi) ke dalam tabung reaksi terpisah. Selanjutnya, 1,0 mL reagen Somogyi ditambahkan ke masing-masing tabung dan dicampur menggunakan *vortex mixer*. Tabung dipanaskan dalam *penangas air* mendidih selama 15 menit dan kemudian didinginkan dalam air dingin. Setelah itu ditambahkan 1,0 mL reagen Nelson ke setiap tabung, dicampur dengan *vortex mixer*, dan dibiarkan selama 15 menit untuk pembentukan warna sempurna.

Pengukuran absorbansi dilakukan dengan mengatur *spektrofotometer* pada panjang gelombang 520–540 nm. *Blanko* digunakan untuk mengatur absorbansi nol, kemudian absorbansi larutan standar dan sampel diukur untuk menentukan kadar gula reduksi.

Analisis data hasil pengukuran dilakukan secara statistik deskriptif dan inferensial untuk membandingkan efektivitas masing-masing konsentrasi ekstrak kecambah kacang hijau.

C. Pernyataan Etik dan Statistik

Seluruh prosedur penelitian ini dilakukan sesuai standar etika penelitian in vivo sebagaimana diatur dalam *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 2014 tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo* (BPOM 2014). Data hasil pengukuran dianalisis dengan perangkat lunak statistik untuk menguji perbedaan kadar glukosa antarperlakuan secara signifikan

HASIL

A. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mendeteksi keberadaan metabolit sekunder pada serbuk *simplisia* dan ekstrak etanol kecambah kacang hijau (*Vigna radiata*). Parameter yang diuji meliputi flavonoid, alkaloid, saponin, glikosida, tanin, serta steroid/triterpenoid. Hasil skrining ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia kecambah kacang hijau

No.	Parameter	Simplisia	Ekstrak
1	Flavonoid	+	+
2	Alkaloid	+	+
3	Saponin	+	+
4	Glikosida	+	+
5	Tanin	+	+

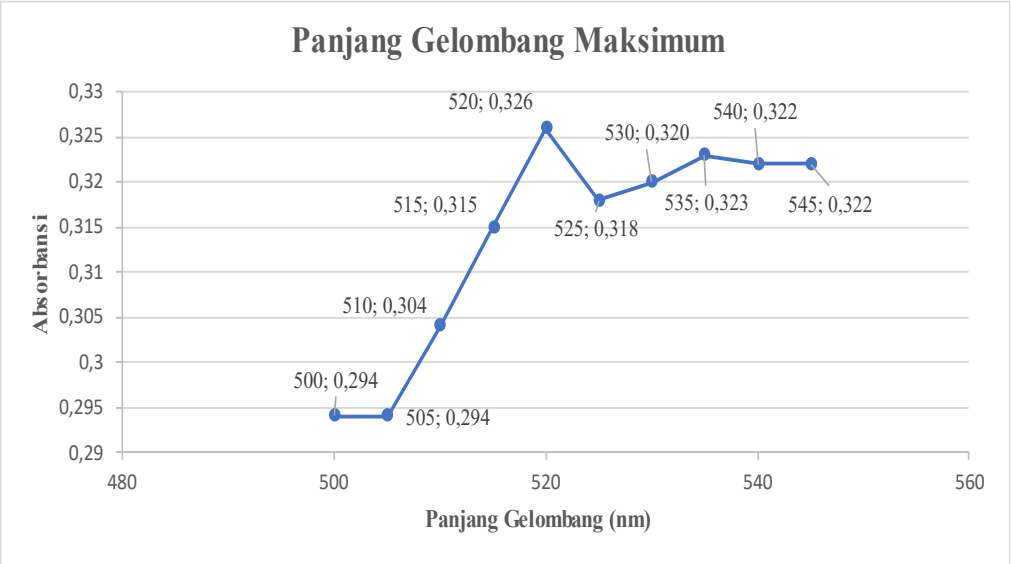
Hasil pada Tabel 1 menunjukkan bahwa baik serbuk *simplisia* maupun ekstrak etanol kecambah kacang hijau positif mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, glikosida, dan tanin. Temuan ini konsisten dengan laporan (Munandar et al. 2023) yang juga mengidentifikasi senyawa-senyawa tersebut pada kecambah kacang hijau.

B. Panjang Gelombang Maksimum Kecambah Kacang Hijau

Penentuan panjang gelombang maksimum *(λmaks)* dilakukan menggunakan larutan standar dengan konsentrasi 2 ppm pada rentang panjang gelombang 510–520 nm. Hasil pengukuran menunjukkan peningkatan respons absorbansi dari 0,304 menjadi 0,326, yang menggambarkan adanya peningkatan sensitivitas instrumen terhadap perubahan konsentrasi analit pada rentang tersebut. Rentang ini merupakan daerah paling sensitif dalam mendeteksi perubahan kadar analit terhadap intensitas penyerapan cahaya.

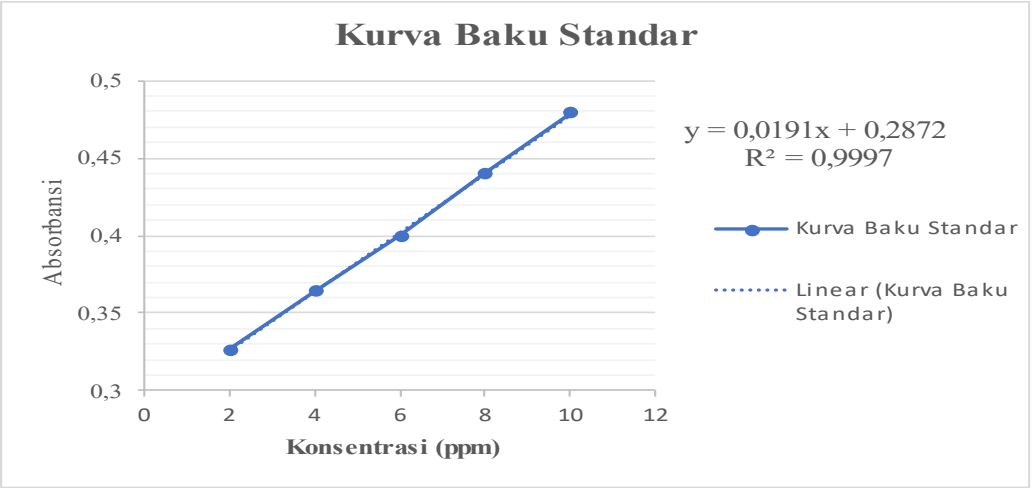
Panjang gelombang maksimum *(λmaks)* diperoleh pada 520 nm, menunjukkan titik di mana reagen standar memiliki penyerapan cahaya

tertinggi. Kondisi ini menandakan interaksi optimal antara analit dan reagen pada panjang gelombang tersebut. Setelah melewati titik maksimum, nilai absorbansi mengalami penurunan hingga mencapai kondisi stabil, menegaskan bahwa panjang gelombang 520 nm merupakan kondisi optimum untuk pengukuran absorbansi pada analisis ini.



Gambar 1. Kurva Panjang Gelombang Maksimum Kecambah Kacang Hijau

C. Baku Standar Kecambah Kacang Hijau



Gambar 2. Kurva Baku Standar Kecambah Kacang Hijau

Hasil analisis menunjukkan adanya hubungan positif antara variabel X dan variabel Y. Peningkatan nilai X diikuti oleh kenaikan nilai Y yang relatif

stabil pada rentang 0,036 hingga 0,040. Pola hubungan tersebut menggambarkan adanya tren positif yang mendekati bentuk linear. Persamaan regresi yang diperoleh, yaitu y = 0,0191x + 2872, menghasilkan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,9997. Nilai R^2 yang mendekati 1 menunjukkan tingkat linearitas yang sangat baik, menandakan bahwa variabel X memiliki pengaruh yang sangat kuat terhadap variasi nilai Y. Dengan demikian, hubungan antara kedua variabel dapat dikategorikan memiliki kesesuaian yang tinggi terhadap model regresi linear yang digunakan.

D. Analisis hasil uji ekstrak Perasan kecambah Kacang Hijau

Tabel 2. Analisis hasil uji ekstrak Perasan kecambah terhadap penurunan kadar glukosa menggunakan metode Nelson Somogyi spektrofotometri.

Conc	Abs	Tran
40 ppm	16.110	46.00
50 ppm	15.630	46.40
60 ppm	7.840	53.10

Berdasarkan data pada tabel, diketahui bahwa dari tiga konsentrasi sampel yang diuji, konsentrasi 40 ppm menghasilkan nilai absorbansi sebesar 16,110, konsentrasi 50 ppm menghasilkan nilai absorbansi sebesar 15,630, sedangkan konsentrasi 60 ppm menunjukkan nilai absorbansi sebesar 7,840. Nilai tersebut memperlihatkan adanya penurunan absorbansi dari konsentrasi 40 ppm ke 60 ppm,

Kondisi ini dapat mengindikasikan terjadinya kejenuhan reagen atau reaksi reduksi yang tidak berlangsung secara optimal pada konsentrasi yang lebih tinggi. Fenomena tersebut juga mungkin disebabkan oleh faktor interferensi matriks atau kestabilan warna hasil reaksi yang menurun pada konsentrasi tertentu

E. Analisis Data

Penelitian ini menggunakan tiga konsentrasi ekstrak kecambah kacang hijau, yaitu 40 ppm, 50 ppm, dan 60 ppm, untuk mengevaluasi perbedaan efektivitas dalam menurunkan kadar glukosa darah menggunakan

metode *Nelson–Somogyi*. Metode ini dipilih karena memiliki spesifisitas yang tinggi, faktor pengganggu yang lebih mudah dikendalikan dibandingkan metode enzimatik, serta sensitivitas tinggi untuk menganalisis gula pereduksi (BPOM 2014). Selain itu, bahan-bahan reagen yang digunakan dalam metode ini relatif mudah diperoleh di laboratorium. Analisis data dilakukan secara deskriptif dan inferensial untuk menguji signifikansi perbedaan antarperlakuan.

DISKUSI

Kacang hijau (*Vigna radiata*) merupakan sumber karbohidrat yang cukup tinggi, dengan kandungan pati mencapai 42-45% % yang lebih besar dibandingkan kedelai (Huang et al. 2024). Pati menjadi karbohidrat dominan dalam kelompok kacang-kacangan dan berperan penting sebagai sumber energi serta bahan baku metabolisme (Triwitono et al. 2017). Keberadaan *oligosakarida* yang larut air pada kacang hijau dapat diminimalisasi melalui proses perendaman, perkecambahan, atau fermentasi sehingga meningkatkan kualitas gizi dan daya cerna produk akhir (Huang et al. 2024).

Energi yang dihasilkan oleh kacang hijau maupun *tauge* relatif lebih rendah dibandingkan sereal lainnya sehingga berpotensi bermanfaat bagi individu dengan obesitas dan diabetes karena dapat membantu mengendalikan asupan energi (Idris et al. 2025). Senyawa penghambat *tripsin*, *hemagglutinin*, tanin, dan asam fitat yang ditemukan pada kacang hijau juga dilaporkan memiliki aktivitas biologis yang mendukung kesehatan, antara lain memperlancar pencernaan, mengikat logam berat, dan membantu detoksifikasi tubuh (Yılmaz et al. 2025). Selain itu, *kecambah* kacang hijau diketahui mengandung flavonoid dan asam fenolat yang memiliki potensi sebagai agen antidiabetes (Renzhe et al. 2025). Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang secara umum memiliki atom oksigen dalam bentuk ikatan heterosiklik dan struktur inti C6–C3–C6, terdiri atas dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh tiga atom karbon (Frenț et al. 2024). Senyawa ini berperan penting sebagai

antioksidan yang mampu menetralisasi kelebihan radikal bebas serta menghambat reaksi berantai radikal bebas, sehingga dapat memperlambat progresivitas diabetes melitus dan komplikasinya (Frenț et al. 2024).

Temuan ini menunjukkan bahwa potensi aktivitas flavonoid pada *kecambah* kacang hijau bukan hanya mendukung nilai gizi tetapi juga memiliki implikasi farmakologis yang signifikan dalam pengendalian penyakit metabolik. Dengan demikian, pengembangan produk berbasis kacang hijau atau *tauge* yang melalui pengolahan tepat seperti perkecambahan berpotensi menjadi alternatif pangan fungsional untuk pencegahan maupun terapi pendukung diabetes.

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penurunan kadar glukosa pada perlakuan *ekstrak kecambah kacang hijau* sangat mungkin dipengaruhi oleh keberadaan senyawa bioaktif di dalamnya, antara lain enzim *amilase*, *glukosidase inhibitor* alami, dan senyawa fenolik. Komponen-komponen tersebut berperan dalam menghambat proses hidrolisis karbohidrat menjadi glukosa atau meningkatkan pemanfaatan glukosa oleh sel tubuh. Selain itu, kandungan antioksidan yang tinggi pada *kecambah* berpotensi memodulasi aktivitas enzim metabolisme glukosa sehingga mendukung mekanisme penurunan kadar glukosa darah. Temuan ini menegaskan bahwa ekstrak kecambah kacang hijau memiliki prospek sebagai agen alami pendukung pengendalian kadar gula darah.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Prof.DR. Kelana Kusuma Darma, S.Kp,M.Kes, selaku Direktur Politeknik Kesehatan Kemenkes Pontianak.
2. Ibu Ratih Indrawati S.Si,M.Kes selaku Ketua Jurusan Teknologi Laboratorium Medik Poltekkes Kemenkes Pontianak.
3. Ibu DR.Tessa Siswina, S.Si.T, M.Keb selaku Kapus PPM

4. Tim *Reviewer* yang telah memberikan saran pada penulisan artikel Penelitian ini.
5. Suami, serta keluarga yang selalu memberikan dukungan serta do'a.
6. Teman-teman dosen dan staf Jurusan Teknologi Laboratorium Medik Poltekkes Kemenkes Pontianak.

Semua pihak yang telah membantu penyelesaian penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan bahwa penelitian ini dilaksanakan secara independen dan tidak memiliki konflik kepentingan finansial maupun nonfinansial dengan pihak mana pun. Seluruh proses pengumpulan data, analisis, dan pelaporan hasil dilakukan secara objektif tanpa pengaruh eksternal yang dapat memengaruhi integritas hasil penelitian.

REFRENSI

BPOM. 2014. Indonesia *Peraturan Kepala Bpom Nomor 7 Tahun 2014*. Jakarta.

Firmansyah, Hardi, Risti Rosmiati, Iza Ayu Saufani, Dan Zulfa Nur Hanifa. 2025. "Physicochemical, Microbiological And Sensory Characteristics Of Goat Milk (Capra Aegagrus Hircus) Yogurt With Mungbean (Vigna Radiata) Extract Enrichment." *Amerta Nutrition* 9(2): 266–77.

Frenț, Olimpia Daniela, Liana Stefan, Claudia Mona Morgovan, Narcis Duteanu, Ioana Lavinia Dejeu, Eleonora Marian, Laura Vicaș, Dan Felicia Manole. 2024. "A Systematic Review: Quercetin—Secondary Metabolite Of The Flavonol Class, With Multiple Health Benefits And Low Bioavailability." *International Journal Of Molecular Sciences* 25(22): 1–47.

He, Chengxun, Ke Wang, Jun Xia, Die Qian, Juan Guo, Lian Zhong, Dandan Tang, Et Al. 2023. "Natural Exosomes-Like Nanoparticles In Mung Bean Sprouts Possesses Anti-Diabetic Effects Via Activation Of Pi3k/Akt/Glut4/Gsk-3ß Signaling Pathway." *Journal Of Nanobiotechnology* 21(1): 1–17.

Hou, Dianzhi, Laraib Yousaf, Yong Xue, Jinrong Hu, Jihong Wu, Xiaosong Hu, Naihong Feng, Dan Qun Shen. 2019. "Mung Bean (Vigna Radiata L.): Bioactive Polyphenols, Polysaccharides, Peptides, And Health Benefits." *Nutrients* 11(6): 1–28.

Huang, Zhen, Yisi Li, Tian Guo, Li Xu, Jieyao Yuan, Zuyin Li, Dan Cuiping Yi. 2024. “The Physicochemical Properties And Structure Of Mung Bean Starch Fermented By Lactobacillus Plantarum.” *Foods* 13(21): 1–12.

Idris, Fekiya Mohammed, Kelbessa Urga, Habtamu Admassu, Eskindir Getachew Fentie, Sook Min Kwon, Dan Jae Ho Shin. 2025. “Profiling The Nutritional, Phytochemical, And Functional Properties Of Mung Bean Varieties.” *Foods* 14(4).

Jannah, Miftahul, Yohanes Kristianto, Gita Devita Anggraeni, Choirun Nissa, Aryu Candra, Dewi Marfu’ah Kurniawati, Ibnu Zaki, Et Al. 2024. “Pengembangan Formula Enteral ‘Kahila’ Berbasis Kacang Hijau (Vigna Radiata L) Dan Labu Kuning (Cucurbia Moschata) Untuk Diabetes Melitus.” *Jgmi : The Journal Of Indonesian Community Nutrition* 12(1): 2025.

Kemenkes. 2023. Kemenkes *Survei Kesehatan Indonesia(Ski)*. Jakar: Kemenkes.

Munandar, Aris, M Pandapotan Nasution, Haris Munandar Nasution, D Elysa Putri Mambang, Alamat Korespondensi, M Pandapotan Nasution, Program Studi, Et Al. 2023. “Skrining Fitokimia Dan Uji Sitotoksisitas Ekstrak Etanol Kecambah Kacang Hijau (Vigna Radiata (L .) Wilczek) Dengan Metode Bslt.” 2(2): 214–23.

Renzhe, Lv, Jinyang Liu, Shicong Li, Dan Gong, Li Wang, Xingxing Yuan, Xin Chen, Dan Yan Li. 2025. “Discovery Of Vitexin, Isovitexin And Catechin As Hypoglycemic Factors In Mung Bean Via Metabolomics Combined With In Vitro Experiments.” *Food Production, Processing And Nutrition* 7(1).

Sari, Nurmala. 2019. “The Use Of Glucose Syrup As Product Of Selulosa Hidrolyze From The Jackfruit Rags (Artocarpus Heterophylus Lamk) As Sweetner On Candies Production From The Coconut Plam (Cocos Nucifera L).” *Journal Of Pharmaceutical And Sciences* 2(1): 17–23. Doi:10.36490/Journal-Jps.Com.V2i1.12.

Tarahi, Mohammad. 2024. “The Potential Application Of Mung Bean (Vigna Radiata L.) Protein In Plant-Based Food Analogs: A Review.” *Legume Science* 6(4). Doi:10.1002/Leg3.70011.

Triwitono, Priyanto, Yustinus Marsono, Agnes Murdiati, Dan Djagal Wiseso Marseno. 2017. “Isolasi Dan Karakterisasi Sifat Pati Kacang Hijau (Vigna Radiata L.) Beberapa Varietas Lokal Indonesia.” *Agritech* 37(2): 192.

Uppalwar, Sonali V., Vandana Garg, Dan Rohit Dutt. 2020. “Seeds Of Mung Bean (Vigna Radiata (L.) R.Wilczek): Taxonomy, Phytochemistry, Medicinal Uses And Pharmacology.” *Current Bioactive Compounds* 17(3): 220–33.

Yılmaz, Tuncel, Havva Polat Kaya, Fatma Betül Sakarya, Ali Emre Andaç, Fatma Korkmaz, Gulay Ozkan, Necati Barış Tuncel, Dan Esra Capanoglu. 2025. “The Effect Of Germination On Antinutritional Components, In Vitro Starch And Protein Digestibility, Content, And Bioaccessibility Of Phenolics And Antioxidants Of Some Pulses.” *Food Science And Nutrition* 13(5): 1–12. Doi:10.1002/Fsn3.70103.

DETEKSI MUTASI *GEN embB* SEBAGAI PENANDA RESISTEN *ETAMBUTOL* TERHADAP ISOLAT *Mycobacterium tuberculosis* MENGGUNAKAN *PCR-SEQUENSING*

Ratu Bilqis Ilahi. S[1]* · Dr. Nirmawati Angria[1] · Ayusti Dirga[1]

[1]**Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Teknologi Kesehatan, Universitas Megarezky, Sulawesi Selatan, Indonesia**
e-Mail: balqissulham01@gmail.com
No Tlp WA : 085397812018

Abstract

Tuberculosis (TB) is an infectious disease caused by Mycobacterium tuberculosis. This bacterium can develop resistance to several anti-tuberculosis drugs, including ethambutol, which is one of the first-line anti-TB agents. Resistance to ethambutol is often associated with mutations in the embB gene. Mutations in this gene can serve as molecular markers for detecting Mycobacterium tuberculosis resistance to ethambutol.The objective of this study was to detect mutations in the embB gene as a marker of ethambutol resistance in Mycobacterium tuberculosis. This research was an observational laboratory study employing a cross-sectional design, using 14 stored tuberculosis isolates obtained from HUM-RC. Sample examination was conducted using the PCR-Sequencing method to identify the presence of mutations. The PCR results, visualized through gel electrophoresis, showed the presence of the embB gene at the target size of 929 bp in 8 samples. Sequencing data analyzed using BioEdit Software revealed several base substitutions in the embB gene, specifically G>C at nucleotide 821 (821Nt), T>G at 845Nt, A>C at 1039Nt, and A>C at 1061Nt. Thus, among the 14 isolates, mutations in the embB gene were detected in 8 samples (57%), indicating the presence of ethambutol-resistant Mycobacterium tuberculosis strains in South Sulawesi.
***Keywords**: embB gene, TB isolates, PCR-Sequencing method*

Abstrak

Tuberculosis (TB) adalah penyakit yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*. Bakteri ini dapat mengalami resistensi terhadap beberapa obat, termasuk etambutol, yang merupakan salah satu obat anti-TB. Resistensi terhadap etambutol sering dikaitkan dengan adanya mutasi pada *gen embB*. Mutasi pada gen ini dapat digunakan sebagai penanda molekuler untuk mendeteksi resistensi *Mycobacterium tuberculosis* terhadap etambutol.Tujuan penelitian ini adalah untuk deteksi mutasi Gen *embB* sebagai penanda resisten terhadap etambutol pada *Mycobacterium tuberculosis*. Penelitian ini menggunakan jenis penelitian observasi laboratorium dengan desain *cross sectional study* menggunakan isolat *Mycobacterium tuberculosis* sebanyak 14 sampel yang tersimpan di *HUM-RC*. Pemeriksaan sampel dilakukan dengan menggunakan metode *PCR-Sequencing*, untuk melihat terjadinya mutasi. Hasil *PCR* yang disajikan dalam bentuk visual *elektroforesis* menunjukan keberadaan gen *embB* yang terdeteksi pada target 929bp pada 8 sampel. Hasil data *sequencing* yang dianalisis menggunakan *Software Bioedit* menunjukan gen *embB* yaitu subtitusi/perubahan basa *G>C* pada 821Nt, T>G pada 845Nt, dan A>C pada 1039Nt, A>C pada 1061Nt. Sehingga dari 14 sampel ditemukan mutasi gen embB pada 8 (57%) dari 14 sampel terjadi resisten di sulawesi selatan.
Kata Kunci: *Gen embB*, Isolat TB*, PCR- Sequencing*

PENDAHULUAN

Tuberculosis (TB) adalah penyakit yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*. Tuberculosis bisa menyerang bagian paru-paru dan dapat menyerang semua bagian tubuh. *Tuberculosis* adalah penyakit menular langsung, sebagian besar kuman TB menyerang paru-paru, tetapi dapat juga mengenai organ tubuh lainnya (Sari dkk., 2022)

Berdasarkan data dari *World Healt Organization* (WHO) total kasus TB di dunia pada tahun 2023 mencapai 10,8 juta kasus 6 juta diantaranya laki-laki, 3,6 juta perempuan, dan 1,25 juta anak-anak. Dua negara yang memberikan kontribusi terbesar terhadap peningkatan TB secara global adalah India dan Indonesia yaitu sebesar 45% antara tahun 2021 dan 2023 (WHO,2024).

Kasus Tuberculosis di Indonesia menurut data kemenkes RI 2024 dari 2021 Tercatat 543.874 kasus ternotifikasi kasus tuberculosis dan pada tahun 2023 tercatat sebanyak 820.789 (Kemenkes RI, 2024). Jumlah penderita TB di kota makassar berdasarkan data 2024, jumlah kasus baru telah mencapai 27.256. Sementara itu, pada tahun 2023, jumlah pasien TBC yang berhasil diidentifikasi sebanyak 27.141 kasus," OAT (Rismayanti dkk., 2023).

Salah satu bentuk upaya yang dilakukan pemerintah indonesia dalam penanggulangan kasus TB yaitu dengan penanggulangan dengan pemberian terapi pengobatan terhadap pasien TB (Siregar, 2019). Salah satu obat anti Tuberculosis dalam program pengobatan tuberculosis adalah isoniazid (INH), Rifampisin (RIF), Etambutol (EMB), Streptomisin ,dan Pirazinamid (PZA). Terjadinya resistensi di tandai adengan adanya gen emb (Widayanti *dkk.,* 2018).

Gen *Emb* yang menyandi *enzim transferase* berkaitan langsung dengan sifat resistensi *Mycobacterium tuberculosis* terhadap *ethambutol*. *Ethambutol* termasuk obat ini pertama pengobatan TB yang berkhasiat spesifik terhadap mikobakteri dan tidak terhadap bakteri-bakteri lain. Kerja bakteriostatiknya mungkin berdasarkan penghambatan sintesis (Utary dkk., 2020).

Etambutol hidroklorida merupakan golongan antimikroba bakteriostatik yang digunakan sebagai obat anti tuberkulosis (OAT) sejak tahun 1960an. Etambutol bekerja menghambat *arabinosil transferase* yang memerantai *polimerasi arabinose* menjadi *arabinogalactan* dan *lipoarabinomannan* pada dinding sel *Mycobacterium tuberkulosis* (Sundari dkk., 2020).

Pada Penelitian sebelumnya oleh Arianti dkk, (2022) menunjukan bahwa terdapat resistensi *Mycobacterium tuberculosis* terhadap antibiotik *Rifampisin* 23,53%, *etambutol* 29,4%, dan *izoniasid* 35,5%. Dan pada penelitian Clin *et al*., (2015) terdapat mutasi pada kodon *embB*306 telah diusulkan sebagai penanda molekuler untuk resistensi *EMB* dalam tes diagnostik. Studi terbaru menunjukkan bahwa mutasi *embB*306 berhubungan dengan resistensi obat *etambutol*. Resistensi *EMB*, yang menunjukkan mutasi *embB*306 dapat digunakan sebagai penanda molekuler untuk MDR-TB.

Berdasarkan uraian di atas maka peneliti mengangkat judul penelitian ini karena peneliti ingin mengetahui apakah terdeteksi *gen embB* yang resisten terhadap antibiotik *etambutol* dengan menggunakan metode *PCR-Sequensing*, dimana peneliti menggunakan sampel isolat untuk mendeteksi antigen dalam tubuh pasien. Pada penelitian ini digunakan sampel isolate *tuberculosis*.

BAHAN DAN METODE

Sampel isolat diambil di laboratorium Hasanuddin Medical Reserach Center (HUM-RC) Makassar pada bulan juni 2025. Lokasi penelitian bertempat di laboratorium HUM-RC pada bulan juni 2025.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu isolate *Mycobacterium tuberculosis,* kit ekstraksi (GENEID), bubuk gel agarose *molekuler grade*, *etidium bromide* (EtBr), larutan *buffer Tris Borate* EDTA (TBE), marker DNA, DNA leader, filter tip, tabung mikrosentrifuse 1,5, tabung Eppendorf, tabung spin column, cetakan hasil isolasi, *enzim taq polymerase,* dNTPs (*deoxynucleosida trifosfat*) sebagai sumber nukleotida, Bu ffer PCR (MgCl), *Nuclease free water* (NFW), *marker, Proteinase K, Buffer GSB, Etanol Absolute, Wash Buffer, W1 Buffe,*

Elution buffer, dan, primer embB 929bp.

Forward (5''CACGCTGAAACTGCTGGCGATC 3'')

Reserve (5'GTAACGCAGGTTCTCGGTATAC'3) .

Jenis penelitian ini adalah penelitian observasi laboratorium dengan desain *cross sectional study*.

Penelitian ini terdiri dari empat tahap penelitian yaitu:

1. Ekstraksi DNA Sampel isolat Tb diekstraksi sesuai protocol DNA kit. Dalam proses ekstraksi DNA tahapan pertama yang dilakukan yaitu pelisisan sel, dimana dipipet sebanyak 200 µl sampel dimasukkan ke dalam tabung mikro centrifuge 1,5 ml steril lalu ditambahkan 20 µl proteinase K lalu vortex selama 10 detik kemudian inkubasi selama 5 menit pada suhu 60^{o}C kemudian tambahkan 200 µl *buffer* GSB lalu *vortex* dan inkubasi kembali selama 2 menit pada suhu 60^{o}C setelah itu tambahkan *etanol absolute* sebanyak 200 µl dan *vortex* selama 10 detik. Tahapan yang kedua yaitu pengikatan DNA (DNA binding), pertama-tama dipindahkan semua sampel kedalam tube *spin column* lalu sentrifuge selama 1 menit dengan kecepatan 14.000 rpm kemudian buang *collection tube* yang berada dibagian bawah *spin column* lalu pipet sisa sampel dan pindahkan ke dalam tube yang baru. Tahapan yang ketiga yaitu pencucian (*wash*), dilakukan dengan menambahkan 400 µl W1 *buffer* ke dalam tube lalu sentrifuge selama 1 menit dengan kecepatan 14.000 rpm, buang endapannya dan tambahkan kembali W1 *buffer* sebanyak 600 µl, sentrifuge selama 30 detik dengan kecepatan 14.000 rpm lalu buang cairan pada *collection tube* dan sentrifuge kembali selama 3 menit dengan kecepatan 14.000 rpm lalu buang *collection tube* dan letakkan tabung *eppendorf* baru pada bagian bawah *spin column* dan pipet sisa sampel. Tahapan yang terakhir yaitu *elution,* pertama pipet *elution buffer* sebanyak 100 µl kemudian diamkan selama 3 menit lalu sentifuge selama 30 detik dengan kecepatan 14.000 rpm. Hasil *ekstraksi* disimpan pada lemari es dengan suhu -4^{o}C untuk digunakan sebagai template PCR.
2. Amplifikasi PCR

   Hasil ekstraksi DNA kemudian diamplifikasi menggunakan campuran rekasi PCR yang terdiri dari : *Taq DNA Polymerase* 100 µl, Primer *forward* dan primer

reserve 8 µl kemudian tambahkan masing-masing 44 µl *nuclease free water* kemudian di *vortex* selama 5 detik dan dipipet masing-masing-masing 10 µl ke tabung PCR dan tambahkan masing-masing 5 µl template DNA hasil ekstraksi kedalam tabung PCR kemudian di *spin down*. Selanjutnya dimasukkan tabung yang berisi sampel dan PCR mix kedalam alat PCR *Thermocycler*. Reaksi PCR memiliki 35 siklus yang terdiri dari *predenaturasi* 95^{o}C selama 2 menit yang diikuti oleh *denaturasi* 95^{o}C selam 15 detik, *anneling* 55^{o}C selama 30 detik dan tahap *ekstension* 72^{o}C selama 30 detik dan *post ekstension* pada suhu 72^{o}C selama 7 menit.

3. Elektroforesis

   Hasil amplifikasi kemudian di elektroforesis disiapkan *gel agarose* 1,5% yang dibuat 1,5 gram *agarose* yang dicampur 100 ml TBE (*Tris Borate EDTA)* lalu Homogenkan dan setelah itu dipanaskan dengan *microwave* selama 3 menit dengan suhu 450 ^{o}C kemudian keluarkan dari microwave dan dipipet *Etidium Bromida* (EtBr) sebanyak 3 µl dan homogenkan lalu dituang ke dalam pencetak gel yang telah dipasangkan sisiran dan tunggu 1 jam hingga mengeras. Dimasukkan *gel agarose* ke dalam *chamber* elektroforesis yang berisi larutan *buffer* TBE 0,5 ke dalam chamber sampai tanda batas maksimal dan pipet ladder marker ke dalam sumur pertama sebanyak 5 µl lalu pipet control negative ke dalam sumur ke dua sebanyak 5 µl lalu pipet masing-masing sampel DNA sebanyak 5 µl ke dalam sumur ketiga sampai sumur empat belas. Setelah itu tutup chamber dan atur arus listrik 100 *volt* selama 45 menit dengan kuat arus 400 mA. Lalu tekan tanda "RUN" selanjutnya setelah proses elektroforesis selesai gel diangkat lalu dibaca dengan alat visualisasi *BIO-Rad Geldoc UV Transiluminator*.

4. Sequencing

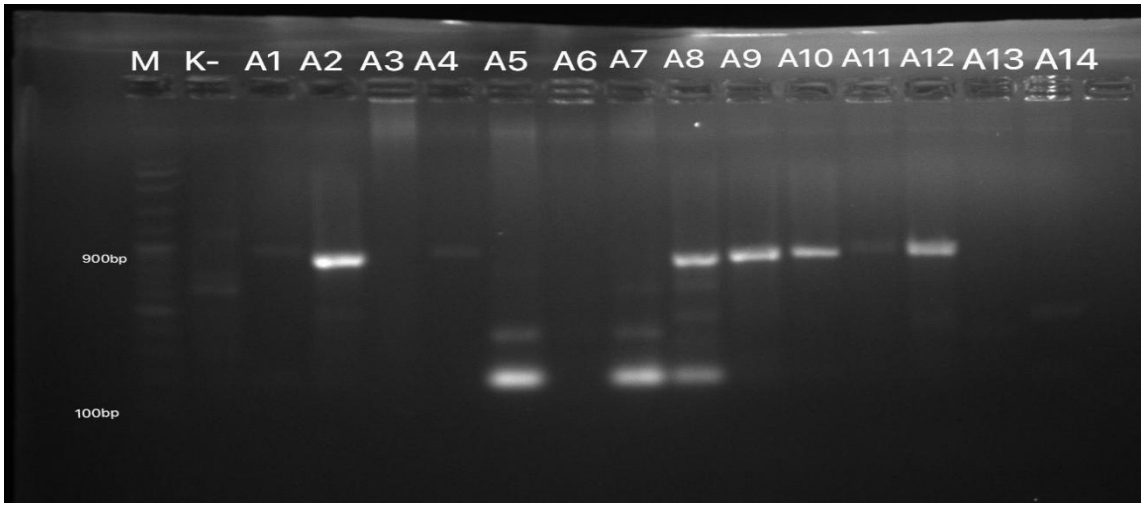
   Produk PCR yang telah terkonfirmasi keberadaan *gen embB* dari masing-masing sampel kemudian dikirim untuk dilakukan sequencing di Lab 15Tbase Malaysia dengan menggunakan primer forward sequencing searah. Hasil *sequencing* diperoleh dalam bentuk *file sequens*/urutan DNA berformat AB1.

5. Pembacaan Hasil *Sequencing*

Pada software bioedit dibuka file sequens DNA patokan dalam format fasta yang telah didownload dari gen bank NCBI (*National Center for Biotechnology Information*). Diimport 8 file hasil sequencing dalam format AB1 sehingga squens DNA dari 8 sampel ditampilkan tepat dibawah sequens DNA patokan. Dilakukan running program *ClustalW* pada menu *Accessory Aplication* untuk menyelaraskan semua sequens hasil sequencing sampel dan sequens DNA patokan. Setelah diselaraskan, dicari perubahan/substitusi basa yang terjadi dengan menggunakan *fitur View conservation by plotting identities to a standart as a dot*. Fitur ini akan membuat sequens basa dari DNA patokan tetap ditampilkan keseluruhannya, sedangkan sequens basa dari ke-8 hasil sequencing ditampilkan sebagai beriikut; basa nukleotida yang tidak terjadi perubahan (berada pada keadaan standar) akan ditampilkan sebagai titik, untuk basa yang terdeteksi mengalami perubahan akan ditunjukan basa nukleotidanya sehingga dapat dibandingkan dengan basa nukleotida pada sequen DNA patokan dan dikeatahui perubahan basa yang terjadi.

HASIL

1. **H**asil penelitian dapat dilihat pada gambar 1 di bawah ini

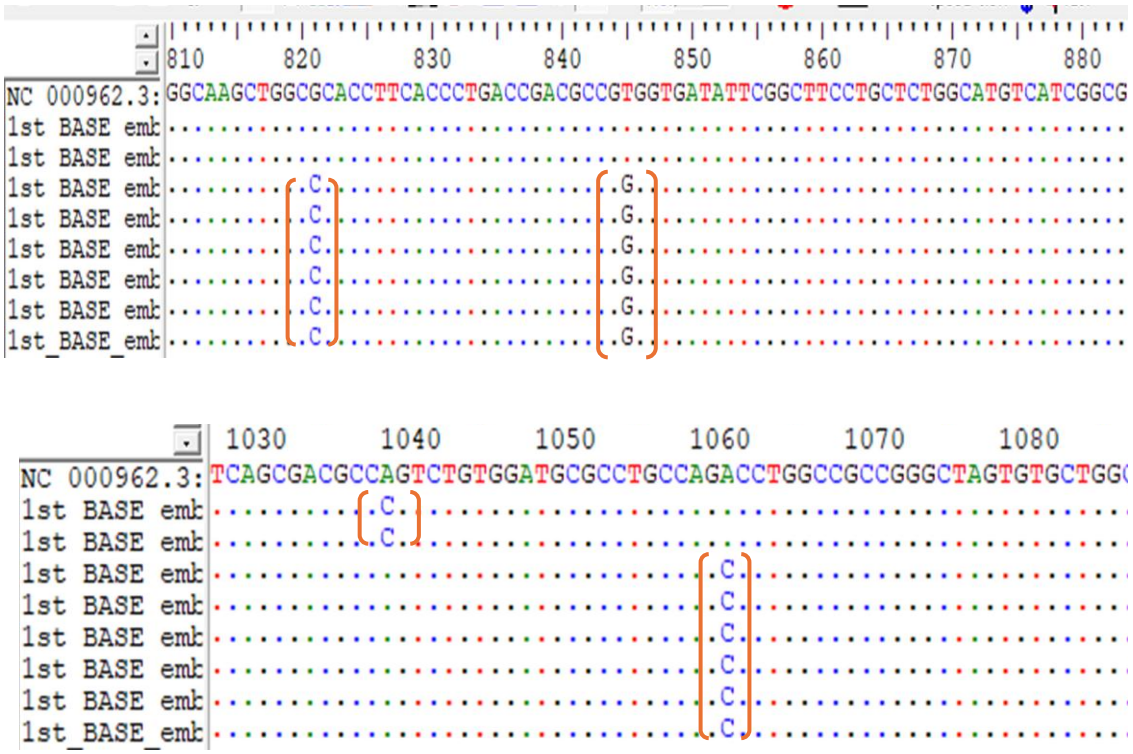


Gambar 1. Hasil visualisasi Gen embB dengan menggunakan metode PCR Konvensional. Keterangan M; Marker, K-; Kontrol negatif, A1-A14; Sampel.

Hasil visualisasi elektroforesis produk PCR dengan primer spesifik dari gen embB seperti yang terlihat pada gambar 1 menunjukan keberadaan gen embB pada sampel A1, A2, A4, A8, A9, A10, A11, A12 yang di tandai positif dengan terbentuknya pita DNA dibawah gel doct dari empat belas sampel pada target 929 bp. Sedangkan sampel A3,A5,A6,A7,A13, dan A14, di dapatkan hasil yang negative karena tidak terdapat visualisasi pita DNA yang muncul pada target 929 bp. Sehingga terdapat adanya mutasi gen embB yang resisten terhadap etambutol. Pada pita band yang terdapat pada A5, A7, A8, merupakan unspesific band yang terbentuk pita band.

1. Hasil *Sequencing*

   Pada pemeriksaan *sequencing* yang bertujuan untuk mencari adanya perubahan pada sequens DNA Gen embB dengan menggunakan software bioedit, diperoleh hasil seperti pada gambar 2.



Gambar 2. Perbandingan sequens DNA patokan dengan sequens DNA hasil sequencing delapan sampel.

DISKUSI

Hasil yang terlihat setelah analisis menggunakan *sofwart bioedit* menunujukan adanya substitusi/perubahan struktur basa nukleotida pada sequens DNA gen embB, dimana pada 821 bp Guanin (G) tersubtitusi menjadi (C) Citosin dan 845 bp Timin (T) tersubtitusi menjadi (G) Guanin terdapat pada kode sampel 3 sampai 8, dan 1039 bp (A) Adenin tersubtitusi menjadi (C) Citosin pada sampel 1 dan 2, 1061 bp (A) Adenin tersubtitusi menjadi (C) Citosin terdapat pada kode sampel 3 sampai 8. Yang menunujukan adanya mutasi.

Semua subjek penelitian ini adalah penderita tuberkulosis dengan kategori pasien TB yang mengonsumsi OAT, Pada hasil elektroforesis produk PCR (Gambar 2) pada sampel A1, A2, A4, A8, A9, A10, A11,A12, ditemukan keberadaan gen embB pada target 929bp yang resisten terhadap etambutol sedangkan pada sampel A3,A5,AA6,A7,A13,A14 tidak di temukan keberadaan gen embB pada target 929bp. Dari total 14 sampel yang dianalisa menggunakan teknologi molekuler PCR, didapatkan hasil bahwa 8 diantaranya diketahui telah resisten terhadap antibiotik etambutol. Hal ini dapat terjadi karena penderita mengalami resistensi terhadap obat anti *tuberkulosis* yang terjadi secara primer dimana penderita belum pernah mendapat pengobatan tetapi telah mengalami resistensi obat akibat tertular oleh strain bakteri yang telah mengalami resistensi. Selain itu, proses resistensi obat juga dapat dikarenakan penderita yang telah mendapat pengobatan akan tetapi strain bakteri telah mengalami perubahan. Selain dua hal tersebut, masih banyak lagi penyebab penderita mengalami resistensi obat (Nurhajri dkk., 2022).

Sedangkan sampel yang tidak mengalami mutasi (*Wild Type*) menandakan bahwa sampel tersebut tidak mengalami resistensi terhadap antibiotik jenis *etambutol* yang dapat disebabkan oleh beberapa faktor salah satu diantaranya yaitu pengobatan yang telah diberikan sudah adekuat dan sesuai standar. Hal ini erat kaitannya dengan patomekanisme resistensi yang menandakan semua aktivitas enzim, proses metabolisme, dan efektivitas antibiotik pada *Mycobacterium tuberculosis* sudah berjalan sesuai dengan fungsi dan peran dari

antibiotik itu sendiri.

Resistensi ini terjadi dimana antibiotik yang digunakan sudah tidak mampu lagi melawan kuman penyebab penyakit. Hal tersebut dikarenakan pada saat antibiotik diberikan, kuman penyebab penyakit telah mengalami mutasi. Antibiotik *etambutol* tidak dapat bekerja sendiri, obat ini memerlukan obat yang lain sehingga dapat bekerja secara menyeluruh dalam membunuh kuman. Antibiotik etambutol sendiri bekerja dalam menghambat kinerja *enzim arabinosyl transferase* yaitu suatu enzim yang berperan dalam pembentukan dinding sel bakteri *Mycobacterium tuberculosis* sehingga menyebabkan terjadinya peningkatan permeabilitas pada dinding sel dan membuat obat-obat yang lain dapat masuk. Mutasi pada gen ini dapat menyebabkan resistensi terhadap *etambutol* sehingga protein yang dihasilkan berubah sehingga obat tidak lagi efektif, etambutol bekerja dengan cara menghambat enzim tersebut dengan efektif (Nurhajri dkk., 2022).

Berdasarkan pembacaan hasil *sequencing* dengan *software bioedit*, diketahui bahwa sampel dengan kode sampel 1 sampai 8 merupakan sampel dengan perubahan struktur basa *nukleotida* (Mutasi) gen embB resisten *etambutol* penderita TB yang sedang mengkonsumsi obat antibiotik sejak lama.

Mutasi *missense* dapat mengubah struktur protein/aktifitas. Perubahan basa *nukleotida* dari (G) *Guanin* menjadi (C) *Sitosin* dan (T) *Timin* menjadi (G) *Guanin*, dan (A) *Adenin* menjadi (C) *Sitosin*, dan (A) *Adenin* menjadi (G) *Guanin*, yaitu mutasi subtitusi *transversion* pergantian *purin* menjadi *pirimidin* begitu pun sebaliknya. Adanya perbedaan mutasi pada 4 empat kodon terjadi perubahan sehingga dapat mengubah asam amino yang dikodekan. Perubahan pada kodon menyebabkan perubahan sifat asam amino dari asam aspartat yang bersifat polar dan asam menjadi tirosin yang bersifat polar dan netral. Perubahan pada kodon juga mengubah sifat asam amino yaitu dari glutamin yang bersifat polar dan netral menjadi arginin yang bersifat polar dan basa mutasi pada kodon yang merupakan mutasi yang umum terjadi, dengan angka kejadian yang sedikit bervariasi.

Mutasi gen yang mengarah ke perubahan kode genetik, bisa terjadi pada

kodogen (DNA) / bisa juga pada kodon (*triplet*) pada RNA dari urutan kode basa nitrogennya, sehingga membawa kesalahan terbentuknya asam amino, akibat kesalahan terbentuknya asam amino ini membawa dampak ke kesalahan terbentuknya protein, kesalahan terbentuknya enzim karena komponen penyusunnya protein.

Sehingga perubahan asam amino pada kodon 306 merupakan yang paling sering terjadi dan terjadi pada 8 (100%) isolat (yaitu, pada Substitusi yang dihasilkan dari transisi G→C pada posisi *nukleotida* 821 terdeteksi pada kode sampel 3,4,5,6,7, 8 isolat resisten embB dan 2 isolat rentan embB, sementara substitusi, yang disebabkan oleh transisi T→G pada posisi *nukleotida* 850, masing-masing terdeteksi pada kode sampel 3,4,5,6,7,8 isolat resisten dan 2 isolat rentan. Perubahan asam amino yang disebabkan oleh transisi A→C pada posisi *nukleotida* 1039. Perubahan ini hanya ditemukan pada kode sampel 1,2 isolat resisten *embB*. 6 isolat rntan, yang memiliki mutasi pada daerah yang dianalisis: A→C pada posisi 1061 perubahan yang ditemukan pada kode sampel 3,4,5,6,7,8 (Bakuba dkk., 2017).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa adanya mutasi pada *gen embB* sebanyak 8 sampel pada target 929bp, dan terjadi subtitusi/perubahan struktur basa *nukleotida* pada *sequens* DNA ke 8 sampel tersebut pada target yang berbeda.

UCAPAN TERIMAKASIH

Melalui kesempatan ini, peneliti mengucapkan rasa hormat serta terima kasih yang setinggi-tingginya terkhusus kepada kedua orang tua peneliti yang tak hentinya memberikan do'a, semangat, dan dukungan kepada peneliti baik dari segi moril maupun materil.

1. Dr. Nirmawati Angria S.SI. M. Kes, selaku Pembimbing penelitian di HUM-RC.

2. Pihak-pihak yang telah banyak membantu yang tidak bisa peneliti sebutkan satu per satu.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan baik dalam proses penelitian maupun penyusunan naskah ini.

REFRENSI

Clin, I. J., Med, E., Zhang, H., Chen, X., Wang, Z., & Ren, Z. (2015). *Artikel Asli Analisis pyrosequencing untuk mutasi pada embB kodon306 di antara isolat klinis mycobacterium tuberculosis dari Qingdao , Cina*. *8*(7), 11276–11282.

Rinanda, T. (2015). Kajian Molekuler Mekanisme Resistensi. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*, *15*(3), 162–167.

Rismayanti, Muh. Arman Nyomba, Aliyyah Ansariadi, & Alika Tasya Devana. (2023). Analisis Determinan Tuberculosis di Kota Makassar. *Media Publikasi Promosi Kesehatan Indonesia (MPPKI)*, *6*(2), 290–295.

Sari, G. K., Sarifuddin, & Setyawati, T. (2022). Tuberkulosis Paru Post Wodec Pleural Efusion: Laporan Kasus Pulmonary Tuberculosis Post Wodec Pleural Effusion: Case Report. *Jurnal Medical Profession*, *4*(2), 174–182.

Siregar, S. R. (2019). Extensively Drug Resistant Tuberculosis (XDR TB). Jurnal Averrous, 5(2).

Dewi Utary, Fachrudi Hanafi, S. (2020). Deteksi Mutasi Gen Emb Sebagai Sifat Resistensi Primer First Line Oral Agents Etambutol Pada Pasien TB Paru BTA + Di Wilayah Kerja Puskesmas Kabupaten Lombok Timur Dewi. *Jurnal Kedokteran*, *6*(01), 147–154.

WHO. (2023). Global Tuberculosis Report 2023. World Health Organization.

NOBACTERIA (NANOMEDICINE BACTERIOPHAGE D29 AND BEDAQUILINE NANOPARTICLES): AN INNOVATIVE APPROACH TO CONTROL DRUG-RESISTANT TUBERCULOSIS IN INDONESIA

Deivan Pradana Putra[1]*

[1]Sarjana Terapan Teknologis Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang, Jawa Tengah, Indonesia

e-Mail: deivanpp17@gmail.com
No Tlp WA : (+62) 82257454233

Abstract

***Background**: The emergence of drug-resistant Mycobacterium tuberculosis (M.tb), including MDR-TB, XDR-TB, and XXDR-TB, poses a critical global health threat, with Indonesia ranked among the top three countries for TB burden. **Objective**: This research introduces NOBACTERIA nanomedicine as an innovative therapeutic strategy combining bacteriophage D29 and bedaquiline nanoparticles encapsulated in liposomes to enhance targeted drug delivery against resistant M.tb strains. **Methods**: The study employs a microfluidic-based encapsulation technique integrating D29 and bedaquiline into liposomes, forming a stable nano-formulation for intravenous administration. The synergistic mechanism between the lytic activity of phage D29 and the ATP synthase inhibition by bedaquiline was analyzed through in vitro and in silico approaches to evaluate its efficiency against resistant M.tb. **Results**: The liposomal formulation demonstrated improved pulmonary targeting, biofilm penetration, and intracellular drug release within alveolar macrophages infected by M.tb, leading to enhanced bactericidal efficiency and reduced systemic toxicity. **Conclusion**: NOBACTERIA nanomedicine presents a promising molecular-level solution to overcome drug-resistant tuberculosis, potentially improving treatment outcomes and supporting Indonesia's contribution to the WHO End TB Strategy by 2050.*

***Keywords**: Drug-Resistant Tuberculosis, Nanomedicine, Bacteriophage D29, Bedaquiline, Liposome*

Abstrak

Latar Belakang: Munculnya *Mycobacterium tuberculosis* (M.tb) resisten obat, termasuk MDR-TB, XDR-TB, dan XXDR-TB, menjadi ancaman serius bagi kesehatan global, dengan Indonesia menempati peringkat ketiga tertinggi dalam beban TB dunia. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan mengembangkan inovasi NOBACTERIA *nanomedicine* sebagai strategi terapi gabungan antara bakteriofag D29 dan nanopartikel bedaquiline yang dikemas dalam liposom untuk meningkatkan efektivitas pengantaran obat secara terarah terhadap strain M.tb resisten. **Metode:** Penelitian menggunakan teknik enkapsulasi berbasis mikrofluidik yang mengintegrasikan bakteriofag D29 dan bedaquiline ke dalam liposom untuk menghasilkan formulasi nano yang stabil dan dapat diberikan secara intravena. Analisis dilakukan secara in vitro dan in silico untuk menilai sinergi aktivitas litik D29 dan penghambatan ATP sintase oleh bedaquiline terhadap M.tb resisten. **Hasil:** Formulasi liposom menunjukkan peningkatan penargetan ke paru, kemampuan menembus biofilm, serta pelepasan obat intraseluler yang lebih efektif di makrofag alveolar terinfeksi M.tb, dengan efek bakterisidal yang lebih tinggi dan toksisitas sistemik lebih rendah. **Kesimpulan:** NOBACTERIA nanomedicine berpotensi menjadi solusi molekuler inovatif untuk meningkatkan keberhasilan terapi TB resisten dan mendukung pencapaian strategi WHO End TB 2050 di Indonesia.

Kata Kunci: Tuberkulosis Resisten Obat, Nanomedisin, Bakteriofag D29, Bedaquiline, Liposom

PENDAHULUAN

Berdasarkan Global Tuberculosis Report 2024, Indonesia menempati peringkat kedua tertinggi di dunia setelah India dalam beban penyakit tuberkulosis (TB). Diperkirakan terdapat 1.090.000 kasus TB baru setiap tahun, dengan 125.000 kematian atau setara dengan 14 kematian per jam. Pada tahun 2024, jumlah kasus TB yang ditemukan mencapai 885.000 kasus, terdiri dari 496.000 laki-laki, 359.000 perempuan, dan 135.000 anak-anak (usia 0–14 tahun) (World Health Organization, 2024).

Selain itu, Indonesia diklasifikasikan sebagai negara dengan beban tinggi untuk MDR/RR-TB (Multi-Drug Resistant/Rifampicin-Resistant Tuberculosis) dan menyumbang sekitar 7,4% kasus MDR/RR-TB global pada tahun 2023, setara dengan 29.000–30.000 penderita. Prevalensi MDR/RR-TB pada kasus TB baru diperkirakan sekitar 2,6%, sementara pada kasus TB yang telah diobati sebelumnya mencapai 17,8%. Tren MDR-TB di Indonesia terus meningkat, dari sekitar 26.000 kasus (2015–2016), 25.000 kasus (2017), 24.000 kasus (2020), hingga melonjak menjadi ±28.000 kasus pada 2021. WHO juga menempatkan Indonesia dalam lima besar negara dengan beban MDR/RR-TB tertinggi, bersama India, Tiongkok, Rusia, dan Filipina (World Health Organization, 2024).

Dalam dua dekade terakhir, strain *Mycobacterium tuberculosis* (*M.tb*) yang resistan terhadap antibiotik *Multi Drug-Resistant* (*MDR*), *Extensively Drug-Resistant* (*XDR*), *Extremly Drug-Resistant* (*XXDR*) telah muncul sebagai ancaman bagi kesehatan masyarakat di seluruh dunia. Hal ini menekankan perlunya mengembangkan strategi pencegahan dan pengobatan tuberkulosis (TB) baru yang inovatif (Allué-Guardia *et al.*, 2021; Putra *et al.*, 2025). Diperkirakan bahwa dalam 35 tahun ke depan, penyakit TB yang resistan terhadap obat akan membunuh sekitar 75 juta orang dan merugikan ekonomi global $ 16,7 triliun *(Allué-Guardia, Saranathan, et al.*, 2021). Adanya pandemi COVID-19 menyebabkan peningkatan sebanyak 6,3 juta kasus TB baru akibat keterbatasan sumber daya serta kebijakan penguncian (lockdown) di wilayah endemik TB

(Allué-Guardia, Saranathan, *et al*., 2021; Chowdhury *et al*., 2023).

Pengobatan untuk *MDR-TB* sangat sulit karena *MDR-TB* resisten terhadap dua obat anti-TB lini pertama yang paling efektif (isoniazid dan rifampisin) (Bu *et al., 2023; Lestari et al., 2024)*. Namun, *Extensively Drug Resistant Tuberculosis* (*XDR-TB*), sebagai jenis *MDR*, lebih memprihatinkan karena resisten terhadap isoniazid, rifampisin, serta semua fluoroquinolone dan obat injeksi lini kedua (Bu et al., 2023). Tingkat kesembuhan keseluruhan untuk *MDR-TB* dan *XDR-TB* hanya 56% dan 39%, masing-masing (Bu *et al*., 2023). Selama lebih dari satu dekade, proporsi pasien *MDR-TB* dan resisten rifampisin yang didiagnosis dengan TB untuk pertama kalinya tetap sekitar 3%–4%, sementara proporsi pasien yang sebelumnya telah diobati untuk TB tetap di angka 18%–21% (Bu *et al*., 2023). Bahkan, ada negara-negara di mana proporsi kasus *MDR-TB* yang sebelumnya diobati melebihi 50% (Bu *et al*., 2023). Proporsi *XDR-TB* dalam kasus TB jarang dilaporkan (Bu et al., 2023).

Dalam beberapa tahun terakhir, penelitian mengenai kombinasi bakteriofag dan antibiotik menunjukkan hasil menjanjikan, karena efek sinergis keduanya mampu menekan jumlah bakteri lebih efektif dibandingkan penggunaan tunggal (Łusiak-Szelachowska *et al*., 2022). Berdasarkan temuan ini, dikembangkan gagasan NOBACTERIA nanomedicine, suatu inovasi terapi berbasis bakteriofag D29 dan antibiotik bedaquiline dalam sistem liposom, sebagai upaya menanggulangi infeksi TB resisten obat di Indonesia.

Bakteriofag D29 merupakan fage litik yang mampu menembus dan melisiskan *M.tb* secara cepat (Sengupta *et al*., 2022), sementara bedaquiline, antibiotik golongan diarylquinoline, bekerja dengan menghambat ATP synthase—enzim penting dalam produksi energi bakteri (Tong *et al*., 2023). Kombinasi kedua agen ini, jika dikemas dalam nanoliposom, mampu memberikan efek sinergis yang menargetkan infeksi TB hingga ke dalam makrofag alveolar paru, sehingga diharapkan dapat menjadi terobosan terapeutik molekuler menuju eliminasi TB di

Indonesia tahun 2050 sesuai target WHO.

BAHAN DAN METODE

Desain dan Pendekatan Inovasi

Inovasi NOBACTERIA *Nanomedicine* dirancang menggunakan pendekatan konseptual eksperimental yang berlandaskan kajian literatur (*literature-based design*). Pendekatan ini digunakan untuk mengembangkan rancangan terapi gabungan antara bakteriofag D29 dan antibiotik bedaquiline yang dikemas dalam sistem penghantaran berbasis liposom. Metode ini dipilih karena mampu menggambarkan secara teoritis mekanisme kerja sinergis kedua agen terapeutik tersebut dalam menekan pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* (M.tb) yang resisten terhadap obat.

Bahan Konseptual

Bahan konseptual yang digunakan dalam rancangan ini terdiri atas bakteriofag D29 sebagai komponen mikrobiologi utama, antibiotik bedaquiline sebagai komponen farmakologis, dan liposom sebagai sistem penghantaran obat. Bakteriofag D29 merupakan jenis bakteriofag litik yang mampu secara spesifik menginfeksi dan melisiskan *M.tb* dengan cepat (Sengupta *et al.*, 2022). Bedaquiline adalah antibiotik golongan diarylquinoline yang bekerja dengan menghambat enzim *ATP synthase*, yaitu enzim penting dalam produksi energi bakteri (Tong *et al.*, 2023). Sementara itu, liposom berperan sebagai pembawa nanopartikel yang melindungi bahan aktif dan meningkatkan penghantaran ke jaringan target, khususnya paru-paru (Ferreira *et al.*, 2021).

Konsep dan Prosedur Rancangan

Proses perancangan NOBACTERIA dilakukan melalui beberapa tahapan konseptual. Tahap pertama adalah perancangan formula dasar liposom yang disusun dari campuran fosfatidilkolin dan kolesterol berukuran nano (sekitar 100–200 nm). Ukuran ini dipilih karena memungkinkan penetrasi ke dalam jaringan paru dan dinding biofilm *M.tb* (Ferreira *et al.*, 2021). Tahap kedua adalah simulasi enkapsulasi bakteriofag D29 dan bedaquiline ke dalam liposom. Dalam

rancangan ini, bakteriofag D29 yang bersifat hidrofilik ditempatkan di bagian berair liposom, sedangkan bedaquiline yang bersifat lipofilik berada di lapisan lipidnya. Model enkapsulasi ganda ini diadaptasi dari penelitian yang menunjukkan efektivitas kombinasi fage–antibiotik dalam meningkatkan efek antibakteri (Jung *et al.*, 2021; Silva *et al.*, 2023).

Tahap berikutnya adalah perancangan mekanisme kerja konseptual secara *in silico* dan teoritis. Berdasarkan hasil literatur, bakteriofag D29 berperan untuk menginfeksi dan menghancurkan *M.tb* melalui proses lisis, sementara bedaquiline menghambat produksi energi sel bakteri melalui penghambatan enzim *ATP synthase*. Sinergi keduanya diperkirakan dapat meningkatkan efektivitas pengobatan, menekan tingkat resistensi, dan mengurangi efek samping yang sering terjadi pada terapi konvensional *(Łusiak-Szelachowska et al.*, 2022).

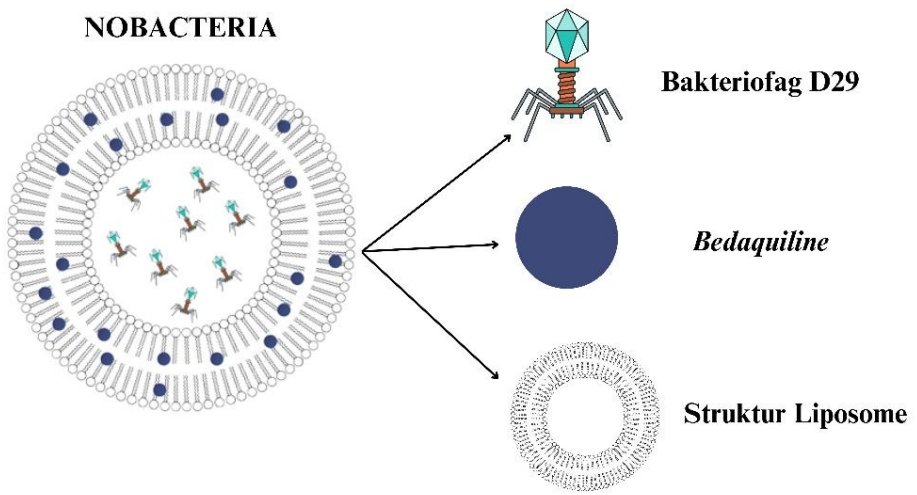
Langkah selanjutnya berupa rancangan implementasi di masa depan, di mana inovasi ini berpotensi dikembangkan melalui kerja sama dengan lembaga riset seperti Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) dan PT Bio Farma untuk melakukan uji praklinis. Uji tersebut meliputi penilaian stabilitas liposom, efektivitas antibakteri terhadap biofilm *M.tb*, serta keamanan dasar secara *in vitro* sebelum dikembangkan ke tahap lanjutan.

Analisis terhadap inovasi ini dilakukan secara kualitatif dan teoritis dengan membandingkan hasil-hasil riset sebelumnya yang relevan. Berdasarkan kajian literatur, bakteriofag D29 terbukti memiliki kemampuan litik yang kuat terhadap *M.tb* (Jeyasankar *et al.*, 2024; Sengupta *et al.*, 2022), sedangkan bedaquiline menunjukkan tingkat kesembuhan yang tinggi pada pasien MDR-TB (Tong *et al.*, 2023). Selain itu, liposom telah terbukti efektif dalam meningkatkan pengantaran obat ke jaringan paru dan makrofag alveolar (Ferreira *et al.*, 2021; Silva *et al.*, 2023). Berdasarkan data tersebut, kombinasi ketiganya diperkirakan dapat menghasilkan efek sinergis pada tingkat molekuler dalam menghancurkan *M.tb* yang bersembunyi di dalam sel makrofag paru.

HASIL

Pengobatan Tuberkulosis (TB) resisten terhadap obat merupakan salah satu tantangan terbesar dalam dunia kesehatan saat ini. Dengan meningkatnya kasus *Multidrug-Resistant Tuberculosis* (*MDR-TB*), *Extensively Drug-Resistant Tuberculosis* (*XDR-TB*), dan *Extremely Drug-Resistant Tuberculosis* (*XXDR-TB*), strategi pengobatan baru sangat diperlukan (Allué-Guardia *et al.*, 2021). Pengobatan konvensional menggunakan antibiotik sering kali tidak efektif lagi karena *Mycobacterium tuberculosis* (*M.tb*) telah mengembangkan mekanisme resistensi yang kuat.

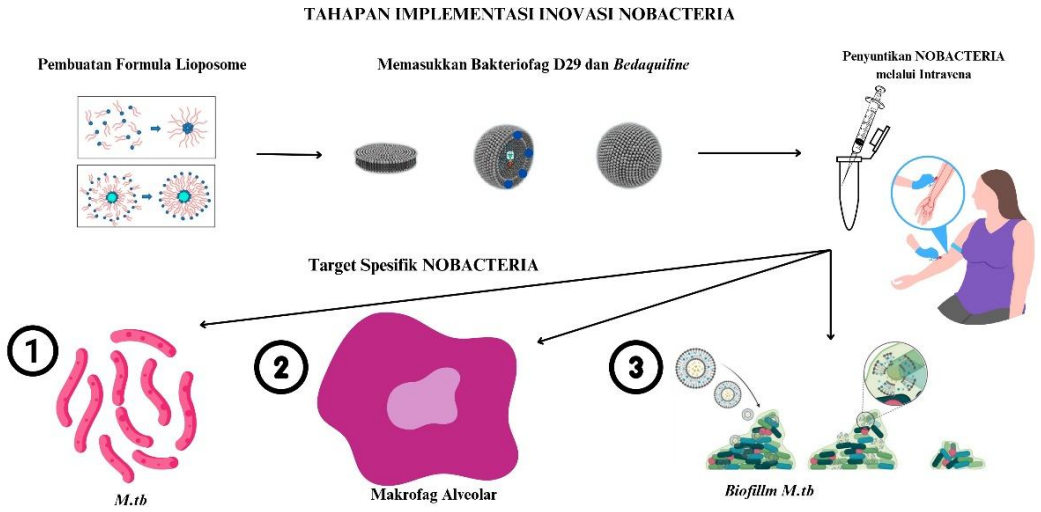
Salah satu solusi yang menjanjikan adalah penggunaan *nanomedicine* berbasis liposome yang didalamnya mengandung kombinasi bakteriofag D29 dan nanopartikel bedaquiline. Pendekatan ini menawarkan cara yang lebih tepat sasaran dan efisien dalam menghancurkan *Mycobacterium tuberculosis*, terutama pada kasus yang resisten terhadap pengobatan standar. Terapi ini, dengan bantuan liposom sebagai karier, mampu menargetkan paru-paru secara spesifik, melewati penghalang *biofilm* dan granuloma yang melindungi bakteri, serta memberikan pengobatan yang lebih efektif dan aman.



Gambar 1. Rancangan nanomedicine (bakteriofag D29 dan nanopartikel antibiotik spesifik).

Source : Desain Pribadi

Rincian konsep inovasi NOBACTERIA *nanomedicine* terdiri dari beberapa tahap :



Gambar 2. Mekanisme Tahapan Inovasi NOBACTERIA Nanomedicine dalam 5 Tahun Perencanaan

Source : Desain Pribadi

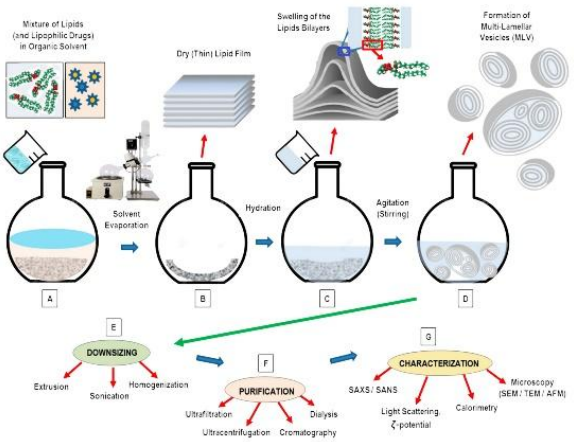
a. Pembuatan Formula Liposome

Liposome adalah vesikel kecil berbentuk bulat yang terdiri dari satu atau lebih lapisan ganda fosfolipid yang mengelilingi kompartemen atau unit berisi air, sehingga sangat cocok untuk membawa muatan terapeutik seperti bakteriofag tipe D29 dan antibiotik bedaquiline (Ferreira *et al.*, 2021). Liposom dibedakan dari nanopartikel lain karena kemampuannya untuk mengenkapsulasi obat hidrofobik di dalam lapisan lipid dan atau obat hidrofilik di dalam daerah berair pada liposom (Ferreira *et al.*, 2021).

Bakteriofag D29 yang bersifat hidrofilik cenderung berada di kompartemen berair liposom, sedangkan bedaquiline yang bersifat hidrofobik akan terlokalisasi di lapisan lipid liposom karena lebih larut dalam lemak (Najib Ullah *et al.*, 2023; Silva *et al.*, 2023). Dalam terapi ini, liposome dimodifikasi agar dapat mengenali dan menargetkan makrofag yang terinfeksi oleh di paru-paru. Ketika liposom mencapai tempat infeksi, liposom akan melepaskan muatan berupa bedaquiline dan bakteriofag D29 di lokasi yang tepat, meningkatkan efektivitas pengobatan dengan mengurangi dampak samping yang tidak perlu pada jaringan sehat.

Liposom yang didalamnya terkandung bakteriofag D29 dan bedaquiline dapat bekerja secara sinergis atau gabungan. Liposom dapat menembus lapisan *biofilm*, bakteriofag D29 segera menyerang dan menghancurkan bakteri spesifik yaitu *M.tb*, sementara antibiotik bedaquiline yang terkandung dalam liposom bekerja menghambat sintesis energi bakteri yang tersisa, sehingga meningkatkan keberhasilan pengobatan. Kombinasi ini juga membantu menekan resistensi lebih lanjut, karena bakteriofag menyerang bakteri dengan mekanisme yang berbeda dari antibiotik.

PEMBUATAN LIPOSOME

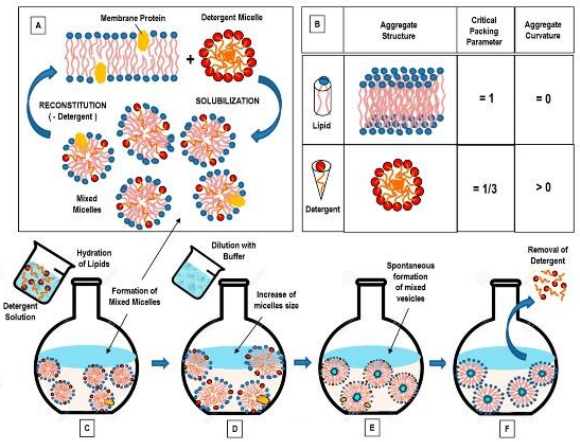


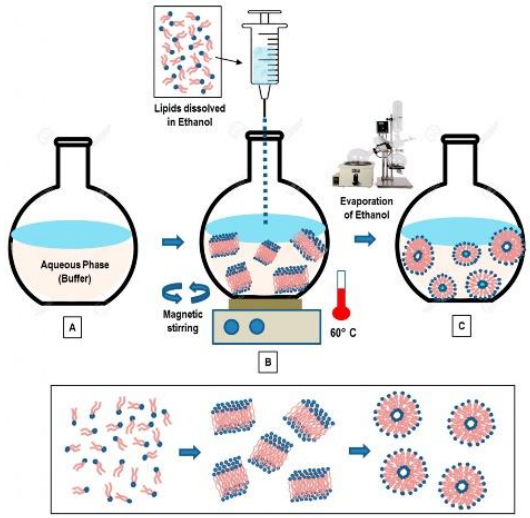
Pelarutan lipid dalam pelarut organik dan Pengeringan larutan lipid yang dihasilkan dari pelarut organik

(A) Lipid dilarutkan dalam pelarut organik.
(B) Setelah penguapan, terbentuk lapisan lipid kering.
(C) Lapisan ini direhidrasi dalam buffer garam, menyebabkan pembengkakan bilayer lipid.
(D) Agitasi/pengadukan membentuk vesikel multilamelar.
(E-F) Proses akhir meliputi pengecilan ukuran, pemurnian, dan karakterisasi liposom.

Proses *self-assembly* pada campuran lipid dan deterjen.

(A) Penambahan atau penghilangan deterjen untuk solubilisasi membran.
(B) Geometri dan struktur khas dari lipid dan deterjen murni.
(C) Hidrasi lipid dengan larutan deterjen membentuk misel campuran.
(D) Pengenceran larutan misel meningkatkan ukuran dan polidispersi misel.
(E) Misel bertransisi menjadi struktur vesikel.
(F) Penghilangan sisa deterjen menyelesaikan pembentukan nanoformulasi liposom.



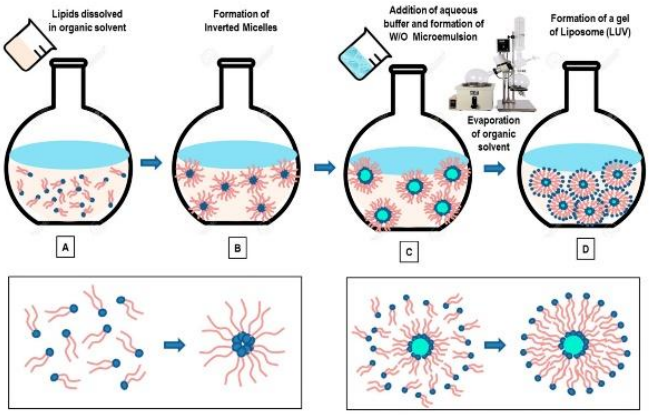


Injeksi Ethanol

(A) Lipid yang larut dalam larutan alkohol disuntikkan ke dalam larutan air (buffer).
(B) Pengenceran etanol dalam air mendorong pembentukan fragmen bilayer lipid.
(C) Penguapan etanol membantu pembentukan vesikel unilamellar tertutup.

Metode *Reverse-Phase Evaporation*

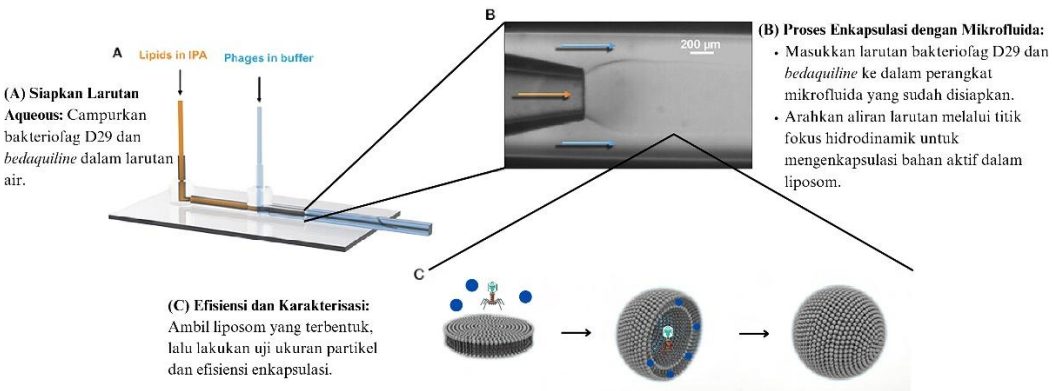
(A) Lipid dilarutkan dalam pelarut organik.
(B) Terbentuk misel terbalik.
(C) Penambahan media air (buffer) dan emulsifikasi larutan membentuk dispersi homogen mikroemulsi W/O.
(D) Penghilangan pelarut organik (menggunakan evaporasi rotari dengan vakum) membentuk gel kental, yang akhirnya runtuh membentuk liposom (LUV).



Gambar 3. Proses Pembuatan Liposome.

Source : (Cano-Flores *et al.*, 2020)

b. Pemasukkan Bakteriofag D29 dan Bedaquiline



(A) Siapkan Larutan Aqueous: Campurkan bakteriofag D29 dan *bedaquiline* dalam larutan air.

(B) Proses Enkapsulasi dengan Mikrofluida:
- Masukkan larutan bakteriofag D29 dan *bedaquiline* ke dalam perangkat mikrofluida yang sudah disiapkan.
- Arahkan aliran larutan melalui titik fokus hidrodinamik untuk mengenkapsulasi bahan aktif dalam liposom.

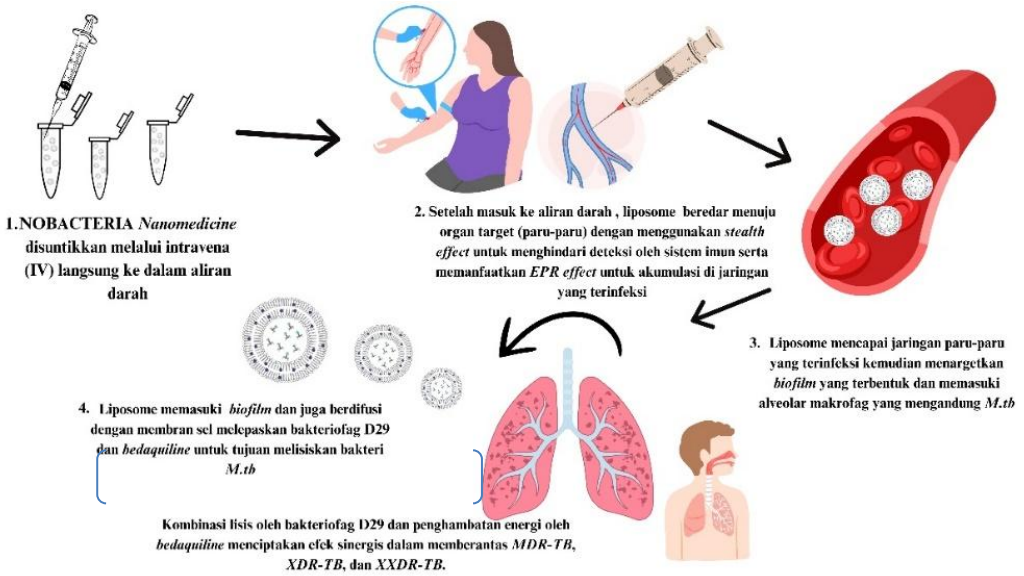
(C) Efisiensi dan Karakterisasi: Ambil liposom yang terbentuk, lalu lakukan uji ukuran partikel dan efisiensi enkapsulasi.

Gambar 4. Proses pemasukkan bakteriofag D29 dan *bedaquiline*.

Source : (Jung *et al.*, 2021)

Gambar 4. menjelaskan perangkat mikrofluidik yang terdiri dari dua kapiler kaca koaksial, yaitu kapiler melingkar di dalam kapiler persegi. Kapiler melingkar digunakan untuk menyuntikkan larutan lipid dari fase organik, sedangkan kapiler persegi mengalirkan larutan buffer yang mengandung bakteriofag D29 dan bedaquiline sebagai fase akuatik. Pompa mikrofluidik mengatur laju aliran kedua larutan sehingga lipid membentuk liposom. Dalam proses ini, liposom menangkap bakteriofag D29 dan bedaquiline secara acak sesuai distribusi Poisson, menghasilkan campuran bakteriofag D29 dan bedaquiline bebas dan yang terkapsulasi dalam liposom. Untuk memastikan kebersihan larutan, hasil dari perangkat mikrofluidik didialisis terlebih dahulu guna menghilangkan sisa pelarut organik.

c. Konsep Proses Masuknya NOBACTERIA secara Intravena (IV).

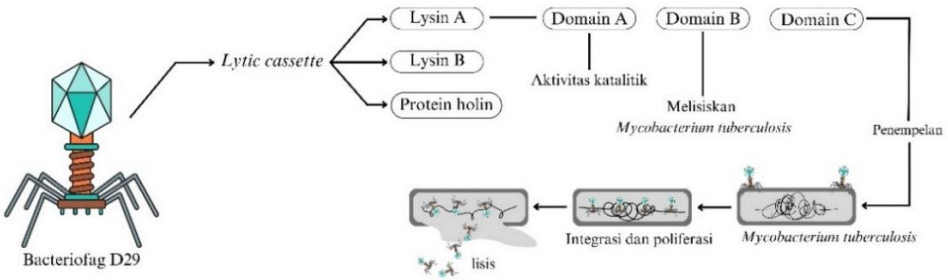


Gambar 5. Skema proses memasukkan NOBACTERIA ke dalam tubuh secara intravena (IV).

Source : Desain Pribadi

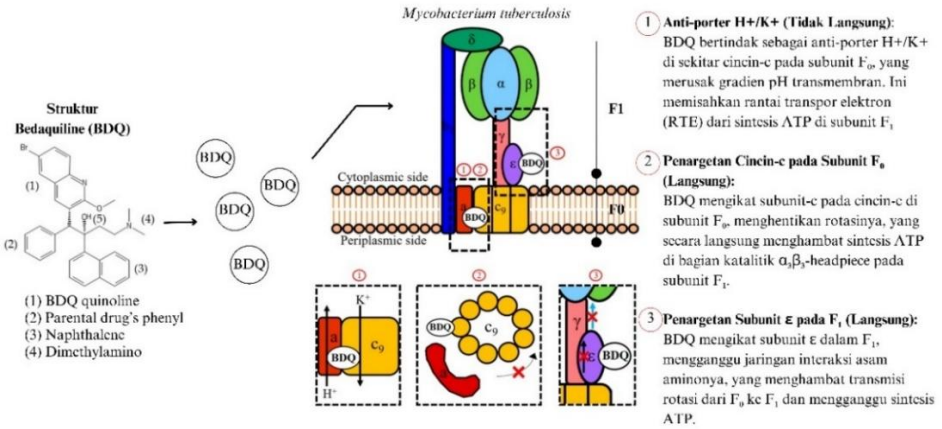
d. Konsep NOBACTERIA dalam Menghambat Pertumbuhan dan Melisiskan *M.tb* penyebab *MDR-TB*, *XDR-TB*, dan *XXDR-TB*.

A



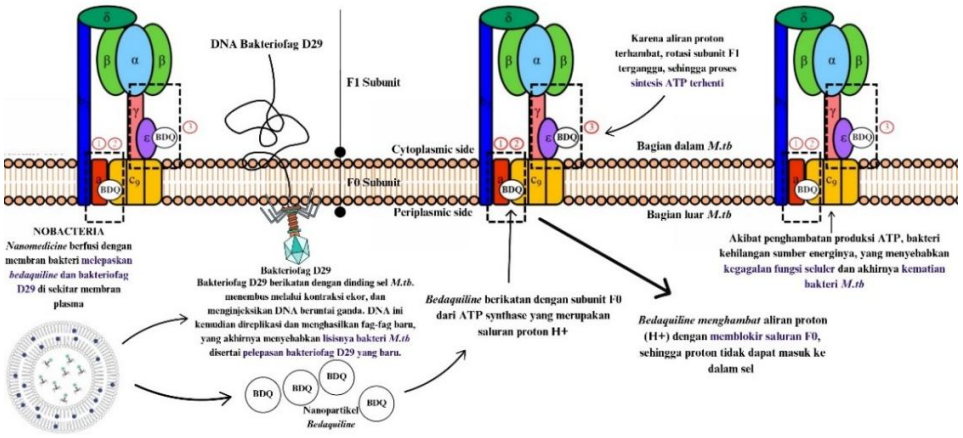
Pada genom bakteriofag D29, membentuk *lytic cassette* dari tiga gen yang kemudian mengodekan Lysin A, Lysin B, dan protein holin. Lysin A dikodekan oleh gp10 (*gene product 10*) menghidrolisis peptidoglikan pada dinding sel bakteri. Lysin B yang dikodekan oleh gp12 yang menyebabkan penyebaran asam mikolat dari peptidoglikan pada dinding sel mikobakteri. Holin, sebagai protein pembentuk pori membran, berperan dalam transfer lisin dari sitosol ke periplasma.

B



Gambar 6. Mekanisme bakteriofag D29 **(A)** dan bedaquiline **(B)** dalam melisiskan *M.tb*.

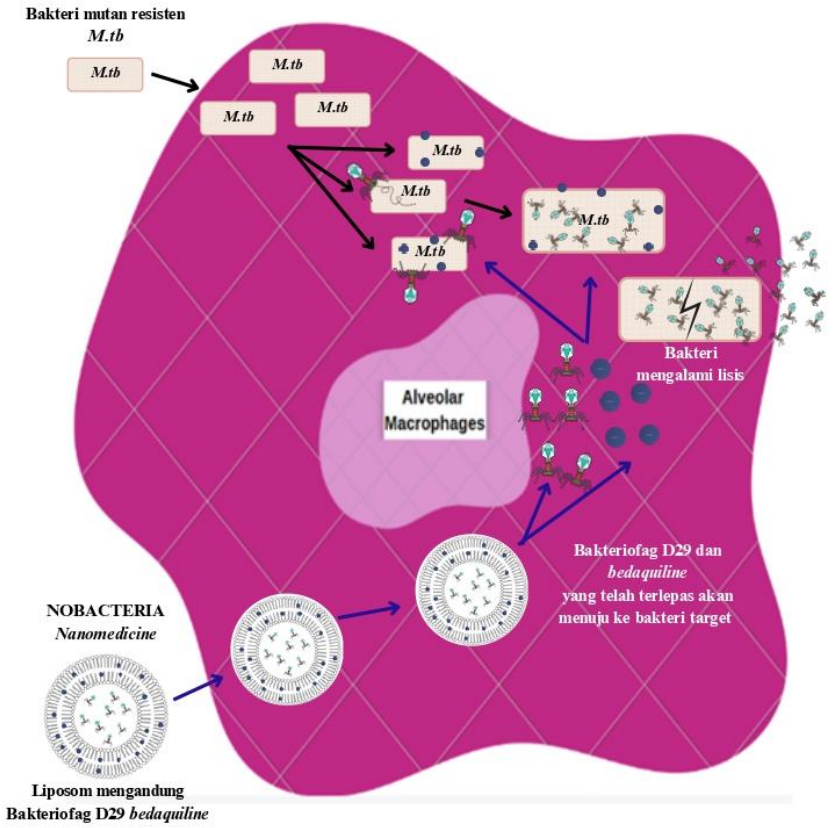
Source : Desain Pribadi



Gambar 7. Mekanisme sinergis NOBACTERIA antara bakteriofag D29 dan *bedaquiline* dalam melisiskan *M.tb*.

Source : Desain Pribadi

C



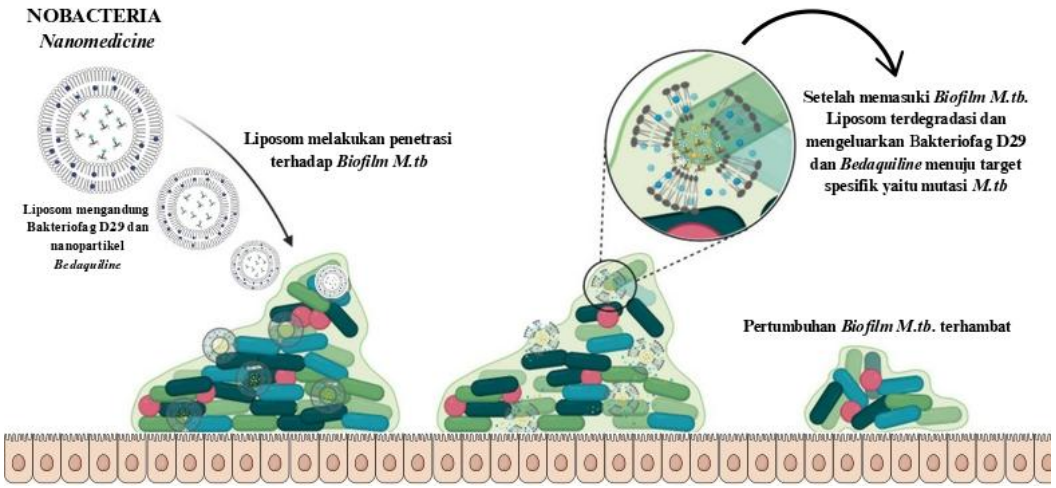
Gambar 8. Mekanisme NOBACTERIA *Nanomedicine* melawan *M.tb* di Alveolar Makrofag.

Source : Desain Pribadi

Gambar 8. merupakan mekanisme kerja dari NOBACTERIA *Nanomedicine*, sebuah inovasi gabungan dari bakteriofag D29 dan bedaquiline, digambarkan secara detail gabungan inovasi ini dalam melisiskan bakteri *Mycobacterium tuberculosis (M.tb)* yang resisten terhadap berbagai obat (*MDR-TB, XDR-TB, XXDR-TB*) di dalam alveolar makrofag yang berada di paru-paru yang aktif akibat adanya zat asing dalam tubuh. Bakteriofag D29 secara spesifik menginfeksi dan menghancurkan bakteri *M.tb* dengan memanfaatkan mekanisme biologis inang bakterinya. Sementara itu, bedaquiline yang terkandung dalam nanoliposome bekerja dengan menghambat ATP synthase dari *M.tb*, mencegah pertumbuhan dan metabolisme energi sel bakteri tersebut. Bersama-sama, kombinasi ini secara sinergis menargetkan dan menghancurkan *M.tb* yang bersarang di dalam

makrofag paru-paru, yang merupakan salah satu tempat utama di mana infeksi TB laten maupun aktif berkembang.

D



Gambar 9. Penetrasi dan penghambatan *biofilm M.tb* oleh NOBACTERIA *Nanomedicine*

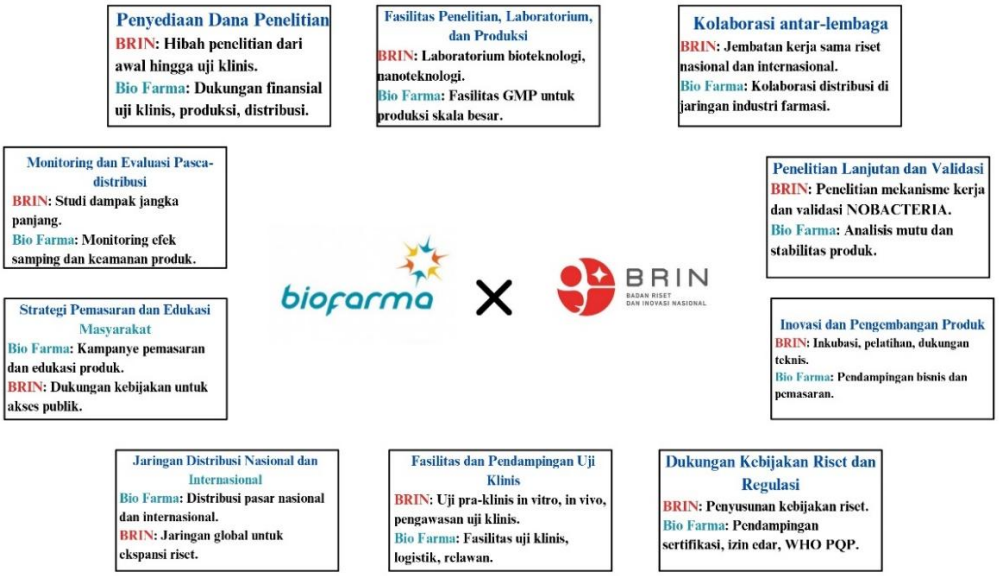
Source : Desain Pribadi

Gambar 9. merupakan gabungan bakteriofag D29 dan nanopartikel *bedaquiline*, menembus biofilm *Mycobacterium tuberculosis* (*M.tb*). Pada awalnya, bakteriofag D29 menargetkan dan melisiskan bakteri *M.tb* yang berada dalam biofilm, memungkinkan akses lebih mudah bagi nanopartikel bedaquiline. Nanopartikel ini kemudian mengganggu ATP synthase bakteri, menghentikan mekanisme produksi energi (ATP) yang esensial bagi kelangsungan hidup dan pertumbuhan *biofilm*. Melalui penetrasi lapisan *biofilm* dan penghambatan pertumbuhan bakteri di dalamnya.

Pihak-Pihak Pendukung dan Pembantu Implementasi NOBACTERIA *Nanomedicine*

Implementasi dari gagasan ini diperlukan adanya pihak yang membantu dan mau dilakukan kerja. Pihak yang dipertimbangkan dapat mendukung dan bekerja sama dalam mengimplementasikan gagasan NOBACTERIA *Nanomedicine* ini adalah BRIN (Badan Riset dan Inovasi Nasional) dan PT Bio Farma. Institusi tersebut diharapkan berperan penting dalam pengembangan dan penerapan

inovasi ini, dengan kontribusi yang sangat relevan dalam bidang produksi, penelitian, uji klinis, serta distribusi.



Gambar 10. Skema peran dan kontribusi BRIN dan Bio Farma dalam mengimplementasikan NOBACTERIA

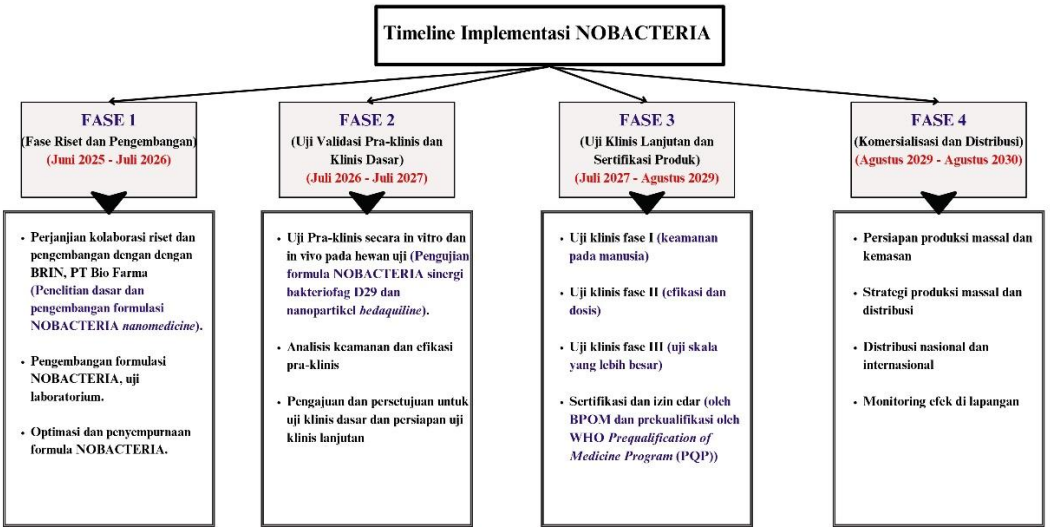
Source: Desain Pribadi

Langkah – Langkah Strategis dan *Timeline* untuk Merealisasikan NOBACTERIA *Nanomedicine*.



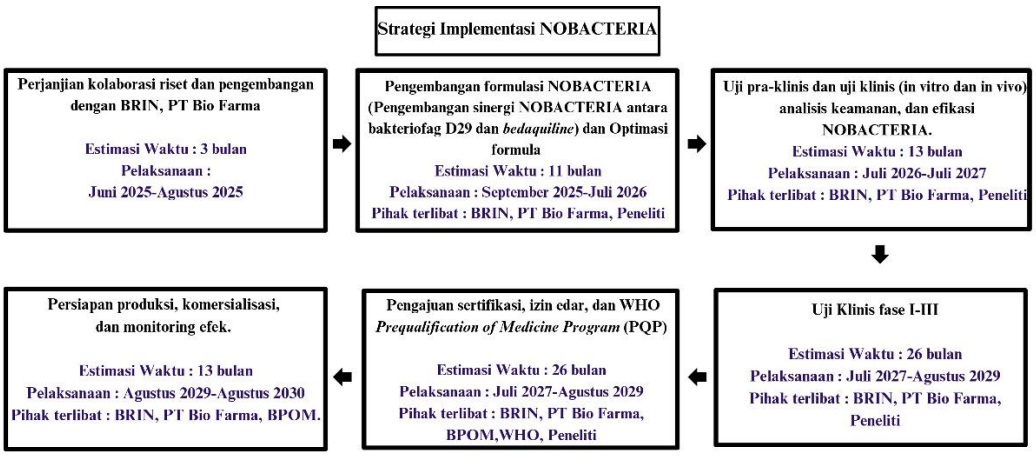
Gambar 11. Skema strategi dan timeline Implementasi NOBACTERIA.

Source : Desain Pribadi



Gambar 12. *Timeline* Implementasi NOBACTERIA.

Source : Desain Pribadi.



Gambar 13. Target strategi implementasi NOBACTERIA.

Source : Desain Pribadi.

DISKUSI

Meningkatnya angka kasus *Mycobacterium tuberculosis* (M.tb) resisten obat di Indonesia menandakan bahwa terapi konvensional dengan antibiotik tunggal tidak lagi memadai. Resistensi terhadap obat lini pertama seperti isoniazid dan rifampisin, serta munculnya bentuk *Extensively Drug-Resistant* (XDR-TB) dan *Extremely Drug-Resistant* (XXDR-TB), telah menjadi ancaman besar terhadap efektivitas pengendalian TB nasional. Kondisi ini diperburuk dengan

adanya keterbatasan penetrasi obat ke dalam granuloma dan biofilm yang terbentuk di paru, sehingga bakteri dapat bertahan dalam keadaan dorman di dalam makrofag alveolar. Oleh sebab itu, diperlukan strategi baru yang mampu menembus penghalang tersebut, bekerja langsung di lokasi infeksi, dan menurunkan risiko resistensi lebih lanjut.

Salah satu solusi yang menjanjikan adalah penggunaan nanomedicine berbasis liposom yang di dalamnya mengandung kombinasi bakteriofag D29 dan nanopartikel bedaquiline. Pendekatan ini menawarkan cara yang lebih tepat sasaran dan efisien dalam menghancurkan *Mycobacterium tuberculosis*, terutama pada kasus yang resisten terhadap pengobatan standar. Terapi ini, dengan bantuan liposom sebagai karier, mampu menargetkan paru-paru secara spesifik, melewati penghalang biofilm dan granuloma yang melindungi bakteri, serta memberikan pengobatan yang lebih efektif dan aman. Sistem penghantaran berbasis nanoliposom juga meningkatkan stabilitas bahan aktif, memperpanjang waktu paruh dalam tubuh, serta mengurangi toksisitas sistemik yang sering muncul pada terapi konvensional (Ferreira *et al*., 2021).

Secara konseptual, mekanisme kerja NOBACTERIA nanomedicine dimulai ketika partikel nanoliposom masuk ke dalam tubuh melalui sistem pernapasan atau sirkulasi darah dan kemudian menargetkan jaringan paru-paru. Liposom dengan ukuran nano (100–200 nm) memiliki kemampuan untuk menembus membran biologis dan memasuki makrofag alveolar menuju sel utama yang menjadi tempat persembunyian *M.tb*. Setelah proses fagositosis, lapisan liposom akan terdegradasi secara perlahan oleh enzim lisosomal, yang menyebabkan pelepasan bertahap dari bakteriofag D29 dan bedaquiline. Bakteriofag D29 akan mengenali reseptor spesifik pada dinding sel *M.tb*, menyuntikkan DNA-nya, dan melisiskan sel bakteri melalui mekanisme litik (Sengupta *et al*., 2022). Secara paralel, bedaquiline yang dilepaskan akan menghambat aktivitas enzim *ATP synthase* pada mitokondria bakteri, menghentikan proses pembentukan energi dan menyebabkan kematian metabolik sel (Tong *et al*., 2023). Kombinasi dua mekanisme ini—lisis langsung oleh fage dan penghentian metabolisme oleh

antibiotik—memberikan efek ganda yang lebih kuat dalam mengatasi infeksi TB resisten obat (Łusiak-Szelachowska *et al.*, 2022).

Selain itu, integrasi kedua agen ini ke dalam sistem nanoliposom memiliki keunggulan biologis yang signifikan. Pertama, sistem ini melindungi bakteriofag dari degradasi akibat respons imun tubuh, sehingga fage dapat mencapai target bakteri dengan stabilitas tinggi. Kedua, liposom mampu mengatur pelepasan obat secara bertahap (*controlled release*), menjaga konsentrasi terapeutik yang konstan di lokasi infeksi. Ketiga, karena liposom bersifat biokompatibel, sistem ini dapat meminimalkan efek toksik terhadap jaringan sehat dan mencegah kerusakan sistemik (Silva *et al.*, 2023). Dengan demikian, NOBACTERIA bukan hanya memberikan solusi efektif dalam membunuh *M.tb* resisten, tetapi juga aman untuk diaplikasikan secara klinis di masa depan.

Dari perspektif pengembangan teknologi, implementasi NOBACTERIA nanomedicine dapat dilakukan melalui kolaborasi dengan lembaga penelitian nasional seperti Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) serta PT Bio Farma (Persero). BRIN memiliki fasilitas bioteknologi molekuler yang memadai untuk melakukan penelitian tahap awal, seperti uji stabilitas fage, karakterisasi partikel nano, dan simulasi *in vitro* terhadap kultur *M.tb* yang telah diisolasi. Sementara itu, PT Bio Farma dapat berperan dalam proses formulasi skala pilot, *good manufacturing practice* (GMP), serta pengujian praklinis dan toksisitas sebelum pengembangan ke tahap uji klinis. Kolaborasi antara lembaga akademik, industri farmasi, dan pemerintah sangat penting untuk memastikan kesiapan teknologi dan keamanan produk sebelum diproduksi secara luas.

Manfaat utama dari pengembangan NOBACTERIA tidak hanya terletak pada efektivitas terapi, tetapi juga pada dampaknya terhadap sistem kesehatan nasional. Dengan memanfaatkan nanoteknologi dan bakteriofag, terapi ini berpotensi mengurangi durasi pengobatan MDR-TB dari 18–24 bulan menjadi lebih singkat, menurunkan risiko efek samping hepatotoksik, serta meningkatkan tingkat kesembuhan pasien. Dari sisi ekonomi, inovasi ini dapat menekan biaya pengobatan jangka panjang dan mengurangi beban pembiayaan kesehatan

publik. Lebih jauh lagi, pengembangan NOBACTERIA juga dapat memperkuat posisi Indonesia dalam bidang bioteknologi kesehatan dan riset nanomedisin, serta menjadi model bagi pengembangan terapi inovatif terhadap penyakit infeksi lain yang resisten obat.

Secara keseluruhan, hasil konseptual dari inovasi ini menunjukkan bahwa NOBACTERIA nanomedicine memiliki potensi besar sebagai terobosan dalam terapi molekuler untuk *Mycobacterium tuberculosis* resisten obat. Integrasi sinergis antara bakteriofag D29, bedaquiline, dan sistem penghantaran liposom mampu mengatasi berbagai kendala biologis dalam pengobatan TB, termasuk penetrasi ke dalam makrofag, hambatan biofilm, serta resistensi terhadap obat lini pertama dan kedua. Dengan dukungan riset lanjutan, pengujian laboratorium, dan kolaborasi antar lembaga, inovasi ini dapat dikembangkan menjadi produk terapi yang efektif, aman, dan berkontribusi terhadap pencapaian target eliminasi TB 2050 yang dicanangkan oleh WHO dan pemerintah Indonesia.

KESIMPULAN

Inovasi NOBACTERIA nanomedicine, yang mengombinasikan bakteriofag D29 dan bedaquiline dalam sistem penghantaran berbasis liposom, menunjukkan potensi besar sebagai pendekatan terapi baru untuk mengatasi *Mycobacterium tuberculosis* resisten obat. Rancangan ini secara konseptual mampu menargetkan makrofag alveolar, menembus lapisan biofilm dan granuloma, serta melisiskan bakteri melalui mekanisme sinergis antara bakteriofag dan antibiotik yang bekerja pada tingkat molekuler. Sistem liposom berfungsi meningkatkan stabilitas bahan aktif, memperpanjang waktu kerja, dan meminimalkan efek toksik terhadap jaringan sehat. Dengan dukungan penelitian lanjutan dan kolaborasi strategis bersama lembaga seperti BRIN dan PT Bio Farma, inovasi ini berpotensi dikembangkan menuju tahap praklinis hingga penerapan klinis. NOBACTERIA diharapkan menjadi terobosan penting dalam mendukung upaya eliminasi tuberkulosis di Indonesia tahun 2050 sesuai target World Health Organization (WHO).

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih disampaikan kepada Universitas Muhammadiyah Semarang atas dukungan, inspirasi, serta referensi yang berperan dalam penyusunan inovasi NOBACTERIA nanomedicine.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan bahwa tidak terdapat konflik kepentingan (*conflict of interest*) dalam penyusunan karya tulis ilmiah ini. Seluruh isi naskah murni merupakan hasil pemikiran dan analisis penulis berdasarkan kajian literatur ilmiah yang relevan tanpa adanya pengaruh dari pihak manapun.

REFRENSI

Allué-Guardia, A., García, J. I., & Torrelles, J. B. (2021). Evolution of Drug-Resistant Mycobacterium tuberculosis Strains and Their Adaptation to the Human Lung Environment. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 12). Frontiers Media S.A. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.612675

Allué-Guardia, A., Saranathan, R., Chan, J., & Torrelles, J. B. (2021). Mycobacteriophages as potential therapeutic agents against drug-resistant tuberculosis. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 22, Issue 2, pp. 1–28). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/ijms22020735

Bu, Q., Qiang, R., Fang, L., Peng, X., Zhang, H., & Cheng, H. (2023). Global trends in the incidence rates of MDR and XDR tuberculosis: Findings from the global burden of disease study 2019. *Frontiers in Pharmacology*, *14*. https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1156249

Cano-Flores, A., Gómez, J., Escalona-Torres, I. S., & Velasco-Bejarano, B. (200 C.E.). *Microorganisms as Biocatalysts and Enzyme Sources*. www.intechopen.com

Chowdhury, K., Ahmad, R., Sinha, S., Dutta, S., & Haque, M. (2023). Multidrug-Resistant TB (MDR-TB) and Extensively Drug-Resistant TB (XDR-TB) Among Children: Where We Stand Now. *Cureus*. https://doi.org/10.7759/cureus.35154

Ferreira, M., Ogren, M., Dias, J. N. R., Silva, M., Gil, S., Tavares, L., Aires-Da-silva, F., Gaspar, M. M., & Aguiar, S. I. (2021). Liposomes as antibiotic delivery systems: A promising nanotechnological strategy against antimicrobial resistance. *Molecules*, *26*(7). https://doi.org/10.3390/molecules26072047

Jeyasankar, S., Kalapala, Y. C., Sharma, P. R., & Agarwal, R. (2024). Antibacterial efficacy of mycobacteriophages against virulent Mycobacterium tuberculosis. *BMC Microbiology*, *24*(1). https://doi.org/10.1186/s12866-024-03474-3

Jung, D., Gaudreau-Lapierre, A., Alnahhas, E., & Asraoui, S. (2021). Bacteriophage-Liposomes Complex, a Bi-therapy System to Target Streptococcus pneumonia and Biofilm: A Research Protocol. *Undergraduate Research in Natural and Clinical Sciences and Technology Journal*, *5*(10), 1–10. https://doi.org/10.26685/urncst.294

Lestari, B. W., Nijman, G., Larasmanah, A., Soeroto, A. Y., Santoso, P., Alisjahbana, B., Chaidir, L., Andriyoko, B., van Crevel, R., & Hill, P. C. (2024). Management of drug-resistant tuberculosis in Indonesia: a four-year cascade of care analysis. *The Lancet Regional Health - Southeast Asia*, *22*. https://doi.org/10.1016/j.lansea.2023.100294

Łusiak-Szelachowska, M., Międzybrodzki, R., Drulis-Kawa, Z., Cater, K., Knežević, P., Winogradow, C., Amaro, K., Jończyk-Matysiak, E., Weber-Dąbrowska, B., Rękas, J., & Górski, A. (2022). Bacteriophages and antibiotic interactions in clinical practice: what we have learned so far. In *Journal of Biomedical Science* (Vol. 29, Issue 1). BioMed Central Ltd. https://doi.org/10.1186/s12929-022-00806-1

Najib Ullah, S. N. M., Afzal, O., Altamimi, A. S. A., Alossaimi, M. A., Almalki, W. H., Alzahrani, A., Barkat, M. A., Almeleebia, T. M., Alshareef, H., Shorog, E. M., Khan, G., Singh, T., & Singh, J. K. (2023). Bedaquiline-Loaded Solid Lipid Nanoparticles Drug Delivery in the Management of Non-Small-Cell Lung Cancer (NSCLC). *Pharmaceuticals*, *16*(9). https://doi.org/10.3390/ph16091309

Putra, D. P., Hanifah, Q., & Mangkurat, R. S. B. (2025). *Potensi Bakteriofag D29 sebagai Pendekatan Inovasi Pengobatan Molekuler terhadap Mutasi TB di Indonesia : Sistematik Review*. *5*(2), 126–131.

Sengupta, S., Bhawsinghka, N., Shaw, R., Patra, M. M., & Gupta, S. K. D. (2022). Mycobacteriophage D29 induced association of Mycobacterial RNA polymerase with ancillary factors leads to increased transcriptional activity. *Microbiology (United Kingdom)*, *168*(3), 1–14. https://doi.org/10.1099/mic.0.001158

Silva, A. P. B., Roque-Borda, C. A., Carnero Canales, C. S., Duran Gleriani Primo, L. M., Silva, I. C., Ribeiro, C. M., Chorilli, M., da Silva, P. B., Silva, J. L., & Pavan, F. R. (2023). Activity of Bacteriophage D29 Loaded on Nanoliposomes against Macrophages Infected with Mycobacterium tuberculosis. *Diseases*, *11*(4). https://doi.org/10.3390/diseases11040150

Tong, E., Wu, Q., Chen, Y., Liu, Z., Zhang, M., Zhu, Y., Wu, K., Pan, J., & Jiang, J. (2023). The Efficacy and Safety of Bedaquiline in the Treatment of

Pulmonary Tuberculosis Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. In *Antibiotics* (Vol. 12, Issue 9). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). https://doi.org/10.3390/antibiotics12091389

World Health Organization. (2024, October 29). *Global tuberculosis report 2024*. https://www.who.int/teams/global-programme-on-tuberculosis-and-lung-health/tb-reports/global-tuberculosis-report-2024

INOVASI MEDIA MIKROBIOLOGI BERBASIS UBI GADUNG (*Dioscorea Hispida Dents*) SEBAGAI MEDIA ALTERNATIF PDA (*Potato Dextorose Agar)* DENGAN PENAMBAHAN NUTRISI UNTUK KULTUR *Candida albicans*

Suwarny[1] · Titi Purnama[1] · Haikal Rahman[1]

[1] D4 Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Mandala Waluya, Provinsi Sulawesi Tenggara, Indonesia.

e-Mail: lun89tin@gmail.com
No Tlp WA : 082348925069

Abstract

This study focuses on the innovation of microbiological media based on kolope tuber (Dioscorea hispida Dents) as an alternative to Potato Dextrose Agar (PDA) with the addition of nutrients to support the growth of Candida albicans. Kolope tuber was chosen because it contains high levels of carbohydrates, glucose, and protein, and is locally available at a relatively low cost. The utilization of kolope tuber is expected to provide a more economical solution for culture media compared to commercial media. The research method used was a laboratory experiment with a quantitative approach. Kolope tuber was processed through detoxification, extraction, and the addition of macro and micro nutrients such as glucose, peptone, and yeast extract. Candida albicans was then inoculated on kolope media with two treatments: without nutrient addition and with nutrient addition. Observations were conducted on colony counts, as well as macroscopic and microscopic morphology. The results showed that kolope-based media without nutrient addition could still support the growth of Candida albicans with an average colony count of 220.67. However, kolope media with nutrient addition produced an average of 355.00 colonies, higher than the PDA control which yielded 225.00 colonies. The One Way ANOVA test resulted in a p-value of 0.004 ($p < 0.05$), indicating a significant difference between treatments. In conclusion, kolope-based alternative media can be used as a substitute for PDA, especially when supplemented with additional nutrients. This medium proved more effective in enhancing the growth of Candida albicans compared to standard media. The findings of this study have the potential to serve as a reference in the development of economical and locally sourced culture media for microbiological research.

Keywords: Kolope Tuber, Potato Dextrose Agar, Candida albicans, Alternative Medium, Microbiology

Abstrak

Penelitian ini berfokus pada inovasi media mikrobiologi berbasis ubi kolope (Dioscorea hispida Dents) sebagai alternatif media *Potato Dextrose Agar* (PDA) dengan penambahan nutrisi untuk mendukung pertumbuhan *Candida albicans*. Ubi kolope dipilih karena memiliki kandungan karbohidrat, glukosa, dan protein yang cukup tinggi serta mudah ditemukan secara lokal dengan harga yang relatif murah. Pemanfaatan ubi kolope diharapkan mampu menjadi solusi dalam penyediaan media kultur yang lebih ekonomis dibandingkan media pabrikan.Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimen laboratorium dengan pendekatan kuantitatif. Ubi kolope diolah melalui proses detoksifikasi, ekstraksi, serta penambahan makro dan mikro nutrisi seperti glukosa, pepton, dan yeast extract. Candida albicans kemudian diinokulasi pada media ubi kolope dengan variasi perlakuan, yaitu tanpa penambahan nutrisi dan dengan penambahan nutrisi. Pengamatan

dilakukan terhadap jumlah koloni, morfologi makroskopis, dan mikroskopis.Hasil penelitian menunjukkan bahwa media berbasis ubi kolope tanpa penambahan nutrisi masih mampu mendukung pertumbuhan Candida albicans dengan rata-rata jumlah koloni sebesar 220,67. Namun, media ubi kolope dengan penambahan nutrisi menghasilkan rata-rata 355,00 koloni, lebih tinggi dibandingkan kontrol PDA sebesar 225,00 koloni. Uji statistik One Way ANOVA menghasilkan nilai p = 0,004 (p < 0,05), yang berarti terdapat perbedaan signifikan antar perlakuan. Kesimpulan dari penelitian ini adalah media alternatif berbasis ubi kolope dapat digunakan sebagai pengganti PDA, terutama jika ditambahkan nutrisi tambahan. Media ini terbukti lebih efektif dalam meningkatkan pertumbuhan Candida albicans dibandingkan media standar.Hasil penelitian ini berpotensi menjadi rujukan dalam pengembangan media kultur mikroorganisme berbasis bahan lokal yang ekonomis dan aplikatif di bidang mikrobiologi

Kata Kunci: Kata Kunci: Ubi Kolope, Potato Dextrose Agar, Candida albicans, Media Alternatif, Mikrobiologi.

PENDAHULUAN

Jamur merupakan suatu organisme eukariotik (memiliki membran inti sel) yang mempunyai ciri yaitu berupa benang tunggal yang bercabang, tidak mempunyai klorofil, hidupnya heterotrof (tidak mampu membuat makanan sendiri), ada yang bersifat parasit dan ada yang bersifat saprofit. Jamur tingkat tinggi maupun tingkat rendah mempunyai ciri yang khas yaitu benang tunggal atau bercabang-cabang yang disebut hifa. Kumpulan dari hifa akan membentuk benang-benang halus yang disebut miselium, yang berfungsi sebagai penyerap makanan dari organisme lain atau sisa-sisa organisme (Fatmawati et al. 2017).

Penyebab penyakit infeksi yang mudah ditemukan diantaranya adalah infeksi karena jamur. Jamur yang banyak menyebabkan infeksi adalah jamur Candida. Infeksi yang disebabkan oleh Candida dikenal dengan Candidiasis. Candidiasis adalah suatu penyakit jamur yang bersifat akut dan sub akut yang dapat mengenai mulut, vagina, kulit, kuku, paru paru dan saluran pencernaan dan disebabkan oleh spesies Candida, biasanya oleh Candida albicans (C. albicans). Jamur C. albicans merupakan salah satu jamur 1utrient pada manusia. Penyakit ini ditemukan di seluruh dunia dan dapat menyerang semua umur, baik laki-laki maupun perempuan (Ningsih D., 2017).

Sifat mikroorganisme seperti jamur, diperlukan suatu media pertumbuhan yang dapat mencukupi nutrisi, sumber nutrisi dan kondisi lingkungan tertentu. Suatu media untuk dapat menumbuhkan mikroorganisme

dengan baik diperlukan persyaratan antara lain: media harus mempunyai pH yang sesuai, media tidak mengandung zat-zat penghambat, media harus steril, dan media harus mengandung semua nutrisi yang mudah digunakan mikroorganisme, Nutrisi-nutrisi yang dibutuhkan mikroorganisme untuk pertumbuhan meliputi karbon, nitrogen, unsur non logam seperti sulfur dan fosfor, unsur logam seperti Ca, Zn, Na, K, Cu, Mn, Mg, dan Fe, vitamin, air, dan energi (Wantini S, & Octavia A, 2018).Potato Dextrose Agar (PDA) adalah media yang umum untuk pertumbuhan jamur di laboratorium karena memiliki Ph yang rendah (Ph 4,5 sampai 5,6) sehingga menghambat pertumbuhan bakteri yang membutuhkan lingkungan yang netral dengan Ph 7,0 dan suhu optimum untuk pertumbuhan antara 25-30° C. Berdasarkan komposisinya PDA termasuk dalam media semi sintetik karena tersusun atas bahan alami (kentang) dan bahan sintesis (dextrose dan agar). Kentang merupakan sumber karbohidrat, vitamin dan energi, dextrose sebagai sumber gula dan 2utrie, selain itu komponen agar berfungsi untuk memadatkan media PDA (Kurniawati R, et al., 2014).

Kandungan umbi yang memiliki kemiripan dengan kentang bahan utama pembuatan media PDA (Potato Dextor Agar) adalah Umbi Kolepe (Dioscorea hispida Dents)., karena kaya akan karbohidrat, Glukosa dan Protein. Yang memungkinkan dapat menjadi sumber nutrisi dan makanan bagi pertumbuhan jamur. Meskipun umbi kolope memiliki potensi sebagai media aternatif, namun untuk mengoptimalkan pertumbuhan Candida albicans, ubi kolope tetap memerlukan nutrisi tambahan seperti pepton, dan sumber nitrogen tambahan seperti urea untuk memenuhi kebutuhan protein, vitamin, dan mineral. Modifikasi nutrisi ini diperlukan karena setiap mikroorganisme memiliki kebutuhan nutrisi spesifik untuk pertumbuhan optimal. *Candida albicans* sebagai jamur yang menghasilkan aflatoksi memerlukan kondisi pertumbuhan yang optimal untuk keperluan penelitian lebih lanjut terkait produksi metaboloit sekundernya.

Berdasarkan hal tersebut di atas maka peneliti berkeinginan untuk melakukan penelitian tentang. “Inovasi media mikrobiologi berbasis Ubi Kolope

(Dioscorea Hispida Dents) sebagai media alternatif PDA (Potato Dextore Agar). Dengan Modifikasi nutrisi untuk kultur Candida albicans.".

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan eksperimen laboratorium dengan pendekatan kuantitatif. Tujuannya adalah untuk mengevaluasi efektivitas media alternatif berbasis ubi kolope (Dioscorea hispida Denst) yang di tambahkan nutrisi karbon dan nitrogen untuk makro nutrisi dan yeast estract untuk mikro nutrisi terhadap pertumbuhan Candida Albicans. Penelitian ini menggunakan desain Kuasi Eksperimen.

Populasi dalam penelitian ini adalah ubi kolope yang di ambil di perkebunan kel, Punggaluku Kec, Laeya Kab, Konawe Selatan, Prov, Sulawesi Tenggara, sedangkan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah jamur Candida albicans dan ubi kolope yang telah di tambahkan nutrisi. Jumlah sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 8 sampel. Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah autoklaf, laminar air flow, timbangan digital, cawan petri, incubator, mikroskop cahaya, labu erlenmeyer, gelas ukur, penggaris, Ph meter, hot plate, batang pengaduk, jarum ose, bunsen dan korek api, pisau dan blender. Bahan yang digunakan yaitu ubi kolope, agar, glukosa/laktosa (karbon), biakan jamur (*candida albicans*), aluminim foil, aquades dan KOH 10%.

HASIL

1. Rata rata pertumbuhan koloni candida albicans

Kode Perlakuan	Pengulangan			Rata-Rata
	I	2	3	
P1	236	208	218	220.67
P2	306	339	420	355.00

Tabel 1. Rata rata pertumbuhan koloni *Candida albicans*

(Sumber Data Primer, 2025)

Berdasarkan tabel diatas menunjukkan bahwa peningkatan rata-rata jumlah koloni pada P2 dibanding P1 menunjukkan bahwa perlakuan P2 lebih

efektif dalam mendukung pertumbuhan Candida albicans. Selisih rata-rata sebesar 134,33 koloni mengindikasikan perbedaan yang cukup signifikan, yang dapat disebabkan oleh komposisi media, konsentrasi nutrien, atau faktor lingkungan pada P2 yang lebih optimal untuk pertumbuhan mikroba tersebut.

2. Hasil pertumbuhan koloni *candida albicans*

Tabel 2. Hasil pertumbuhan koloni *candida albicans*

Kode Perlakuan	Pengulangan	Rata-Rata	Nilai p
PI	3	220.67	
P2	3	355.00	0.004
P0	2	225,00	

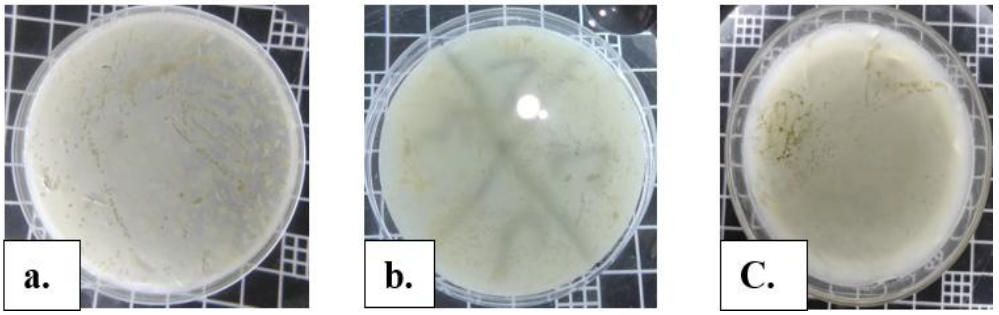
(Sumber Data Primer, 2025)

Nilai p = 0,004 menunjukkan bahwa perbedaan pertumbuhan koloni antarperlakuan signifikan secara statistik (p < 0,05). Perlakuan P2 menunjukkan pertumbuhan koloni tertinggi, jauh di atas P1 maupun kontrol P0. Hal ini mengindikasikan bahwa kondisi atau media pada P2 lebih optimal untuk mendukung pertumbuhan Candida albicans.P1 dan P0 memiliki rata-rata yang relatif dekat, sehingga kemungkinan perbedaan keduanya tidak sebesar perbedaan antara P2 dan dua perlakuan lainnya.

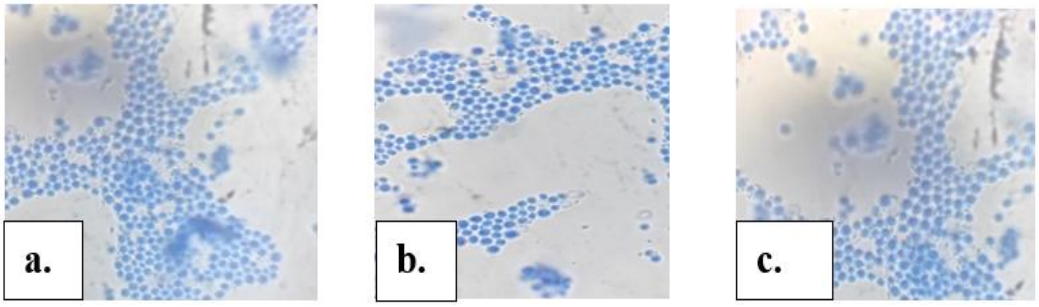
3. Hasil Pengamatan Secara Makroskopis Dan Mikroskopis C*andida Albicans*

1. Ubi kolope tanpa penambahan nutrisi (PI)

Makroskopis

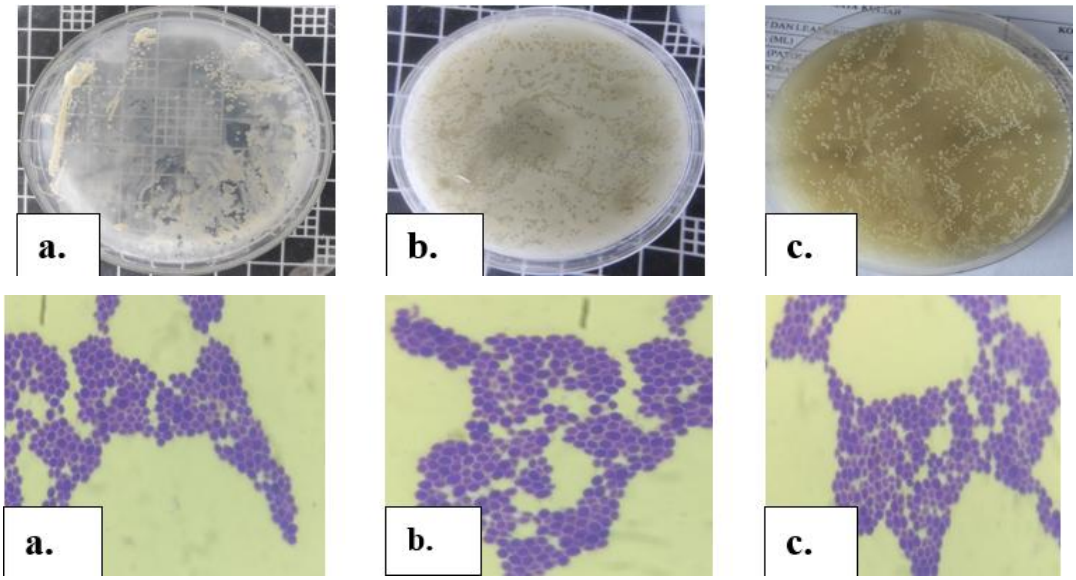


Mikroskopis



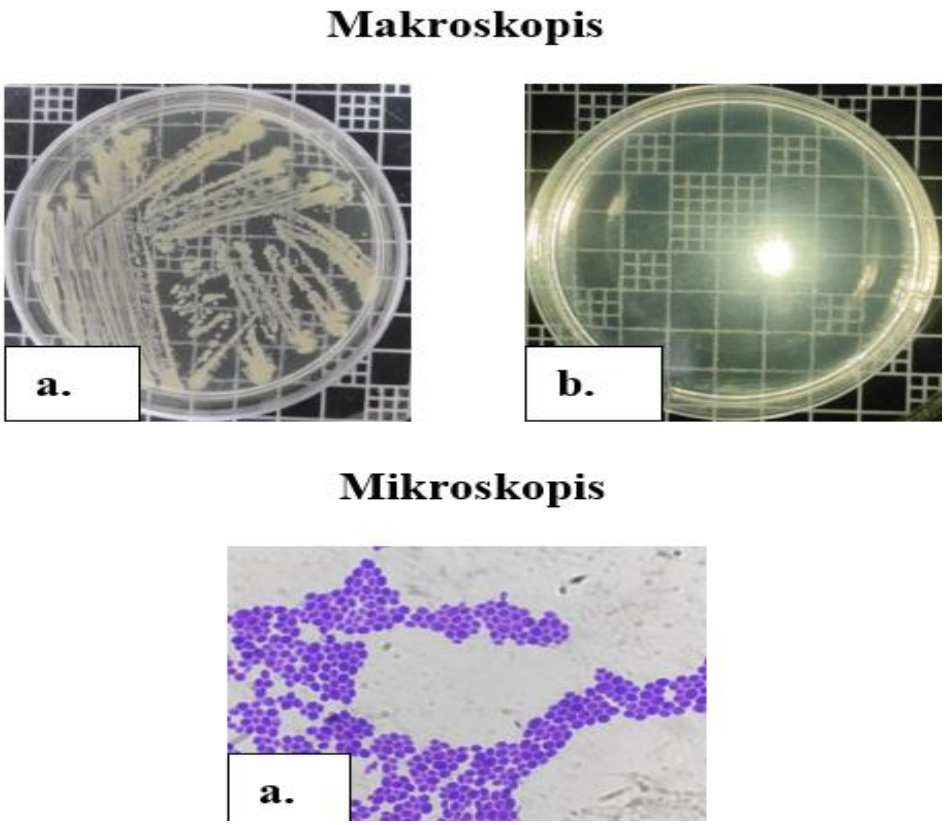
Gambar 1. Ubi kolope tanpa penambahan nutrisi (PI) (a) Perlakuan I (b) Perlakuan 2 (c) Perlakuan 3

2. Ubi kolope dengan penambahan makro dan mikro nutrisi (P2)



Gambar 2. Ubi kolope dengan penambahan makro dan mikro nutrisi (P2) (a) Perlakuan I (b) Perlakuan 2 (c) Perlakuan 3

3. Media PDA (Potato Dextrose Agar) (P0)



Gambar 5. Media PDA (Potato Dextrose Agar) (a) Kontrol Positif (b) Kontrol Negatif

DISKUSI

Berdasarkan data hasil penelitian diatas, media dari bahan ubi kolope, yang tanpa penambahan nutrisi dan penambahan makro dan mikro nutrisi dan PDA kontrol positif, yang telah di inokulasi jamur *Candida albicans*. Ke enam media ubi kolope dan PDA kontrol tersebut tumbuh berdasarkan ciri-ciri makroskopis dan mikroskopis dari jamur *Candida albicans*. Jamur *Candida albicans* dapat tumbuh dalam media karena didalam ubi kolope terkandung zat nutrisi yang dibutuhkan jamur *Candida albicans* sebagai sumber nutrisinya seperti karbon/karbohidrat, serta unsur-unsur yang lain. Dan untuk memperbanyak pertumbuhan koloni *candida albicans,* di perlukan tambahan nutrisi seperti makro dan mikro nutrisi, Hal ini sesuai pernyataan dari (Naim *et al.,* 2020) menyebutkan bahwa jamur membutuhkan nutrient dan berbagai faktor lingkungan yang sesuai. Nutrien berupa unsur atau senyawa

kimia dari lingkungan digunakan sel sebagai konstituen kimia penyusun sel. Secara umum 204utrient yang diperlukan dalam bentuk karbon, nitrogen, sulfur, fosfor, kalium, magnesium, natrium, kalsium, nutrient mikro (besi, mangan, zink, kobalt) dan vitamin.

Ubi kolope memiliki salah satu nutrisi yang paling dibutuhkan dalam pertumbuhan jamur Candida albicans yaitu karbohidrat. Seperti yang dijelaskan oleh (Kusuma, 2019) bahwa sumber karbohidrat merupakan nutrisi yang paling penting bagi pertumbuhan jamur dan harus ada dalam jumlah besar dari nutrisi yang lain serta karbohidrat merupakan zat yang paling banyak menyusun sel. Kandungan karbohidrat Ubi kolope lebih tinggi di bandingkan bahan utama media PDA yaitu kentang, akan tetapi kandungan nutrisi yang di miliki oleh kentang lebih besar di bandingkan ubi kolope sehingga pada pembuatan media alternatif di perlukan penambahan nutrisi dari sumber makronutrisi yaitu glukosa (karbon) berfungsi sebagai bahan energi utama dan bahan dasar pembentukan sel dan pepton (nitrogen) berfungsi sebagai pembentukan asam amino, enzim, DNA/RNA, sedangkan dari sumber mikronutrisi ada yeast extrak berfungsi untuk mempercepat pertumbuhan koloni mempertebal, morfologi khas, enzim aktif. Menurut (Wulandari *et al*., 2018) Pepton dan yeast extract menjadi sumber nitrogen organik yang berfungsi sebagai makronutrien penting dalam pertumbuhan sel. Pati, selain sebagai makronutrien penting, berperan juga sebagai sumber karbon 44 penginduksi enzim amilase yang penting bagi pertumbuhan jamur candida albicans.

Dalam mendukung pertumbuhan Candida albicans, media tidak hanya harus mengandung nutrisi yang memadai, tetapi juga dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan. Salah satu faktor penting adalah suhu, di mana Candida albicans sebagai jamur patogen dapat tumbuh optimal pada kisaran suhu 20°C hingga 38°C. Suhu optimum ini cenderung tinggi karena karakteristik patogeniknya yang mampu beradaptasi dengan kondisi tubuh manusia. Masa inkubasi yang diperlukan untuk pertumbuhan koloni umumnya berkisar antara 24 hingga 72 jam. Namun, hasil studi oleh Tamam (2019) menunjukkan bahwa

dalam kondisi nutrisi yang optimal dan suhu yang mendukung, koloni Candida albicans dapat terbentuk hanya dalam 24 jam. Dari aspek Ph, jamur ini lebih menyukai kondisi asam, dengan rentang Ph ideal antara 4,5 hingga 5,5. Selain itu, faktor kelembaban udara juga turut berperan penting. Jamur membutuhkan kelembaban sekitar 65% untuk mendukung pertumbuhan dan proses sporulasi secara optimal. Kelembaban yang terlalu tinggi atau terlalu rendah justru dapat mempercepat pertumbuhan mikroorganisme lain yang tidak diinginkan. Sejalan dengan hal tersebut, Jiwintarum *et al.* (2017) menyatakan bahwa selain ketersediaan nutrisi, keberhasilan pertumbuhan dan perkembangan Candida albicans pada media kultur juga sangat dipengaruhi oleh suhu, Ph, jenis substrat, kelembaban, serta senyawa kimia yang terkandung dalam media.

Berdasarkan hasil penelitian yang tersaji pada Tabel 1 dan Tabel 2, diperoleh rata-rata pertumbuhan koloni Candida albicans pada berbagai perlakuan sebagai berikut: P1 sebesar 220,67 koloni, P2 sebesar 355,00 koloni, dan P0 (kontrol) sebesar 225,00 koloni. Hasil uji statistik menunjukkan nilai p = 0,004 ($p < 0,05$), yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik antara rata-rata pertumbuhan koloni pada ketiga perlakuan.

Peningkatan yang mencolok terlihat pada perlakuan P2, di mana rata-rata jumlah koloni mencapai 355,00 atau lebih tinggi 134,33 koloni dibanding P1, serta lebih tinggi 130,00 koloni dibanding kontrol P0. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan P2 mampu menyediakan kondisi lingkungan yang lebih optimal bagi pertumbuhan Candida albicans. Faktor-faktor yang dapat berkontribusi pada hal ini meliputi ketersediaan nutrien yang lebih lengkap, keseimbangan pH media, dan kemungkinan adanya senyawa pendukung metabolisme C. albicans pada media P2. Sementara itu, perlakuan P1 dan P0 menunjukkan rata-rata pertumbuhan yang relatif berdekatan, masing-masing 220,67 dan 225,00 koloni. Perbedaan yang kecil ini mengindikasikan bahwa media P1 memiliki kualitas pertumbuhan yang setara dengan media kontrol, sehingga modifikasi yang dilakukan pada P1 tidak memberikan peningkatan signifikan pada jumlah koloni yang terbentuk.

Dari hasil pengamatan, ke enam media ubi kolope dan PDA kontrol yang tumbuh jamur Candida albicans memiliki ciri makroskopis yang sama yaitu terlihat berwarna putih kekuningan, permukaan halus licin, berbau ragi, tepian rata, koloni berukuran kecil dan berbentuk bulat. Sedangkan ciri mikroskopisnya setelah dilakukan pengamatan dengan menggunakan KOH 10% dari perbesaran lensa objektif 100x menggunakan oil emersi didapatkan hasil yaitu bulat, lonjong, kecil, sel seperti ragi dan terdapat pseudohifa.

Pada pengamatan mikroskopis terhadap salah satu media juga di dapatkan adanya klamidospora. Biasanya klamidospora tidak ditemukan pada spesies Candida yang lain. Hal ini seperti yang dipaparkan oleh (Indrayati and Sari, 2018) klamidospora tidak ditemukan pada spesies Candida yang lain dan pembeda pada spesies tersebut hanya Candida albicans yang dapat menghasilkan klamidospora. Klamidospora ini merupakan spora yang dibentuk karena hifa, ditemukan pada tempat-tempat tertentu, berbentuk bulat, besar, berdinding tebal dan letaknya di terminal lateral.

Hal ini Sesuai dengan pernyataan dari (Indrayati *and* Sari, 2018) Candida albicans memiliki ciri makroskopis berbentuk bulat, lonjong atau bulat lonjong. Koloninya pada medium padat sedikit menimbul dari permukaan medium, dengan permukaan halus, licin atau berlipat – lipat, berwarna putih kekuningan dan berbau ragi. Besar koloni bergantung pada umur. Pada tepi koloni dapat dilihat hifa semu sebagai benang – benang halus yang masuk ke dalam medium. Yaitu koloni berwarna putih kekuningan, bentuk bulat, permukaan halus/licin dan timbul, tepian rata serta berbau khas ragi sedangkan pada ciri mikroskopis blastospora bentuk bulat maupun lonjong, gram positif, sel seperti ragi dan memanjang seperti pseudohifa.

Secara biologis, Candida albicans adalah mikroorganisme yang memerlukan sumber karbon dan nitrogen yang memadai untuk pembelahan sel dan pembentukan koloni. Media dengan kandungan glukosa, asam amino, dan mineral esensial yang optimal akan mempercepat fase log pertumbuhan, sehingga koloni terbentuk dalam jumlah lebih banyak. Hasil ini sejalan dengan penelitian sebelumnya Halimah *et al.*, (2022) yang menyatakan bahwa variasi

komposisi media dapat memengaruhi laju pertumbuhan C. albicans secara signifikan.

Dengan demikian, temuan ini mengonfirmasi bahwa komposisi media pada P2 lebih efektif untuk memacu pertumbuhan C. albicans dibandingkan P1 maupun media kontrol P0. Hasil ini dapat menjadi acuan dalam pengembangan formulasi media yang lebih efisien untuk penelitian atau aplikasi industri yang memerlukan kultur C. albicans dalam jumlah besar.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat di simpulkan media alternatif berbasis ubi kolope dengan tanpa penambahan nutrisi dan penambahan nutrisi dapat di gunakan sebagai media alternatif pertumbuhan jamur candida albicans:

1. Pertumbuhan koloni pada media alternatif ubi kolope dengan penambahan makro dan mikro nutrisi yaitu memiliki pertumbuhan dengan rata-rata 355,00.
2. Pertumbuhan koloni pada media alternatif Ubi kolope konsentrasi tanpa penambahan nutrisi yaitu memiliki pertumbuhan dengan rata-rata 220,67.
3. Hasil perbandingan menunjukkan bahwa media ubi kolope dengan penambahan nutrisi (makro dan mikronutrien) memberikan peningkatan pertumbuhan koloni Candida albicans yang signifikan, yaitu sekitar 60,91% lebih tinggi dibandingkan media tanpa penambahan nutrisi. Hal ini menegaskan bahwa kehadiran nutrisi tambahan dapat mempercepat metabolisme dan replikasi sel jamur, yang berdampak langsung pada jumlah koloni yang terbentuk.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada prodi D4 Teknologi Laboratorium Medik Fakultas Sains dan Teknologi dan Lembaga Penelitian Dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM)Universitas Mandala Waluya.

KONFLIK KEPENTINGAN

Pada penelitian ini tidak ada konflik kepentingan dengan instansi/perorangan manapun.

REFRENSI

Fatmawati, Andi, Muh Rifo Rianto, Sri Wahyuni, And Akademi Analis Kesehatan Muhammadiyah Makassar Alamat Korespondensi. 2017. "Identifikasi Fungi Patogen Pada Musca Domestica." Jurnal Medika: Media Ilmiah Analis Kesehatan 2(1):2540–7910.

Halimah, Nur, Ike Apriani, And Riri Novita Sunarti. 2022. "Tepung Umbi Gadung (Dioscorea Hispida Dennst) Sebagai Alternatif Media Pengganti Media Pda (Potato Dextrose Agar)." Organisms: Journal Of Biosciences 2(2):85–94.

Indrayati, s and Reszki I, S. 2018. Gambaran Candida Albicans Pada Bak Penampung Air Di Toilet SDN 17 Batu Banyak Kabupaten Solok. Jurnal kesehatan perintis. 5(2).

Khusuma, A., Agustiningrum, B. H., & Srigede, L. 2021. Penggunaan Bahan Pangan Lokal Umbi Gembili (Dioscorea Esculenta L. Sebagai Media Alternatif Pertumbuhan Jamur Aspergillus Sp. *Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan*, *8*(3), 207-211.

Kurniawati, R., Rahmawati, U., & Suyana, S. 2021. Pemanfaatan Tepung Beras Putih (Oryza Sativa L.) Varietas Ir64 Sebagai Media Alternatif Untuk Pertumbuhan Jamur Aspergillus Flavus. *Journal Of Nursing And Public Health*, *9*(2), 88-93.

Naim. 2020. Efektifitas Berbagai Variasi Konsentrasi Bekatul Terhadap Pertumbuhan Candida Albicans: 2621-9557." 11(1):47–55.

Ningsih, D. R., Zusfahair, M. D., & Mantari, D. 2017. Ekstrak Daun Mangga (Mangifera Indica L.) Sebagai Antijamur Terhadap Jamur Candida Albicans Dan Identifikasi Golongan Senyawanya. *Jurnal Kimia Riset*, *2*(1), 61.

Wantini, Sri *And* Artha Octavia. 2018. "Perbandingan Pertumbuhan Jamur Aspergillus Flavus Pada Media Pda (Potato Dextrose Agar) Dan Media Alternatif Dari Singkong (Manihot Esculenta crantz)." jurnal analis kesehatan 6(2):625.

Wulandari, Tria Putri, Dalia Sukmawati, And Tri Handayani Kurniati. 2018. "Isolasi Dan Seleksi Khamir Amilolitik Asal Buah Nangka (Artocarpus Heterophyllus Lam.)." Bioma 13(1):37–42.

PREVALENCE OF *Candida albicans* IN WOMEN VAGINAL DISCHARGE IN PALANGKA RAYA CITY, INDONESIA

Gerosa Maria Kostiani[1] · I Gde Hary Eka Adnyana[2] · Galih Indra Permana[2] · Ashari Mohpul[2] · M. Yusuf Ilham Kurniawan[2] · Albert Valentino Indrawan[2] · Yanuardi Ikhsan[2] · Dian Mutiasari[3] · Agnes Immanuela Toemon[1] · Arini Ratnasari[1] · Arif Rahman Jabal[1] · Ivan Permana Putra[4] · Hairil Akbar[5] · Syamsul Arifin[6] · Amanda Hotria Purba[2] · Dora Garcia[2]

[1]Study program of Medical, Faculty of Medicine, Palangka Raya University, medical laboratory technology study program, Faculty of Medicine, Palangka Raya University.
[2]Study program of Medical, Faculty of Medicine, Palangka Raya University, Jl. Yos Sudarso, Palangka Raya 73112, Indonesia.
[3]Biomedical laboratory, Faculty of Medicine, Palangka Raya University, Jl. Yos Sudarso, Palangka Raya 73112, Indonesia
[4]Departemen of Publich Health, Faculty of Medicine, Palangka Raya University, Jl. Yos Sudarso, Palangka Raya 73112, Indonesia
[5]Departemen of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Science, IPB University, Jl. Raya Dramaga, Bogor 16880, Indonesia
[6]Program of Public Health, Graha Medika Institute of Health Technology. Jl Siswa, Kotamobago 95716, Indonesia

**e-Mail: arifrjabal@med.upr.ac.id*

Abstract

In Palangka Raya City, Indonesia, this study looked into the prevalence of Candida albicans in women who had irregular vaginal discharge. Samples were taken from women who visited certain Public Health Centers and displayed symptoms including itching and foul-smelling discharge using a descriptive survey design. Sterile cotton swabs were used to remove vaginal swabs from the outer part of the vaginal wall following informed consent. Every sample was applied to a glass slide, let to air dry, fixed for two minutes with 70% ethanol, stained for ten minutes with 10% Giemsa, rinsed with distilled water, and then inspected under a microscope. The results showed that Candida albicans was the predominant infectious agent found and responsible for 55.04% of all infections seen, appearing in 23.88% of the total samples. According to the statistics, Candida albicans is the main cause of vaginal infections in the community under study. This emphasizes the need for increased awareness, precise diagnosis, and suitable antifungal treatment plans that are specific to women in this area.

***Keywords** : Prevalence, Candida albicans, Women, Vaginal Discharge, Palangka Raya*

PENDAHULUAN

Fungal pathogens, particularly *Candida albicans*, are known to be one of the main causes of vaginal infections, which continue to be a major problem for women's reproductive health worldwide (Mucci et al., 2017). Vulvovaginal candidiasis (VVC) can be caused by any disturbance in the delicate balance between the host and its microbiota, even though *Candida albicans* is a common commensal organism that colonizes the vaginal mucosa in about 20–30% of healthy women (Xiao et al., 2020). The quality of life can be significantly impacted by the

symptoms of this disorder, which include discomfort, itching, and abnormal discharge. The clinical importance of this fungal infection is shown by epidemiological studies that show around 75% of women will have at least one episode of VVC in their lifetime and that 5–8% are prone to recurring infections (Xiao et al., 2020).

There is significant diversity in the prevalence rates of *Candida albicans* infections among various groups and geographical areas. According to a number of studies, infection rates among women who exhibit symptoms range from 39% to 50%; women between the ages of 24 and 44 often have the highest incidence. These discrepancies can be linked to variances in socioeconomic level, healthcare access, hygiene habits, and environmental factors (Harnindya & Agusni, 2016). There is still a dearth of precise epidemiological data regarding the prevalence of Candida albicans in women who report with vaginal discharge in Palangka Raya City, despite the wealth of global data. Healthcare professionals' capacity to develop and carry out focused treatments for management and prevention in this community is hampered by the lack of localized data.

In light of these gaps, the current study intends to find out how often *Candida albicans* is in women who complain of vaginal discharge and visit Palangka Raya Public Health Centers. Comprehending the local epidemiology of Candida albicans infection is essential for formulating efficacious public health initiatives, enhancing the precision of diagnostic procedures, and directing treatment regimens customized to the distinct attributes of the populace. This study provides crucial baseline data that help improve reproductive health outcomes for women in Palangka Raya across all age groups and guide healthcare strategies.

BAHAN DAN METODE

Clinical samples from women between the ages of 15 and 60 who complained of unusual vaginal discharge, itching, or irritation at particular Public Health Centers (PHCs) in Palangka Raya City were used in this study. Pahandut, Bukit Hindu, Kayon, Menteng Raya, and Kereng PHCs were among the facilities. Cotton swabs and sterile disposable speculums were used to collect vaginal specimens in order to maintain aseptic collection practices. After that, the biological material was moved to sanitized glass slides for additional examination in the lab. The following essential reagents were used in sample processing:

distilled water for rinse processes, a 10% Giemsa solution (made in a 1:9 dilution) as the staining agent, and 70% ethanol for slide fixation. A normal light microscope was used for microscopic investigation, and all tests were carried out at the University of Palangka Raya's Biomedical Laboratory, Faculty of Medicine .

To ascertain the prevalence of Candida albicans in women with bothersome vaginal discharge, the study used a descriptive survey approach. The period of data gathering in 2021 was June through December. Clinical symptoms and freely informed consent were used to determine the inclusion of participants, who were gathered from five PHCs in Palangka Raya. Under sterile settings, vaginal swabs were taken from the outer part of the vaginal wall, and the samples were promptly smeared onto glass slides. After being allowed to air dry, the smears were fixed for two minutes in 70% ethanol and then stained for ten minutes in a 10% Giemsa solution. The slides were stained, cleaned with distilled water, and allowed to air dry at room temperature. The presence of *Candida albicans* was then determined by microscopic analysis based on morphological traits.

IBM SPSS software version 24 was used to do a descriptive analysis on the laboratory data. To show how *Candida albicans* were distributed throughout the study population, the results were presented as percentages. The University of Palangka Raya's Medical Ethics Committee approved this study in compliance with ethical standards (Approval No. 48/UN24.9/LL/2021).

RESULT

In Palangka Raya City, sample collection was done in a number of subdistricts, with a focus on the Public Health Centers in Pahandut, Jekan Raya, and Sebangau. Women who displayed clinical signs of vaginal discharge, itching, and malodor—all of which are frequently linked to vaginal infections—were the focus of the sampling. 22 of the 67 samples tested positive for harmful organisms, representing a 33% overall infection incidence. Candida albicans was found in 23.88% of these instances, suggesting that it plays a major role as a causal agent in women who had symptomatic discharge. The information emphasizes the necessity of focused treatment and diagnostic strategies to treat fungal infections in this population.

Table 1. Prevalence of *C. albicans*

No	Public Health Centers	(n)	Sample (+)
			CA
1	Pahandut	7	2
2	Bukit Hindu	5	3
3	Kayon	14	2
4	Menteng	16	5
5	Kereng	25	4
	Total	67	16 (23.88%)

(CA): *Candida albicans*

In this study, 55.04% of the infections found in this investigation were caused by Candida albicans, which was more common than Trichomonas vaginalis. There are various morphological forms of Candida albicans, however the most frequently seen are blastospores and pseudohyphae. The organism mostly manifests as blastospores in commensal settings, but in its pathogenic stage, it changes into pseudohyphae and genuine hyphae to aid in tissue penetration and infection. In contrast, T. vaginalis is a flagellated protozoan with an oval form, an undulating membrane, and forward flagella that facilitate mobility. It is roughly 10–30 µm long and 5–10 µm wide. The structural change of Candida albicans under pathogenic settings emphasizes its adaptation mechanisms and clinical significance in fungal-related vaginal discharge, even though both species contribute to vaginal infections.

DISCUSSION

Reproductive health is more than just the absence of illness or disability; it is a state of whole physical, mental, and social well-being in all areas pertaining to the reproductive system. Vaginal discharge, which frequently results from infections of the lower reproductive tract, is one of the prevalent disorders impacting women's reproductive health. Women of all ages may be impacted by these disorders, which can lead to major consequences like infertility or even cervical cancer if addressed.

Candida albicans was found to be present in 23.88% of vaginal exudate samples in a recent study carried out in Palangka Raya City. Pregnant women who complained of itching and a foul vaginal odor made up the majority of those

seeking medical attention at public health centers. The prevalence of candidiasis varies significantly across regions, according to comparative data. In Aligarh, India, Ahmad and Khan (2009) found that 46.9% of women were infected. In Surabaya, Indonesia, the prevalence was lower at 11.5%, with the largest frequency among women aged 24 to 44 years (Harnindya & Agusni, 2016). In Riyadh, Saudi Arabia, *C. albicans* was found in 39% of female patients (Ameen et al., 2017).

Many behavioral and sociodemographic characteristics, such as age, educational attainment, economic standing, cultural customs, and involvement in commercial sex work, have been linked to heightened vulnerability to candidiasis. According to Harnindya and Agusni (2016), 70–75% of women will have vaginal candidiasis at least once in their lifetime, making it one of the most prevalent fungal diseases in women. About 40–50% of those who have the illness experience recurrence, and it is particularly common in women of reproductive age. Itching and unusual discharge are common symptoms of candidiasis, which is often uncomfortable even though it rarely poses a threat to life. Many women are unable to distinguish between pathological and healthy discharge, which frequently leads to needless worry and postponed treatment. This misconception might also play a role in the inadvertent spread of pathogens.

Another layer of risk is added by Indonesia's tropical climate, which encourages the growth of fungi, particularly in body parts that are prone to perspiration, such the vaginal area and skin folds. With 55.04% of all infections, *Candida albicans* was shown to be more common than T. vaginalis in clinical cases, confirming its position as the most common pathogen in vulvovaginal infections. Environmental and hygienic factors put over 90% of Indonesian women at risk for irregular vaginal discharge. Among these are inadequate genital hygiene during menstruation, wearing non-breathable clothing, not changing underwear or period pads frequently, and poor personal hygiene. Systemic diseases like diabetes mellitus may also make people more susceptible to candidal overgrowth. The perfect habitat for fungal colonization and infection is created by excessive wetness, skin maceration, and poor hygiene, which emphasizes the need for better reproductive health education and prevention techniques specific to tropical areas.

CONCLUSION

According to the study's findings, Candida albicans plays a major role in local reproductive tract infections and is the main cause of vaginal discharge in women in Palangka Raya.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors would like to express their sincere gratitude to the Heads of the Public Health Centers in Palangka Raya City for their valuable support and permission during the data collection process. Their cooperation greatly contributed to the success of this study on *Candida albicans* prevalence.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest in the conduct and The fungus *Candida* spp. is part of the normal vaginal microflora by 20-30% in healthy women. However, if the balance between this fungus and its host is disturbed, it will cause candidiasis

REFERENCES

Harnindya, D., & Agusni, I. (2016). Studi Retrospektif: Diagnosis dan Penatalaksanaan Kandidiasis Vulvovaginalis. *Jurnal Berkala Ilmu Kesehatan Kulit Dan Kelamin*, *28*(1), 42–48.

Mucci, M. J., Cuestas, M. L., Landanburu, M. F., & Mujica, M. T. (2017). Prevalence of Candida albicans, Candida dubliniensis and Candida africana in pregnant women suffering from vulvovaginal candidiasis in Argentina. *Revista Iberoamericana de Micologia*, *34*(2), 72–76. https://doi.org/10.1016/j.riam.2016.09.001

Xiao, M., Chen, S. C. A., Kong, F., Xu, X. L., Yan, L., Kong, H. S., Fan, X., Hou, X., Cheng, J. W., Zhou, M. L., Li, Y., Yu, S. Y., Huang, J. J., Zhang, G., Yang, Y., Zhang, J. J., Duan, S. M., Kang, W., Wang, H., & Xu, Y. C. (2020). Distribution and antifungal susceptibility of candida species causing candidemia in China: An update from the CHIF-NET Study. *Journal of Infectious Diseases*, *221*(Suppl 2), S136–S147. https://doi.org/10.1093/INFDIS/JIZ573

PERBANDINGAN HASIL PEMERIKSAAN STATUS SEKRETOR PADA SPESIMEN SALIVA DAN URINE METODE AGLUTINASI INHIBISI

Fildza Apriliani[1]* · Betty Nurhayati[1] · Ganjar Noviar[1] · Eem Hayati[1]

[1]Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Bandung, Jawa Barat, Indonesia

e-Mail: fildzapriliani05@gmail.com
No Tlp WA : 081312668976

Abstract

Secretor status refers to the ability of an individual to secrete ABH antigens into body fluids other than blood. Saliva and urinee are among the body fluids that can be utilized for assessing secretor status. Saliva contains glycoproteins known as mucins, which carry blood group specificity (ABH antigens). The enzyme fucosyltransferase plays a key role in synthesizing ABH antigens in the gastrointestinal tract and secretions, thereby making urinee a potential specimen for secretor status examination. This study aimed to compare secretor status titers in saliva and urinee specimens. A descriptive study design was employed, comparing secretor status titers using saliva and urinee specimens obtained from the same individuals. Morning saliva and morning urinee samples were collected from 26 respondents with blood group A, and the agglutination inhibition method was applied for analysis. The Wilcoxon test yielded a significance value of 0.000 (p < 0.005), indicating a statistically significant difference in secretor status titers between saliva and urinee specimens.
***Keywords** : Secretor Status, Saliva, Urinee, Titer*

Abstrak

Sekretor merupakan kemampuan individu mensekresi antigen ABH ke cairan tubuh lainnya selain darah. Saliva dan urine merupakan cairan tubuh yang dapat digunakan untuk pemeriksaan status sekretor. Saliva mengandung glikoprotein yang disebut musin yang membawa spesifitas golongan darah (antigen ABH). Enzim fucosyltransferase merupakan enzim yang mensintesis antigen ABH di saluran cerna dan sekresi, sehingga urine dapat digunakan sebagai spesimen pemeriksaan status sekretor. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan titer status sekretor pada specimen saliva dan urine. Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian deskriptif, dengan membandingkan titer status secretor menggunakan specimen saliva dan urine yang berasal dari individu yang sama. Pada penelitian ini digunakan saliva pagi dan urine pagi dari individu yang sama yang bergolongan darah A sebanyak 26 responden menggunakan metode aglutinasi inhibisi. Hasil uji Wilxocon menunjukan nilai Sig 0,000 atau Sig <0,005, yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna pada titer status secretor menggunakan specimen saliva dan urine.
Kata Kunci : Status Sekretor, Saliva, Urine, Titer

PENDAHULUAN

Kemampuan seseorang untuk mensekresi antigen ABO darah ke dalam cairan tubuh seperti saliva (air liur), keringat, air mata, sperma dan serum dikenal sebagai status sekretor. Status sekretor biasanya disebut sebagai sekretor atau nonsekretor. Status sekretor berarti seseorang dapat mensekresi antigen ABH terlarut (SeSe atau Sese) dalam darah ke cairan tubuh lainnya, sedangkan status nonsekretor berarti seseorang tidak dapat mensekresi antigen A atau antigen B (sese) dalam darah ke cairan tubuh lainnya. Status sekretor seseorang dapat diturunkan secara genetik.

“Terdapat sekitar 78% populasi yang memiliki minimal satu gen Se. Individu yang memiliki gen Se akan mengeluarkan antigen A, B, dan atau H” (Andika Aliviameita & Puspitasari, 2020.)

Sekitar 85% dari penduduk dunia disebut sekretor karena dapat mengeluarkan golongan darah dalam bentuk bebas melalui sekresi tubuh seperti, keringat, sperma, saliva, urine, ASI, dan sebagainya. Sekitar 15% penduduk dunia tidak dapat mengeluarkan antigen ABO yang larut dalam cairan tubuh, sehingga disebut nonsekretor (Septiyanti et al., 2018.).

Saliva mengandung glikoprotein yang disebut musin, yang mengandung 70% karbohidrat yang terlarut dalam saliva, termasuk antibodi (terutama IgA) dan beberapa yang membawa spesifitas golongan darah (antigen ABH). Saliva adalah sumber yang paling kaya untuk menunjukkan status sekretor di antara semua cairan tubuh lainnya (Metgud R et al., 2016). Selain itu, antigen H adalah prekursor yang menunjukkan adanya antigen A dan antigen B hadir dalam bentuk terlarut di saliva(Utami Putri et al., 2023).

Gen sekretor yang mensintesis antigen ABH juga mengatur terjadinya glikolipid aktif ABH pada urine. Sehingga selain sampel saliva, sampel untuk pemeriksaan status sekretor juga dapat menggunakan cairan tubuh lainnya seperti urine. Sampel urine dipilih karena tidak memiliki kandungan berbagai macam enzim pada saliva yang dikhawatirkan dapat mengakibatkan adanya kemungkinan terjadinya kesalahan dalam pemeriksaan atau negatif palsu atau non sekretor palsu. Selain itu pada proses pengambilan sampel, pengambilan sampel urine lebih mudah dibandingkan dengan saliva (Catur et all, 2019.).

Berdasarkan hasil penelitian yang pernah dilakukan di Universitas Andalas, distribusi golongan sekretor lebih banyak daripada golongan nonsekretor. Distribusi golongan sekretor pada mahasiswa pendidikan dokter Fakultas Kedokteran Universitas Andalas adalah 78% dan golongan nonsekretor adalah 22% (Alqadri et al., 2016).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan di Poltekkes Bandung terhadap titer status sekretor dengan sampel saliva yang diambil sebelum dan setelah menyikat gigi dengan 8 sampel dari individu golongan darah A dan B, didapatkan hasil titer status sekretor mulai dari 1/4 - 1/512 (Azizah et al., 2023).

Penelitian lain yang dilakukan di Poltekkes Bandung juga dengan 6 sampel saliva dari individu bersatus sekretor yaitu titer status sekretor pada saliva pagi dan saliva sore dengan variasi lama penyimpanan pada suhu refrigrator (30 menit, 60 menit, 90 menit), didapatkan titer status sekretor saliva pagi adalah 1/6 - 1/512 sedangkan titer status sekretor saliva sore adalah 1/8 - 1/256 (Utami Putri et al., 2023). Hasil penelitian lain yang dilakukan di Poltekkes Bandung dengan sampel urine dari 8 individu berstatus sekretor, didapatkan hasil titer status secretor 1/2 (Catur et all, 2019).

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan titer status sekretor dengan menggunakan spesimen saliva dan urine yang berasal dari individu yang sama menggunakan metode aglutinasi inhibisi.

BAHAN DAN METODE

Desain penelitian yang digunakan adalah *Cross Sectional* yaitu rancangan penelitian dengan melakukan pengumpulan data sekaligus pada suatu saat atau *point time approach*. Populasi pada penelitian ini adalah seluruh mahasiswa Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Bandung yang dilakukan pemeriksaan status sekretor di Laboratorium Hematologi. Sampel pada penelitian ini adalah sejumlah 26 mahasiswa Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Bandung yang dilakukan pemeriksaan status sekretor di Laboratorium Hematologi dengan kriteria inklusi mahasiswa jurusan Teknologi Laboratorium Medis Polekkes Kemenkes Bandung; bergolongan darah A berstatus sekretor. Sedangkan untuk kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah bukan mahasiswa jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Bandung; bergolongan darah A berstatus sekretor; bergolongan darah B, O atau AB berstatus sekretor/non sekretor.

Pengumpulan spesimen saliva dilakukan dengan metode *passive drooling* yang merupakan *gold standard* teknik sampling saliva untuk pemeriksaan saliva (Pawlik & Błochowiak, 2021) (Baek et al., 2025). Kemudian saliva dididihkan selama 10-15 menit, dinginkan. Setelah dingin, disentrifugasi dan supernatant dipisahkan untuk dilakukan pemeriksaan status sekretor metode aglutinasi inhibisi (Tejasvi et al., 2021). Sedangkan spesimen urine yang digunakan adalah urine pagi yang disentrifugasi kemudian supernatan dipisahkan dan dilakukan pemeriksaan status sekretor metode aglutinasi inhibisi. Tahapan pemeriksaan status sekretor metode aglutinasi inhibisi dimulai dengan pengolahan sampel, pengenceran sampel. Setelah

dilakukan pengenceran sampel, ditambahkan reagen zat Anti ABO dan sel eritrosit, dihomogenkan dan diinkubasi (Ruth et al., 2020). Proses inkubasi dan suhu dapat mempengaruhi reaksi antigen-antibodi (Amanda et al., 2023).Penelitian ini dilakukan pada bulan April dan Mei tahun 2024 di laboratorium Hematologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Bandung. Analisa data dilakukan dengan uji normalitas terlebih dahulu, data terdistribusi tidak normal maka dilanjutkan dengan uji Wilcoxon.

HASIL

Penelitian diawali dengan validasi reagen zat anti A dan didapatkan hasil 4+ yang menunjukkan hasil valid. Setelah reagen zat anti A divalidasi, maka dilanjutkan dengan menentukan titer zat anti dan didapatkan hasil 1/128. Maka untuk pemeriksaan status sekretor harus dipekatkan 8 kali menjadi 1/16.

Pemeriksaan status sekretor pada spesimen saliva dan urine dilakukan dengan reagen zat anti A yang dipekatkan berdasarkan hasil titrasi yaitu 1/16. Diperoleh hasil sekretor pada semua spesimen saliva sedangkan pada semua spesimen urine diperoleh hasil non sekretor. Pemeriksaan status sekretor pada spesimen urine dilanjutkan lagi dengan menggunakan zat anti A yang dipekatkan menjadi 1/32. Hasil yang didapatkan adalah non sekretor pada semua spesimen urine. Hal ini bermakna konsentrasi antibodi pada zat anti A masih tinggi atau berlebih. Sehingga pemeriksaan dilanjutkan lagi dengan menggunakan zat anti A yang dipekatkan hingga 1/64. Hasil yang didapatkan terdapat sekretor dan non sekretor dengan titer yang disajikan dalam tabel 1.

Table 1. Hasil Rekapitulasi Titer Status Sekretor Saliva dan Urine

No	Saliva (Titer Anti A 1/16)	Urine (Titer Anti A 1/64)
1	1/2	0
2	1/2	0
3	1/2	0
4	1/2	0
5	1/4	0
6	1/2	0
7	1/4	0
8	1/2	0
9	1/256	1/64
10	1/2	0
11	1/64	1/16

No	Saliva (Titer Anti A 1/16)	Urine (Titer Anti A 1/64)
12	1/16	1/4
13	1/32	1/8
14	1/16	1/4
15	1/8	1/2
16	1/4	0
17	1/8	1/2
18	1/16	1/4
19	1/4	0
20	1/16	1/4
21	1/16	1/4
22	1/8	1/2
23	1/2	0
24	1/2	0
25	1/4	0
26	1/64	1/16

Keterangan:

0 = Non Sekretor

Berdasarkan tabel 1 diperoleh titer status sekretor pada saliva dengan melakukan pengenceran reagen zat anti A 1/16 diperoleh titer minimum yaitu 1/2 hingga titer maksimum 1/256. Sedangkan status sekretor pada urine diperoleh titernya dengan menggunakan pengenceran reagen zat anti A 1/64, diperoleh titer minimum 1/2 hingga titer maksimum yaitu 1/64.

Data yang telah didapat dilanjutkan dengan uji normalitas untuk menentukan data terdistribusi normal atau tidak. Uji normalitas yang digunakan untuk mengetahui normalitas dari distribusi data pada penelitian ini ialah metode Shapiro-Wilk karena data pada penelitian ini sebanyak <50 data. Uji normalitas dapat dilihat pada table 2 dibawah ini

Table 2. Uji Normalitas

Spesimen	Hasil	Kesimpulan
Saliva	P<0,05	Distribusi tidak normal
Urine	P<0,05	Distribusi tidak normal

Berdasarkan uji normalitas pada tabel 2 diperoleh bahwa data tidak terdistribusi normal maka selanjutnya dilakukan dengan uji statistik *nonparametric Wilcoxon* untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan titer satus sekretor pada saliva dan urine yang disajikan pada tabel sebagai berikut.

Table 3. Uji Wilcoxon

	Sig	Hasil	Kesimpulan
Saliva - Urine	0,000	P<0,05	Terdapat perbedaaan

Keputusan terlihat pada table 3 bahwa nilai Sig. adalah 0,000 dimana nilai Sig. < 0,05 artinya terdapat perbedaan yang bermakna antara titer status sekretor pada spesimen saliva dan urine.

DISKUSI

Pada hasil penelitian yang disajikan pada tabel 3 diketahui terdapat perbedaan yang bermakna pada pemeriksaan titer status sekretor antara spesimen saliva dan urine. Dari 26 data yang didapat, perbedaan titer relatif tetap yaitu titer status sekretor urine lebih rendah 4 kali dari titer status sekretor saliva mulai dari titer 1/8. Sedangkan titer saliva 1/2 dan 1/4 didapatkan hasil pemeriksaan pada urine adalah non sekretor. Berdasarkan perbandingan titer status sekretor saliva dan titer status sekretor urine tersebut, maka dilakukan dengan pengenceran reagen zat anti A yang berbeda. Pada saliva digunakan pengenceran reagen anti A 1/16 sedangkan pada urine digunakan pengenceran reagen zat anti A 1/64.

Perbandingan konsentrasi antigen dengan antibodi merupakan faktor terpenting dalam reaksi antigen dan antibodi. Saat digunakan saliva didapatkan hasil status sekretor dengan reagen zat anti A pada pengenceran 1/16. Hal ini bermakna konsentrasi antibodi dari zat anti dan antigen dari saliva mencapai keseimbangan atau zona ekuivalen. Sedangkan pada spesimen urine dengan reagen zat anti A pengenceran 1/16 tidak didapatkan hasil sekretor yang bermakna tidak adanya keseimbangan konsentrasi antibodi dan antigen. Konsentrasi antibodi pada zat anti A terlalu tinggi atau berlebih yang menyebabkan tidak terjadi reaksi netralisasi dengan antigen yang ada pada urine. Maka hasil yang didapatkan adalah non sekretor palsu. *Prozone effect* dapat menyebabkan hasil negatif palsu atau positif lemah, pengenceran antibodi perlu dipertimbangkan untuk memastikan terjadinya keseimbangan reaksi antigen antibodi (Sandoval et al., 2024).

Oleh karena itu, penelitian dilanjutkan dengan pengenceran reagen zat anti lebih tinggi yaitu 1/32 dan dilakukan kembali pemeriksaan status sekretor pada spesimen urine tersebut. Hasil yang didapatkan adalah non sekretor pada semua urine. Hal ini bermakna bahwa konsentrasi antibodi pada zat anti A masih terlalu

tinggi atau berlebih untuk bereaksi dengan antigen yang terdapat didalam urine. Sehingga didapatkan hasil non sekretor palsu.

Penelitian dilanjutkan kembali dengan pengenceran zat anti A lebih tinggi yaitu 1/64. Didapatkan hasil sekretor dan non sekretor. Sehingga dapat dikatakan pada pengenceran zat anti A ini didapatkan zona ekuivalen yaitu adanya keseimbangan antigen dan antibodi. Pengenceran zat anti A yang digunakan untuk urine adalah 4 kali lipat pengenceran zat anti A yang digunakan untuk saliva. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa konsentrasi sekretor yang terdapat dalam saliva dan urine adalah berbeda sehingga untuk mengetahui titer sekretor pada urine harus dilakukan pengenceran zat anti A yang lebih tinggi. Konsentrasi sekretor pada saliva adalah lebih tinggi 4 kali dari sekretor pada urine.

Dalam pembentukan kompleks antigen dan antibodi, terbentuk kompleks besar apabila antigen dan antibodi bertemu pada suatu konsentrasi yang jumlahnya paratopnya (tempat pengikatan antibodi) kurang lebih setara dengan jumlah epitop. Apabila terdapat terlalu banyak antibodi, antibodi berikatan dengan setiap antigen bivalen dan tidak perlu menjembatani 2 molekul antigen dengan 1 molekul antibodi. Pada situasi demikian, presipitat yang terbentuk sedikit atau tidak terbentuk sama sekali, yang memberi kesan bahwa pasien tidak memiliki antibodi terhadap antigen, padahal pada kenyataannya pasien tersebut memiliki terlalu banyak antibodi untuk penjembatanan *multiple* yang diperlukan agar reaksi presipitasi atau aglutinasi terjadi. Bagian kiri kurva presipitasi atau aglutinasi ini disebut *prozone* (Rittenhouse-Olson & Der Nardin, 2016).

KESIMPULAN

Hasil pemeriksaan status sekretor pada spesimen saliva diperoleh titer minimum 1/2 dan titer maksimum 1/256 dengan pengenceran anti-A yang digunakan 1/16. Hasil pemeriksaan status sekretor pada specimen urine diperoleh titer minimum 0 (non sekretor) dan titer maksimum 1/64 dengan pengenceran anti-A yang digunakan 1/64. Hasil penelitian dilakukan uji statistika Wilcoxon dan diperoleh nilai signifikan < 0,05 maka dapat disimpulkan terdapat perbedaan yang bermakna antara titer status sekretor pada spesimen saliva dan urine metode aglutinasi inhibisi.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada Prodi D3 Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Bandung yang telah memfasilitasi penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan pribadi maupun institusi dari penelitian ini.

REFRENSI

Amanda, R. L., Nurhayati, B., Marliana, N., & Durachim, A. (2023). Perbedaan Waktu Dan Suhu Inkubasi Terhadap Titer Sekretor Pada Bercak Saliva Puntung Rokok. *Jurnal Kesehatan Siliwangi*, *4*(1), 108–114. https://doi.org/10.34011/jks.v4i1.1459

Andika Aliviameita, O., & Puspitasari, Ms. (n.d.). Buku Ajar Mata Kuliah Imunohematologi Umsida Press Sidoarjo Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sidoarjo 2020.

Azizah, K. N., Nurhayati, B., Marliana, N., & Durachim, A. (2023). PENGARUH METODE PENGUMPULAN SALIVA SEBELUM DAN SETELAH MENYIKAT GIGI TERHADAP TITER STATUS SEKRETOR. Jurnal Kesehatan Siliwangi, 4(1), 251–259. https://doi.org/10.34011/jks.v4i1.1460

Baek, H. J., Kim, K. S., Kwoen, M. J., Park, E. S., Lee, H. J., & Park, K. U. (2025). *Saliva assay: a call for methodological standardization. Journal of Periodontal and Implant Science, 55*(1), 2–17. https://doi.org/10.5051/jpis.2304180209

Catur, R., & Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Bandung, J. (n.d.). PENGARUH SUHU DAN WAKTU PENYIMPANAN URINEE TERHADAP TITER STATUS SEKRETOR.

Kedokteran, F., Alqadri, U. A., Rofinda, Z. D., & Susanti, R. (2016). Gambaran Golongan Sekretor dan Nonsekretor yang Diperiksa Melalui Saliva Mahasiswa Pendidikan Dokter. In Jurnal Kesehatan Andalas (Vol. 5, Issue 1). http://jurnal.fk.unand.ac.id

Metgud R, Khajuria N, & Mamta GR. (2016). *Evaluation of the Secretor Status of ABO Blood Group Antigens in Saliva among Southern Rajasthan Population Using Absorption Inhibition Method. Journal of Clinical and Diagnostic Research* , ZC01–ZC03.

Pawlik, P., & Błochowiak, K. (2021). *The role of salivary biomarkers in the early diagnosis of Alzheimer's disease and Parkinson's disease. In Diagnostics (Vol. 11, Issue 2). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). https://doi.org/10.3390/diagnostics11020371*

Rittenhouse-Olson, K., & Der Nardin, E. (n.d.). Imunologi dan Serologi Klinis Modern.

Ruth, M. S. M. A., Purnadianti, M., & Marini, M. I. (2020*). Blood group analysis from cigarette butts by absorption inhibition method: An experimental study. Journal of International Oral Health, 12*(3), 275–279. https://doi.org/10.4103/JIOH.JIOH_219_19

Sandoval, M. N., McClellan, S. P., Pont, S. J., Ross, J. A., Swartz, M. D., Silberman, M. A., & Boerwinkle, E. (2024). *Prozone masks elevated SARS-CoV-2 antibody level measurements. PLoS ONE, 19*(3 March). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0301232

Septiyanti, R. W., Oktari, A., Tinggi, S., Bakti, A., & Bandung, A. (n.d.). PEMERIKSAAN STATUS SEKRETOR SISTEM GOLONGAN DARAH ABO DALAM KERINGAT DENGAN METODE AGLUTINASI INHIBISI.

Tejasvi, M. L. A., Bukkya, J. L., Rao, P. R., & Bhayya, H. (2021). *Evaluation of the Secretor Status of ABO Blood Group Antigens in Saliva using Absorption Inhibition Method. Global Medical Genetics, 08*(01), 019–023. https://doi.org/10.1055/s-0041-1723083

Utami Putri, T., Noviar, G., Hayati, E., & Nurhayati, B. (2023). Pengaruh Waktu Pengambilan Dan Lama Penyimpanan Saliva Pada Suhu Refrigerator Terhadap Titer Status Sekretor. Jurnal Kesehatan Siliwangi, *4*(1), 199–205. https://doi.org/10.34011/jks.v4i1.1461

GAMBARAN DAN KARAKTERISTIK BAKTERI *Neisseria gonorrhoeae* PENYEBAB PENYAKIT INFEKSI MENULAR SEKSUAL PADA PASIEN DI PUSKESMAS MLATI 1

Afina Rusyda Rahmani[1]* · Navira Yulianti[1] · Nazula Rahma Shafriani[1] · Diktia Sani Kisna Anita[2]

[1] D4 Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta, Indonesia
[2]Laboratorium Puskesmas Mlati 1

e-Mail: nazula.rahma@unisayogya.ac.id
No Tlp WA : 081931198476

Abstract

Sexually transmitted infections (STIs) are diseases that involve the transmission of pathogenic organisms between sexual partners through oral, anal, or vaginal intercourse. One of the most common STIs is gonorrhea, which is caused by the bacterium Neisseria gonorrhoeae. The symptoms are generally asymptomatic. Objective: This study aims to describe the characteristics of patients with sexually transmitted infections (STIs) caused by Neisseria gonorrhoeae based on age and sex at Mlati I Community Health Center during the period of January to June 2023. Methods: The research method used was descriptive with a cross-sectional approach. Results: Based on the research data, there were 14 (33%) positive gonorrhea cases out of 43 STI examinations conducted at Mlati I Community Health Center from January to June 2023. The details are as follows: 50% were male adolescents (12–25 years), 43% were adult males (26–45 years), and 7% were female adolescents (12–25 years). Conclusion: There were 14 (33%) positive gonorrhea cases among STI patients, with the highest incidence found in male adolescents (12–25 years), accounting for 50% of the cases.
***Keywords**: Neisseria gonorrhoeae, STI, Asymptomatic*

Abstrak

Infeksi menular seksual (IMS) adalah penyakit yang melibatkan penularan organisme patogen antara pasangan yang melakukan hubungan seksual, baik oral, anal maupun vagina. Salah satu penyakit IMS yang sering terjadi yaitu gonore. Penyakit ini disebabkan oleh bakteri *Neisseria gonorrhoeae*. Gejala yang ditimbulkan umumnya asimtomatik. **Tujuan**: Penelitian ini bertujuan membahas gambaran karakteristik penderita penyakit infeksi menular seksual (IMS) akibat bakteri *Neisseria gonorrhoeae* berdasarkan usia dan jenis kelamin di Puskesmas Mlati I periode bulan Januari s.d Juni 2023. **Metode**: Metode yang digunakan yaitu deskriptif dengan pendekatan secara *Cross Sectional*. **Hasil**: Berdasarkan data penelitian yang dilakukan diperoleh hasil Gonore positif sebanyak 14 (33%) kasus dari 43 pemeriksaan Infeksi Menular Seksual (IMS) gonore yang dilakukan di Puskesmas Mlati I periode bulan Januari s.d Juni 2023 dengan rincian (50%) pasien laki-laki remaja (12-25 tahun), (43%) pasien laki-laki dewasa (26-45 tahun) dan (7%) pasien Perempuan remaja (12-25 tahun). **Kesimpulan**: kasus Infeksi menular seksual (IMS) dengan gonore positif sebanyak 14 orang (33%) dengan jumlah paling banyak pada laki-laki usia remaja (12-25 tahun) sebanyak 50%.
Kata Kunci : *Neisseria gonorrhoeae, IMS, Asimtomik*

PENDAHULUAN

Infeksi menular seksual (IMS) merupakan penyakit yang disebabkan oleh penularan organisme patogen antar individu melalui hubungan seksual, baik secara oral, anal, maupun vaginal. Infeksi ini menyebabkan berbagai penyakit diantaranya radang panggul, kanker, infertilitas, meningkatkan risiko penularan HIV serta komplikasi pada kehamilan. Penularan penyakit Infeksi Menular Seksual dari ibu ke anak dapat mengakibatkan kematian neonatus, berat badan lahir rendah, kelahiran prematur, sepsis, konjungtivitis neonatus, dan kelainan bentuk bawaan (Agustini & Damayanti, 2023).

HIV juga dapat menyebar melalui kontak langsung dengan alat yang terkontaminasi virus atau bakteri penyebab IMS, transfusi darah, kontak dengan darah yang terinfeksi, serta dapat ditularkan dari ibu kepada bayi selama masa kehamilan, persalinan, maupun nifas IMS termasuk salah satu masalah kesehatan global yang paling serius dan menjadi ancaman besar bagi kesehatan manusia di seluruh dunia. Menurut laporan *World Health Organization* (WHO) tahun 2021, lebih dari 30 jenis pathogen yang meliputi bakteri, virus, dan parasit diketahui dapat ditularkan melalui hubungan seksual. Sebanyak delapan patogen merupakan penyebab utama infeksi IMS, yaitu empat diantaranya masih dapat disembuhkan, yaitu sifilis, trikomoniasis, klamidia, dan gonore.

Faktor utama yang berkontribusi terhadap peningkatan kasus gonore adalah perilaku seksual berisiko, seperti sering berganti pasangan dan tidak menggunakan kondom secara benar. Penyakit gonore disebabkan oleh bakteri *Neisseria gonorrhoeae*, yang dikenal sebagai bakteri kokus Gram-negatif yang tidak dapat bergerak, tidak membentuk spora, dan biasanya muncul berpasangan (Chand & Holton, 2017). Manusia merupakan satu-satunya inang alami bakteri ini, yang dapat menginfeksi pria dan perempuan pada saluran genital serta permukaan mukosa lain seperti orofaring dan rektum. *Neisseria gonorrhoeae* menginfeksi mukosa, bakteri ini berkembang biak dan menimbulkan reaksi peradangan yang menyebabkan munculnya tanda dan gejala IMS (Lovett & Duncan, 2019).

Infeksi gonore pada pria biasanya terjadi pada uretra. Penelitian (Martín-Sánchez et al., 2020) menyebutkan sebanyak 80,2% memiliki discharge uretra khas (nanah kuning/hijau), sebanyak13,8% memiliki gejala tidak khas (nyeri saat buang air kecil, rasa tidak nyaman, discharge ringan), serta 6,0% tanpa gejala

(asimtomatik). Gejala yang sering muncul meliputi rasa gatal, panas pada ujung uretra, nyeri saat buang air kecil (disuria), keluarnya cairan nanah dari ujung uretra, dan terkadang disertai (Adhata, 2022).

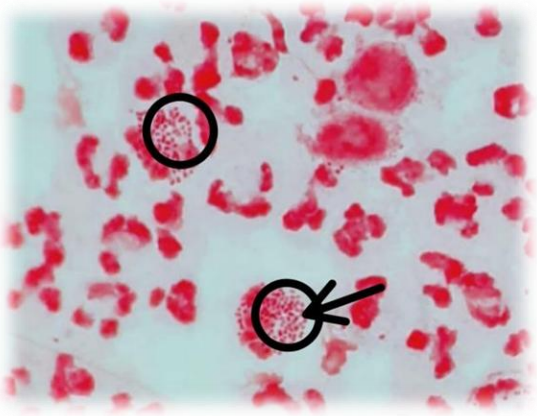
Infeksi gonore pada Perempuan bersifat asimtomatik dan bila tidak terdeteksi dapat naik ke traktus genital bagian atas menyebabkan PID (termasuk salpingitis, endometritis) dan komplikasi seperti infertilitas dan kehamilan ektopik (Xu & Gray-Owen, 2021).

BAHAN DAN METODE

Metode penelitian yang digunakan yaitu metode deskriptif dengan pendekatan *cross sectional*.Variabel independen pada penelitian ini yaitu *Neisseria gonorhoeae* sedangkan variabel dependennya adalah IMS. Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh pasien yang memiliki gejala IMS dan melalukan pemeriksaan sekret vagina maupun uretra dengan pengecatan gram di Puskesmas Mlati I. Teknik pengumpulan data yaitu menggunakan data sekunder berupa data pasien yang melakukan pemeriksaan IMS bulan Januari sampai Juni 2023. Pewarnaan Gram dilakukan secara langsung di laboratorium. Preparat diletakkan pada jembatan pengecatan, kemudian digenangi dengan kristal violet (Gram A) selama 1 menit. Preparat dicuci dengan air mengalir lalu digenangi dengan lugol *iodine* (Gram B) selama 1 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir dan dilunturkan dengan asam alkohol (Gram C) sampai luntur. Preparat dicuci dengan air mengalir lalu digenangi dengan safranin (Gram D) selama 30 detik. Terakhir, preparat dicuci dengan air dan dikeringkan, kemudian dilakukan pemeriksaan di bawah mikroskop dengan pembesaran lensa objektif 100x.

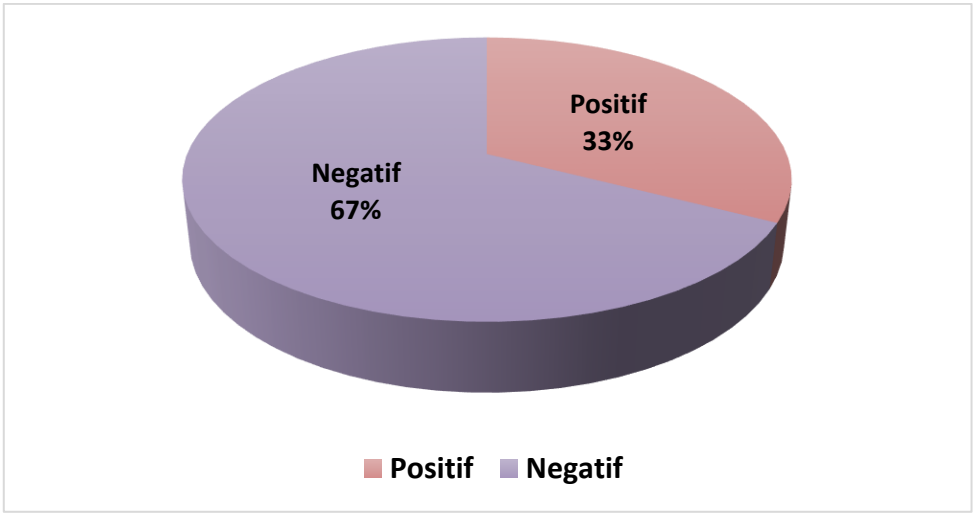
HASIL

Subjek pada penelitian ini berjumlah sebanyak 43 orang pasien yang melalukan pemeriksaan Infeksi Menular Seksual (IMS) di Puskesmas Mlati I.



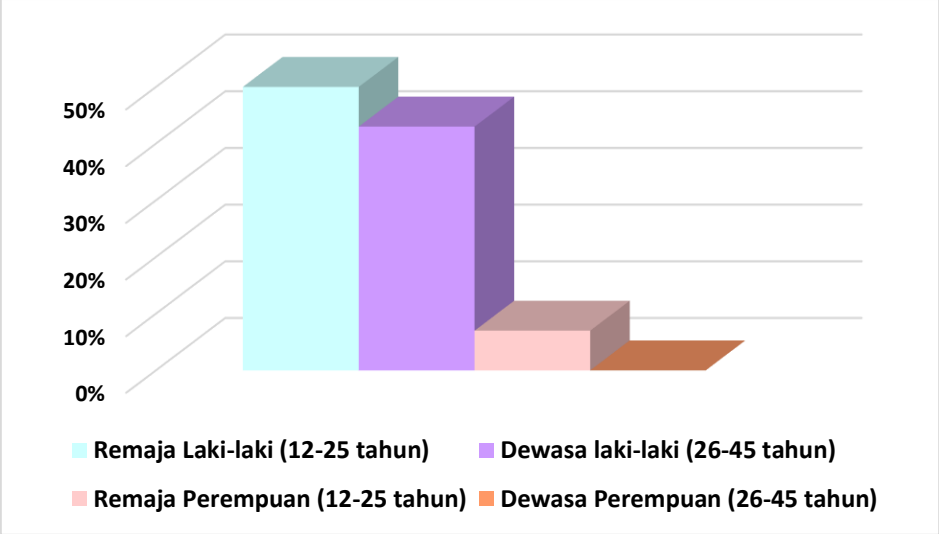
Gambar 1. Bakteri *Neisseria gonorrhoeae* Perbesaran 40x

Berdasarkan data penelitian diperoleh sebanyak 33% (14 kasus) gonore positif dan 67% (29 kasus) gonore negatif selama bulan Januari-Juni 2023 disajikan pada gambar berikut:



Gambar 2. Hasil Pemeriksaan IMS di Puskesmas Mlati 1 Bulan Januari-Juni 2023

Distribusi frekuensi penderita IMS berdasarkan kelompok usia dan jenis kelamin tercantum pada gambar 3 berikut:



Gambar 3. Distribusi Frekuensi Penderita IMS berdasarkan Kelompok Usia dan Jenis Kelamin

DISKUSI

Neisseria gonorrhoeae merupakan bakteri yang bersitaf tahan asam, diplokokus, berbentuk menyerupai biji kopi dengan diameter lebar 0,8 um serta panjang 1,6 um. Pada sediaan langsung dengan pewarnaan gram, bakteri *Neisseria gonorrhoeae* bersifat gram negatif, mempunyai pili pada permukaannya, tidak bergerak secara aktif, teridentifikasi di dalam ataupun di luar sel leukosit, tidak tahan lama di udara, dan tidah tahan panas dengan suhu diatas 39^{o}C (Adhata, 2022). Hasil pada pewarnaan gram dinyatakan positif jika ditemukan ≥ 1 diplokokus gram negatif berwarna merah dalam leukosit intraseluler dan ekstraseluler atau ≥5 per lapang pandang minyak emersi (Mulia Dewi Nur Haliza et al., 2024).

Berdasarkan gambar 2 diperoleh hasil positif sebanyak 14 (33%) orang pasien dan hasil negatif sebanyak 29 (67%) orang pasien. Maka dapat dikatakan bahwa gonore lebih banyak teridentifikasi pada laki-laki dibandingkan perempuan. Hal ini dapat terjadi karena infeksi gonore pada perempuan memiliki gejala yang ringan seperti keputihan atau bahkan hampir tidak bergejala (asimptomatik). Keputihan jarang menimbulkan kekhawatiran bagi perempuan yang mengalaminya karena gejalanya biasanya ringan dan seringkali disebabkan oleh fisiologis lain. Infeksi awal yang terjadi pada perempuan akan menyerang endoserviks dan dapat meluas kebagian uretra dan vagina. Gejala yang sangat kerap nampak merupakan meningkatnya sekret di vagina, disuria, perdarahan diantara fase menstruasi serta menorrhagia serta dapat menyebabkan radang

panggul (salpingitis). jika menyebar ke uterus dan saluran tuba, yang kemudian dapat menyebabkan komplikasi seperti salpingitis, fibrosis, dan obliterasi tuba. Pada perempuan, infeksi biasanya tidak menunjukkan gejala atau bersifat asimtomatik dan baru diketahui saat sudah terjadi komplikasi. Infeksi gonore pada laki-laki, biasanya akan menyebabkan peradangan pada uretra yang menimbulkan nanah berwarna kuning dan kental, disertai dengan rasa sakit ketika kencing, kadang disertai demam, kadang asimptomatik (Prasetyaningsih et al., 2022).

Gambar 3 menunjukkan bahwa ke 14 orang pasien yang positif memiliki karakteristik perbedaan umur yaitu pada kelompok usia remaja laki-laki (12-25 tahun) sebanyak (50%), kelompok usia dewasa laki-laki (26-45 tahun) sebanyak (43%), dan remaja perempuan (12-25 tahun) sebanyak (7%). Penelitian ini sejalan dengan penelitian (Sharma et al., 2024) menyebutkan bahwa sebanyak 7.308 sampel cairan genital dikumpulkan dari pengunjung klinik IMS, dan dari jumlah tersebut, 417 sampel dinyatakan positif gonore (25 di antaranya berasal dari remaja laki-laki yang berusia antara 15 hingga 19 tahun, dan tidak ada remaja perempuan yang terdeteksi positif.

KESIMPULAN

Morfologi bakteri Neisseria gonorrhoeae termasuk kelompok diplokokus, bakteri gram negatif, seperti biji kopi, dan dapat ditemukan di dalam atau di luar sel leukosit polimorfonuklear. Gonore positif sebanyak 14 (33%) kasus dari 43 pemeriksaan Infeksi Menular Seksual (IMS) gonore yang dilakukan di Puskesmas Mlati I periode bulan Januari s.d Juni 2023 dengan rincian (50%) pasien laki-laki remaja (12-25 tahun), (43%) pasien laki-laki dewasa (26-45 tahun) dan (7%) pasien Perempuan remaja (12-25 tahun).

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Puskesmas Mlati 1 atas izinnya untuk pemeriksaan dan pengambilan data hasil pemeriksaan gonore.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan

REFRENSI

Adhata, A. R. (2022). DIAGNOSIS DAN TATALAKSANA GONORE. *Jurnal Medika Hutama*, *3*(2), 1992–1996.

Agustini, Damayanti. (2023). Faktor Risiko Infeksi Menular Seksual: Literature Review. *Media Publikasi Promosi Kesehatan Indonesia (MPPKI)*, *6*(2), 207–213. https://doi.org/10.56338/mppki.v6i2.2909

Chand, M., & Holton, J. (2017). *Case studies in infection control*. Garland science.

Lovett, A., & Duncan, J. A. (2019). Human Immune Responses and the Natural History of Neisseria gonorrhoeae Infection. *Frontiers in Immunology*, *9*, 3187. https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.03187

Martín-Sánchez, M., Ong, J. J., Fairley, C. K., Chen, M. Y., Williamson, D. A., Maddaford, K., Aung, E. T., Carter, G., Bradshaw, C. S., & Chow, E. P. F. (2020). Clinical presentation of asymptomatic and symptomatic heterosexual men who tested positive for urethral gonorrhoea at a sexual health clinic in Melbourne, Australia. *BMC Infectious Diseases*, *20*(1), 486. https://doi.org/10.1186/s12879-020-05197-y

Mulia Dewi Nur Haliza, Nazula Rahma Shafriani, & Ratih Kusuma Dewi. (2024). Gambaran Karakteristik Penderita Gonore yang Melakukan Pemeriksaan Pewarnaan Gram di RS PKU Muhammadiyah Yogyakarta. *Vitamin : Jurnal ilmu Kesehatan Umum*, *2*(1), 273–282. https://doi.org/10.61132/vitamin.v2i1.63

Prasetyaningsih, Y., Nadifah, F., & Mualifah, M. (2022). *IMPLEMENTATION OF DYEING TECHNIQUES GRAMS FOR RAPID DETECTION OF Neisseria Gonorrhoeae INFECTION PATIENTS IN PUBLIC HEALTH CENTERS CANGKRINGAN, SLEMAN, DIY*.

Sharma, D., Muralidhar, S., Lachyan, A. S., & Khunger, N. (2024). Risk factors associated with increasing prevalence of gonorrhea and the antimicrobial susceptibility profiles of Neisseria gonorrhoeae among adolescents: A decade-long, hospital-based study from India. *Indian Journal of Sexually Transmitted Diseases and AIDS*, *45*(1), 15–18. https://doi.org/10.4103/ijstd.ijstd_74_23

Xu, S. X., & Gray-Owen, S. D. (2021). Gonococcal Pelvic Inflammatory Disease: Placing Mechanistic Insights Into the Context of Clinical and Epidemiological Observations. *The Journal of Infectious Diseases*, *224*(Supplement_2), S56–S63. https://doi.org/10.1093/infdis/jiab227

World Health Organization. (2021). Gonorrhoea (Neisseria gonorrhoeae infection).

https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/gonorrhoea-(neisseria-gonorrhoeae-infection)

PERBANDINGAN JUMLAH TROMBOSIT PADA SAMPEL DARAH VENA DAN KAPILER DENGAN MENGGUNAKAN *HEMATOLOGY ANALYZER MENDONIC M32 MPA*

Ganjar Noviar[1]* · Eem Hayati[1] · Betty Nurhayati[1]· Suprayogi[1]

[1] **Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Bandung, Jawa Barat, Indonesia**

e-Mail : ganjar.noviar@gmail.com
No Tlp WA : 085722964632

Abstract

Platelet count measurement can be performed using a manual method with a counting chamber or an automatic method using a hematology analyzer. In automated hematology examinations, the Medonic M32 type MPA (Micro Pipette Adapter) hematology analyzer is used. This device offers better precision and accuracy compared to the manual method. Additionally, the MPA feature allows for accurate hematology testing using capillary blood. This study aims to describe and compare platelet counts in venous and capillary blood samples using the Medonic M32 MPA hematology analyzer. A descriptive analytic method was employed, with a sample of 30 students from the Medical Laboratory Technology Department at the Poltekkes Kemenkes Bandung. The results showed that the mean platelet count in venous blood samples was 328,233 cells/µL (SD = 76,936), with the lowest count being 206,000 cells/µL and the highest 520,000 cells/µL. In capillary blood samples, the mean platelet count was 292,800 cells/µL (SD = 72,226), ranging from 175,000 cells/µL to 483,000 cells/µL. The paired t-test revealed a significant value of 0.000 < a (0.05), indicating a statistically significant difference in platelet counts between venous and capillary blood samples.
***Keywords** : Platelets, Medonic M32 MPA, Veins, Capillaries*

Abstrak

Penentuan jumlah trombosit dapat dilakukan melalui metode manual dengan bilik hitung maupun metode otomatis menggunakan hematology analyzer. Pada pemeriksaan hematologi berbasis otomatisasi, digunakan alat hematology analyzer Medonic M32 tipe MPA (Micro Pipette Adapter) yang memiliki keunggulan dalam hal presisi dan akurasi dibandingkan metode manual. Selain itu, fitur MPA memungkinkan pengukuran sampel darah kapiler secara akurat. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis gambaran serta membandingkan hasil jumlah trombosit pada sampel darah vena dan darah kapiler menggunakan hematology analyzer Medonic M32 MPA. Penelitian ini menggunakan pendekatan deskriptif analitik dengan sampel sebanyak 30 mahasiswa dari Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kemenkes Bandung. Hasil penelitian menunjukkan rata-rata jumlah trombosit pada darah vena sebesar 328.233 sel/µL (SD = 76.936), dengan nilai terendah 206.000 sel/µL dan tertinggi 520.000 sel/µL. Sedangkan pada darah kapiler, rata-rata trombosit adalah 292.800 sel/µL (SD = 72.226), dengan kisaran 175.000 sel/µL hingga 483.000 sel/µL. Uji Paired T-Test menghasilkan nilai signifikansi 0,000 (< 0,05), yang mengindikasikan terdapat perbedaan bermakna antara jumlah trombosit pada darah vena dan darah kapiler.
Kata Kunci : Trombosit, Medonic M32 MPA, Vena, Kapiler

PENDAHULUAN

Pemeriksaan jumlah trombosit merupakan bagian dari analisis hematologi rutin yang bertujuan menilai komponen darah, termasuk jumlah, variasi, dan parameter terkait lainnya. Uji ini berfungsi untuk menentukan konsentrasi trombosit dalam sampel darah pasien dan memiliki peran diagnostik penting dalam berbagai kondisi klinis. Penentuan jumlah trombosit dapat dilakukan dengan dua metode, yaitu metode manual menggunakan bilik hitung dan metode otomatis menggunakan alat hematology analyzer. (Briggs & Bain, 2017a). Metode otomatisasi dalam pemeriksaan hematologi dapat dilakukan menggunakan *hematology analyzer* Medonic M32 tipe MPA (*Micro Pipette Adapter*). Alat ini memiliki tingkat presisi dan akurasi yang lebih tinggi dibandingkan metode manual. Fitur MPA memungkinkan pemeriksaan hematologi menggunakan darah kapiler secara akurat. Penggunaan *hematology analyzer* semakin diandalkan karena dilengkapi bahan kontrol, memiliki waktu analisis yang cepat, serta hasil pemeriksaan dapat dicetak secara otomatis (Estridge, 2012).

Sampel untuk pemeriksaan darah rutin dapat berasal dari darah kapiler maupun darah vena. Darah kapiler umumnya digunakan dengan volume maksimal 500 µL untuk analisis berbagai parameter hematologi (Bain, 2017). Sementara itu, darah vena digunakan apabila diperlukan volume lebih besar dan biasanya dikumpulkan dalam tabung berantikoagulan guna mencegah pembekuan darah. Antikoagulan yang umum digunakan dalam pemeriksaan ini adalah *ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA) (Sari *et al, 2012)*. Dalam pemeriksaan hematologi menggunakan *hematology analyzer* Medonic M32 MPA, umumnya digunakan sampel darah vena dengan antikoagulan EDTA. Namun, darah kapiler yang ditampung dengan antikoagulan K_2EDTA juga dapat digunakan sebagai alternatif sampel. Berdasarkan hasil analisis, tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara penggunaan darah vena dan darah kapiler pada alat tersebut (Suryatama et al., 2023).

Pemeriksaan parameter hematologi rutin, seperti jumlah trombosit dan leukosit, sebaiknya tidak menggunakan darah kapiler karena perbedaan hasil yang cukup signifikan dibandingkan darah vena. Umumnya, jumlah leukosit pada darah kapiler cenderung lebih tinggi, sedangkan jumlah trombosit lebih rendah

dibandingkan dengan darah vena. Temuan ini sejalan dengan beberapa penelitian yang melaporkan bahwa pemeriksaan jumlah trombosit menggunakan darah vena menghasilkan nilai yang lebih akurat dan konsisten (Briggs & Bain, 2017b).

Berdasarkan riset terdahulu oleh Astuti et al. (2021) didapatkan hasil bahwa tidak terdapat perbedaan antara penggunaan darah vena dan darah kapiler pada parameter hemoglobin, hematokrit, jumlah eritrosit, serta jumlah leukosit. Namun, pada parameter jumlah trombosit ditemukan perbedaan yang signifikan antara kedua jenis sampel. Oleh karena itu, darah kapiler tidak direkomendasikan untuk pemeriksaan jumlah trombosit karena berisiko terkontaminasi cairan jaringan yang dapat mengencerkan sampel. Sebaliknya, darah vena memiliki risiko kontaminasi yang lebih rendah karena diambil dari pembuluh yang tidak berhubungan langsung dengan jaringan epidermis. Berdasarkan evaluasi kinerja hematology analyzer Medonic M32 dengan metode Micro Pipette Adapter (MPA), penggunaan mikropipet plastik berdiameter kecil memungkinkan pengambilan atau pemindahan volume darah yang minimal secara presisi. Pemeriksaan dengan volume darah sebesar 20 µL menunjukkan bahwa parameter hematologi rutin, termasuk jumlah trombosit, tidak mengalami perbedaan yang signifikan antara sampel darah kapiler yang dianalisis menggunakan metode MPA dan sampel darah vena yang diperiksa dengan metode open tube (Medonic, 2016). penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan jumlah trombosit antara sampel darah vena dan darah kapiler dengan menggunakan Hematology Analyzer Medonic M32 MPA.

BAHAN DAN METODE

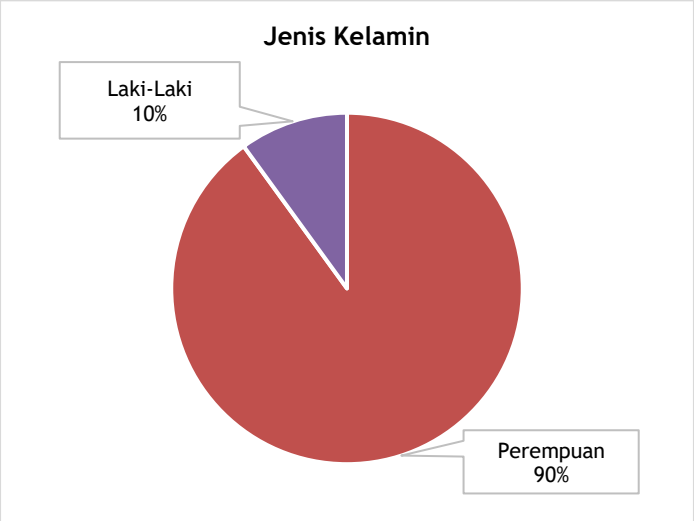
Penelitian ini menggunakan metode deskriptif analitik dengan membandingkan hasil penghitungan jumlah trombosit pada sampel darah vena dan kapiler menggunakan hematology analyzer Medonic M32 MPA. Data primer diperoleh dari pemeriksaan trombosit pada 30 sampel darah vena dan kapiler, yang jumlahnya ditentukan berdasarkan perhitungan menggunakan rumus Slovin. Prosedur penelitian ini meliputi pengambilan sampel darah vena, pengampilan darah kapiler, dan pemeriksaan menggunakan *Hematology Analyzer* yang dilakukan sesuai pedoman CLSI H04-A6 tahun 2017. Data selanjutnya diolah menggunakan SPSS dengan uji Paired T Test untuk penarikan kesimpulan.

Penelitian ini dilaksanakan dengan berpedoman pada prinsip-prinsip etika penelitian, yang meliputi: penghormatan terhadap martabat manusia (respect for persons), dengan memberikan kebebasan kepada setiap individu untuk mengambil keputusan secara otonom dan bertanggung jawab; prinsip berbuat baik (beneficence), dengan mengutamakan manfaat penelitian serta meminimalkan potensi risiko; dan prinsip keadilan (justice), dengan menjamin perlakuan yang adil dan setara bagi seluruh partisipan sesuai dengan norma moral dan hak yang berlaku.

HASIL

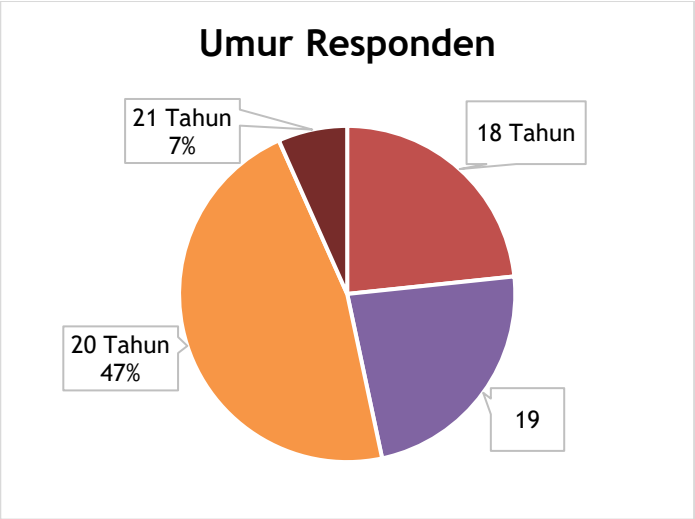
A. Karakteristik Responden

Data karakteristik responden dari populasi dan sampel pada penelitian ini didapatkan 10 responden dengan distribusi frekuensi sebagai berikut :



Gambar 1. Jenis Kelamin Responden Penelitian

Berdasarkan distribusi jenis kelamin responden penelitian didapat 27 dari dari 30 responden adalah perempuan (90%) dan 3 diantaranya adalah laki-laki (10%). Hal tersebut mengindikasikan bahwa responden perempuan lebih dominan jumlahnya dibandingkan responden laki-laki.

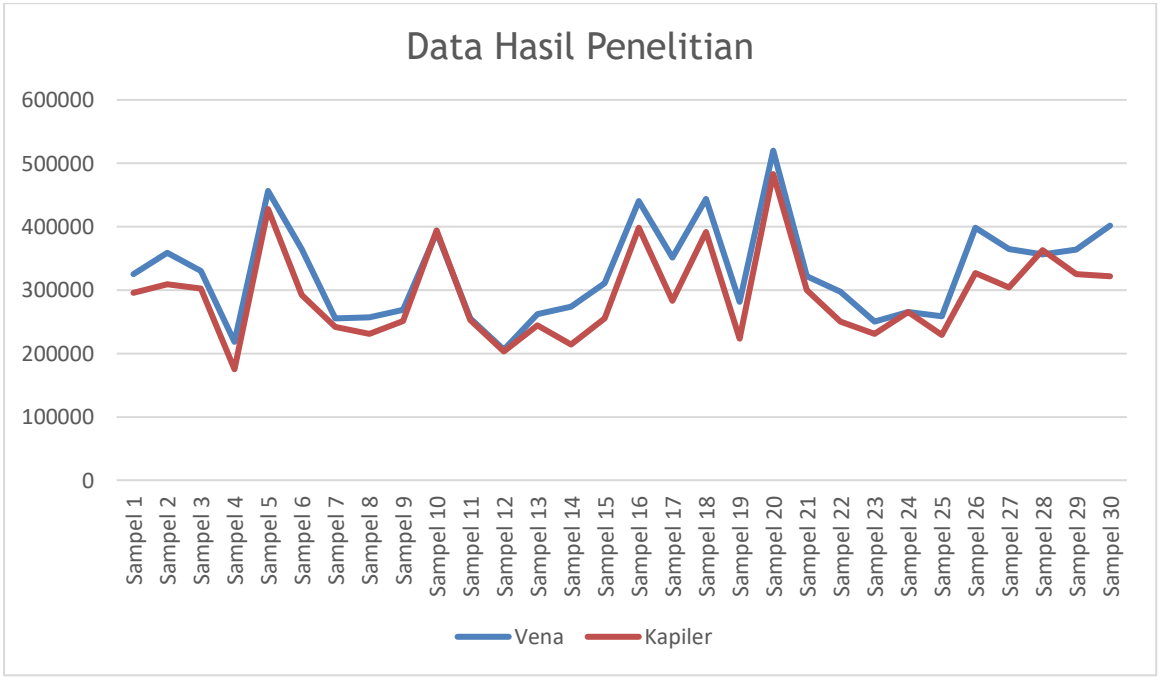


Gambar 2. Umur Responden Penelitian

Berdasarkkan distribusi umur responden penelitian didapat 14 dari 30 responden adalah 20 tahun (47%), 7 reponden 18 tahun (23%), 7 responden 19 tahun (23%) dan 2 responden 21 tahun (7%). Hal ini umur yang banyak menjadi reponden dalam penelitian ini adalah umur 20 tahun.

B. Analisis Hasil

Penelitian ini dilakukan dengan membandingkan hasil hitung trombosit dari darah vena dan darah kapiler menggunakan Hematology Analyzer Medonic M32 MPA, didapatkan hasil berikut :



Gambar 3. Data Hasil Penelitian

Menurut hasil data penelitian menunjukkan rata-rata jumlah trombosit pada darah vena sebesar 328.233 sel/uL dan pada darah kapiler sebesar 292.800 sel/uL. Terdapat kecenderungan jumlah trombosit darah kapiler lebih rendah dibanding dengan darah vena.

Tabel 1. Hasil Uji Deskriptif

	Mean	**Standar Deviasi**	**Nilai Minimum**	**Nilai Maximum**
Vena	328.233	76.936	206.000	520.000
Kapiler	292.800	72.226	175.000	483.000

Pada sampel darah vena, jumlah trombosit rata-rata yang terukur adalah 328.233 sel/µL dengan standar deviasi sebesar 76.936, dengan nilai terkecil sebesar 206.000 sel/µL dan nilai terbesar mencapai 520.000 sel/µL. Sebaliknya, pada sampel darah kapiler, jumlah trombosit rata-rata tercatat sebesar 292.800 sel/µL dengan standar deviasi 72.226, dengan rentang nilai terendah 175.000 sel/µL hingga tertinggi 483.000 sel/µL. Secara komparatif, jumlah trombosit pada darah kapiler cenderung lebih rendah dibandingkan dengan jumlah trombosit yang terdapat pada darah vena..

Tabel 2. Hasil Uji Normalitas

	Jenis Darah	Statistik	df	Sig.
Jumlah Trombosit (sel/uL)	**Vena**	0.954	30	0.217
	Kapiler	**0,942**	**30**	**0,105**

Uji normalitas data dalam penelitian ini dilakukan menggunakan uji Shapiro-Wilk, mengingat jumlah sampel yang digunakan kurang dari 50. Hasil uji menunjukkan nilai signifikansi untuk jumlah trombosit pada darah vena sebesar 0,217, yang lebih besar dari level signifikansi α 0,05, sehingga data jumlah trombosit darah vena dapat dianggap berdistribusi normal. Demikian pula, nilai signifikansi untuk jumlah trombosit pada darah kapiler sebesar 0,105, yang juga lebih besar dari α 0,05, sehingga data jumlah trombosit darah kapiler juga memenuhi asumsi distribusi normal.

Tabel 3. Hasil Uji *Paired Sampels Test*

	Mean	**Std Deviasi**	**Std Error Mean**	**Sig (2-Tailed)**	**Kesimpulan**
Jumlah Trombosit (sel/uL)	309,017	76,230	9,841	0,000	Sig<0,05 (Terdapat Perbedaan)

Berdasarkan hasil uji Paired Samples Test, diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,000 yang lebih kecil dari taraf signifikansi 0,05, sehingga dapat disimpulkan terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik antara jumlah trombosit pada sampel darah vena dan darah kapiler.

Karena terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik pada uji Paired T-Test, selanjutnya dilakukan uji bias untuk mengukur besarnya perbedaan hasil pemeriksaan yang dapat memengaruhi kesimpulan, yaitu batas kesalahan maksimum yang dapat diterima sehingga perbedaan tersebut masih dianggap signifikan secara klinis pada parameter yang diuji. Batas bias yang ditetapkan untuk pemeriksaan jumlah trombosit adalah sebesar 5,9%. (Westgard, 2014). Selanjutnya untuk melihat perbedaan secara klinis nilai trombosit pada darah kapiler dapat dilakukan perhitungan % bias. Adapun interpretasi hasilnya adalah sebagai berikut:

1. Jika nilai % bias darah kapiler > nilai % bias yang diinginkan, maka terdapat perbedaan secara klinis.
2. Jika nilai % bias darah kapiler < nilai % bias yang diinginkan, maka tidak terdapat perbedaan secara klinis.

   Adapun rumus perhitungan % bias jumlah leukosit pada darah kapiler adalah sebagai berikut:

$$\% \text{ Bias} = \frac{\textit{Rerata trombosit darah kapiler} - \textit{Rerata trombosit darah vena}}{\textit{Rerata trombosit darah vena}} \text{ x } 100\%$$

$$= \frac{292800 - 328233}{328233} \text{ x } 100\%$$

$$= 10{,}80\%$$

Gambar 4. Perhitungan Bias penelitian

Berdasarkan perhitungan menggunakan rumus %Bias, ditemukan nilai bias sebesar -10,80% pada pemeriksaan jumlah trombosit dalam sampel darah kapiler. Nilai %Bias tersebut lebih besar dibandingkan dengan batas bias yang diterima sebesar 5,9% (10,80% > 5,9%), sehingga menunjukkan adanya perbedaan klinis yang signifikan atau kesalahan yang tidak dapat diterima pada penggunaan sampel darah kapiler untuk pengukuran jumlah trombosit.

DISKUSI

Hasil analisis deskriptif menunjukkan bahwa rata-rata jumlah trombosit pada sampel darah vena adalah 328.233 sel/µL, sedangkan pada sampel darah kapiler sebesar 292.800 sel/µL, yang mengindikasikan adanya perbedaan nilai antara kedua jenis sampel tersebut. Uji Paired T-test memberikan nilai signifikansi sebesar 0,000 (< 0,05), yang menandakan adanya perbedaan signifikan secara statistik antara jumlah trombosit pada darah vena dan kapiler. Selain itu, hasil uji bias sebesar 10,80% (> 5,9%) memperkuat kesimpulan bahwa penggunaan darah kapiler dalam pemeriksaan trombosit menyebabkan perbedaan klinis yang melampaui batas kesalahan yang dapat diterima. Perbedaan ini disebabkan oleh risiko kontaminasi cairan jaringan pada darah kapiler yang dapat mengencerkan sampel, sedangkan darah vena memiliki risiko kontaminasi yang lebih rendah karena letaknya tidak berhubungan langsung dengan jaringan epidermis (Astuti et al., 2021)(Sari, 2022).

Temuan tersebut sejalan dengan penelitian (Arni, 2019), yang melaporkan bahwa jumlah trombosit pada darah vena berkisar antara 80.000 hingga 366.000 sel/µL dengan rata-rata 210.000 sel/µL, sedangkan pada darah kapiler berkisar antara 76.000 hingga 364.000 sel/µL dengan rata-rata 201.812 sel/µL, dimana perbedaan tersebut bersifat signifikan secara statistik (p = 0,004). Penelitian Astuti dan Maharani (2021) menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan antara darah vena dan darah kapiler pada parameter hemoglobin, hematokrit, eritrosit, dan leukosit, namun ditemukan perbedaan bermakna pada jumlah trombosit, sehingga penggunaan darah kapiler tidak dianjurkan untuk pemeriksaan parameter trombosit tersebut..

Secara umum, pemeriksaan hematologi kini dilakukan dengan alat otomatis (hematology analyzer) yang memberikan hasil cepat dan efisien. Namun, hasil pemeriksaan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor teknis, di antaranya:

1. Kesalahan pengambilan sampel, seperti jenis, volume, atau penggunaan antikoagulan yang tidak sesuai.
2. Penyimpanan yang tidak tepat atau penundaan pemeriksaan yang terlalu lama sehingga mengubah morfologi sel darah.

3. Kurangnya homogenisasi sampel, terutama bila tidak menggunakan alat pengocok otomatis.
4. Kalibrasi dan kontrol kualitas yang tidak tepat, termasuk penggunaan darah kontrol kedaluwarsa atau kalibrasi yang jarang dilakukan.
5. Kesalahan pada proses pengambilan sampel alat (*sampling error*), seperti volume darah tidak mencukupi atau jarum sampling tidak terendam sempurna.
6. Kerusakan alat atau reagen, misalnya akibat suhu yang tidak sesuai atau reagen yang terkontaminasi (McNamara, 2017).
7. Kelainan khusus pada sampel yang memerlukan verifikasi dan pemantapan mutu laboratorium secara berkala.
8. Faktor operator, seperti ketidaktepatan saat mengocok atau menghisap sampel, yang dapat menyebabkan hasil trombosit lebih rendah dari nilai sebenarnya (De la Salle & Perry, 2017).

Oleh karena itu, pemeriksaan jumlah trombosit memerlukan prosedur pengambilan dan pengolahan sampel yang tepat, kalibrasi alat yang teratur, serta pengawasan mutu internal dan eksternal untuk memastikan akurasi dan keandalan hasil laboratorium.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian berjudul “Perbandingan Hasil Jumlah Trombosit pada Sampel Darah Vena dan Kapiler dengan Menggunakan Hematology Analyzer Medonic M32 MPA”, diperoleh kesimpulan bahwa rata-rata jumlah trombosit pada sampel darah vena adalah 328.233 sel/µL dengan rentang 206.000–520.000 sel/µL (SD = 76.936), sedangkan pada darah kapiler diperoleh rata-rata 292.800 sel/µL dengan rentang 175.000–483.000 sel/µL (SD = 72.226). Hasil uji *Paired T-Test* menunjukkan nilai signifikansi 0,000 (< 0,05), yang menandakan terdapat perbedaan bermakna secara statistik antara jumlah trombosit darah vena dan darah kapiler. Dari penelitian ini disarankan tidak mengggunakan spesimen darah kapiler sebagai pemeriksaan trombosit karena %Bias trombosit pada darah kapiler >5,9% dan terdapat perbadaan secara klinis atau kesalahan tidak dapat diterima.

UCAPAN TERIMAKASIH

Puji dan Syukur kehadirat Allah SWT, Keluarga dan pihak-pihak yang sudah membantu melancarkan penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan yang terkait dengan penelitian ini.

REFRENSI

Arni, D. S. (2019). *Perbedaan Jumlah Trombosit Sampel Darah Vena Dan Kapiler Menggunakan Micro Pipette Hematologi Analyzer*. Universitas Muhamadiyah Semarang.

Astuti, D., Maharani, E. A., & Susadma, H. (2021). Platelet Morphological Assessment Based on Shelf-Life of Concentrated Platelet Components. *Biomedika*, *14*(2), 69–76. https://doi.org/10.31001/biomedika.v14i2.1077

Bain, B. J. (2017). Preparation and Staining Methods for Blood and Bone Marrow Films. In *Dacie and Lewis Practical Haematology* (pp. 50–60). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-6696-2.00004-7

Briggs, C., & Bain, B. J. (2017a). Basic Haematological Techniques. In *Dacie and Lewis Practical Haematology* (pp. 18–49). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-6696-2.00003-5

Briggs, C., & Bain, B. J. (2017b). Basic Haematological Techniques. In *Dacie and Lewis Practical Haematology* (pp. 18–49). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-6696-2.00003-5

De la Salle, B., & Perry, D. J. (2017). Quality Assurance. In *Dacie and Lewis Practical Haematology* (pp. 533–545). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-6696-2.00025-4

Estridge, H. & R. A. (2012). *Basic Clinical Laboratory Technique* (H. Estridege & A. Reynold, Eds.; 6th ed.).

Suryatama, Rosnita Sebayang, & Hutabarat, M. (2023). Perbandingan Kadar Trombosit Pada Darah Vena Dan Kapiler Menggunakan Antikoagulan K3edta. *Jurnal Ilmu Kesehatan Dan Gizi*, *1*(1), 121–128. https://doi.org/10.55606/jikg.v1i1.853

McNamara, C. (2017). Collection and Handling of Blood. In *Dacie and Lewis Practical Haematology* (pp. 1–7). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-6696-2.00001-1

Medonic. (2016). *Boule Diagnostics AB Annual Report*.

Sari. (2022). *Petunjuk Praktikum Hematologi Dasar* (1st ed.).

Westgard. (2014). *Desirable Biological Variation Database Specifications*.

EFEKTIVITAS KITOSAN SEBAGAI PENGAWET ALAMI DALAM MENJAGA STABILITAS URINE POSITIF METAMFETAMIN

Desi Komalasari[1] · Ary Nurmalasari[1] · Doni Setiawan[1*]

[1] D3 Teknologi Laboratorium Medis, STIKes Muhammadiyah Ciamis, Jawa Barat, Indonesia

*e-Mail: donisetiawan@stikesmucis.ac.id
No Tlp WA : 082218714206

Abstract

Methamphetamine is a type of psychotropic drug classified as a Class II narcotic that is often abused and can be detected through urine testing. The stability of urine samples is very important for forensic toxicology purposes. Chitosan is a compound derived from the deacetylation of chitin, a substance commonly found in the shells of crustaceans, such as shrimp. Chitosan has high potential as an antimicrobial agent, so it can be used as a safe and environmentally friendly natural preservative. This study aimed to determine the stability of methamphetamine-positive urine with chitosan preservatives at concentrations of 1% and 2%, stored at room temperature (24-26oC) and 2-8oC for 4 weeks. The research method used was a true experimental design using a population of 50 mL of methamphetamine-positive urine. The results showed that without the addition of preservatives, the urine was only stable until the third week, while with the addition of 1% or 2% chitosan, the urine remained positive until the fourth week at room temperature (24-26˚C) and 2-8˚C. Based on these results, it can be concluded that chitosan can be used as a natural preservative to maintain the stability of methamphetamine-positive urine and has the potential to be used in forensic toxicology laboratories.

***Keywords** : Drugs, Storage Temperature, Rapid Test*

Abstrak

Metamfetamin merupakan salah satu NAPZA jenis psikotropika golongan 2 yang sering disalahgunakan dan dapat terdeteksi melalui pemeriksaan urine. Stabilitas sampel urine sangat penting untuk keperluan toksikologi forensik. Kitosan merupakan senyawa yang berasal dari proses deasetilasi kitin, yaitu zat yang banyak ditemukan di kulit Crustacea, seperti udang. Kitosan memiliki potensi tinggi sebagai bahan antimikroba, sehingga dapat digunakan menjadi bahan pengawet alami yang aman dan ramah lingkungan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui stabilitas urine positif metamfetamin dengan pengawet kitosan pada konsentrasi 1% dan 2%, disimpan pada suhu ruang (24-26ºC) dan suhu 2-8ºC selama 4 minggu. Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimen murni (true experimental design) menggunakan populasi urine positif metamfetamin sebanyak 50 mL. Hasil penelitian menunjukan bahwa tanpa penambahan pengawet, urine hanya stabil hingga minggu ketiga, sementara dengan penambahan kitosan 1% maupun 2%, urine tetap menunjukkan hasil positif hingga minggu keempat pada suhu ruang (24-26ºC) dan suhu 2-8ºC. Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa kitosan dapat digunakan sebagai pengawet alami dalam menjaga stabilitas urine positif metamfetamin, dan berpotensi digunakan dalam laboratorium toksikologi forensik.

Kata Kunci : Napza, Suhu Penyimpanan, Rapid Test

PENDAHULUAN

NAPZA merupakan singkatan dari Narkotika, Psikotropika, dan Zat Adiktif lainnya yang jika masuk ke dalam tubuh manusia akan berdampak pada tubuh terutama otak atau sistem saraf pusat sehingga menimbulkan gangguan fisik, mental, dan menimbulkan gangguan kesehatan jasmani dan sosial. Dalam bidang kedokteran, sebagian besar NAPZA digunakan sesuai dengan indikasi medis dan standar pengobatan (Novitasari & Dara, 2021).

Menurut *World Drug Report 2024*, jumlah pengguna narkoba di seluruh dunia mencapai 228 juta orang. Jenis narkoba yang paling banyak digunakan adalah opioid (60 juta pengguna), amfetamin (30 juta), dan kokain (23 juta). Sementara itu, data Indonesia *Drugs Report* 2022 mencatat bahwa jenis narkoba yang paling umum digunakan di Indonesia adalah ganja (41,4%), sabu (25,7%), nipam (11,8%), dan dextro (6,4%) (Badan Narkotika Nasional RI, 2022). Kasus narkotika di tingkat nasional pada tahun 2023 mencapai 2.464 kasus, meningkat menjadi 3.873 kasus pada Januari 2024, mengalami kenaikan sebesar 57%. Di Provinsi Jawa Barat, kasus narkoba juga meningkat dari 178 kasus pada Desember 2023 menjadi 216 kasus pada Januari 2024, atau meningkat sebesar 21%. Prevalensi penyalahgunaan narkotika di Indonesia pada 2023 tercatat sebesar 1,73%. Berdasarkan data BNN Ciamis periode Januari hingga November 2024, jenis narkoba yang paling sering digunakan adalah sabu dengan 17 pengguna dan ganja sebanyak 4 pengguna (Badan Narkotika Nasional RI, 2024).

Metamfetamin atau sabu-sabu merupakan turunan dari amfetamin yang digunakan secara medis untuk mengatasi hiperaktivitas dengan cara meningkatkan dopamin dalam otak (Hudaya et al., 2022). Deteksi zat ini dilakukan melalui pemeriksaan NAPZA menggunakan sampel seperti urine, darah, keringat, saliva, dan rambut. Metode ICT umumnya menggunakan urine karena mudah diperoleh dan memiliki kadar senyawa obat yang tinggi (Elyyana et al., 2023). Metamfetamin bisa terdeteksi dalam urine selama 1–3 hari. Urine positif NAPZA sering disimpan untuk keperluan forensik dalam proses hukum namun, salah satu

kendala dalam pemeriksaan forensik adalah kestabilan zat aktif di dalam urine yang dapat menurun seiring waktu penyimpanan. Oleh karena itu, penambahan bahan pengawet menjadi penting untuk mempertahankan integritas sampel (Parwati et al., 2022).

Pada umumnya, pengawetan urine menggunakan bahan kimia sintetis seperti toluena, thymol, formalin, asam sulfat pekat, dan natrium karbonat (Sari et al., 2023). Namun, penggunaan bahan-bahan ini dapat menimbulkan risiko kesehatan dan pencemaran lingkungan. Untuk itu, diperlukan alternatif pengawet yang aman, ramah lingkungan, dan efektif. Salah satu bahan alami yang potensial adalah kitosan, yaitu turunan dari kitin yang terdapat pada limbah kulit udang dan hewan Crustacea lainnya. Limbah kulit udang mengandung protein, kalsium karbonat, dan kitin dalam proporsi yang cukup tinggi. Melalui proses demineralisasi, deproteinasi, dan deasetilasi, kitin dapat diubah menjadi kitosan (Setiati et al., 2021). Kitosan dikenal memiliki sifat antimikroba, detoksifikasi, dan kemampuan mengikat ion negatif, sehingga dapat digunakan sebagai bahan pengawet alami (Suherman et al., 2018).

Berdasarkan penelitian sebelumnya oleh (Widyastuti, 2023), kitin dan kitosan pada dasarnya adalah bahan yang sama, yang membedakan hanya tingkat derajat deasetilasinya. Jika derajat asetilasi mencapai 70%, maka disebut kitin. Rendemen kitosan yang diperoleh dari kulit udang jerbung dan udang windu masing-masing sekitar 14,87% dan 13,71%, dengan derajat deasetilasi sebesar 72,63% dan 75,44%. Penelitian lain menunjukkan bahwa kitosan dari kulit udang Vannemei efektif sebagai antibakteri terhadap beberapa jenis bakteri seperti *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Propionibacterium acnes*, dan *Escherichia coli*, dengan konsentrasi efektif sebesar 7% (Suherman et al., 2018).

Menurut Killay A. (2013), kitosan dengan konsentrasi 0,5% dan 1% dapat menghambat pertumbuhan bakteri pada ikan asin yang dikeringkan. Selain itu, kitosan juga sudah diuji sebagai pengawet pada susu kedelai. Penambahan kitosan 1% dan 1,5% pada susu kedelai mampu memperpanjang umur simpan susu selama

14 hari pada suhu ruang. Kitosan juga digunakan sebagai lapisan *edible coating* pada buah jeruk rimau gerga lebong, dan konsentrasi 2% paling efektif menjaga mutu fisik dan kimia buah selama 20 hari (Sidik et al., 2022).

Penelitian lain mengenai stabilitas amfetamin dan metamfetamin dalam urine dan darah selama 21 minggu menunjukkan bahwa obat tersebut stabil jika disimpan pada suhu –20°C. Namun, pada suhu 4°C dan 20°C, sampel darah mengalami degradasi setelah beberapa minggu penyimpanan (Manela, 2015). Penelitian oleh Kei Zaitsu dkk. (2008) menyatakan bahwa penurunan kadar metamfetamin dapat dicegah dengan penambahan pengawet seperti NaN_3 dan penyimpanan pada suhu 25°C. Penelitian lain juga menunjukkan bahwa urine tanpa pengawet yang disimpan pada suhu 4°C tidak mengalami penurunan kadar metamfetamin yang signifikan (Mahmudi et al., 2023).

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (Yaman, 2022) dalam penelitiannya yaitu dilakukan penambahan bahan pengawet NaF dengan kadar 1% pada urine yang menunjukkan hasil positif metamfetamin selama dua minggu menunjukkan bahwa pada suhu 4^{o}C dapat mempertahankan stabilitas sampel urine lebih efektif dibandingkan disimpan pada suhu 25^{o}C tanpa pengawet atau saat menggunakan pengawet NaF 1 % pada suhu ruang 25^{o}C. Berdasarkan latar belakang penulis bermaksud untuk melakukan penelitian stabilitas urine positif metamfetamin dengan pengawet kitosan 1% dan 2% pada suhu ruang 24-26^{o}C dan suhu 2-8^{o}C selama 4 minggu dan dilakukan pengujian setiap minggunya untuk mengetahui stabilitas urine positif metamfetamin dengan pengawet kitosan.

Kitosan telah banyak diteliti sebagai bahan antimikroba dan pengawet alami, namun penelitian mengenai penggunaannya untuk menjaga stabilitas metamfetamin dalam urine masih terbatas. Kekurangan penelitian terletak pada minimnya data mengenai efektivitas kitosan dalam mempertahankan konsentrasi obat, parameter formulasi yang optimal, serta pengaruhnya terhadap metode analisis toksikologi. Penelitian ini diharapkan mampu menunjukkan bahwa kitosan efektif sebagai pengawet alami yang aman dan ramah lingkungan untuk

mempertahankan stabilitas metamfetamin, sehingga dapat menjadi alternatif pengawet pada penyimpanan sampel urine dalam konteks pemeriksaan narkotika.

BAHAN DAN METODE

Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimen murni *(true experimental design*) menggambarkan hasil uji urine positif metamfetamin dengan penambahan kitosan 1% dan 2% sebagai alternatif pemeriksaan metamfetamin berdasarkan lama dan suhu penyimpanannya. Populasi dalam penelitian ini adalah urine positif metamfetamin yang dikumpulkan sebanyak 50 mL. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif kualitatif dengan membandingkan hasil pemeriksaan rapid test metamfetamin dari minggu pertama hingga minggu keempat.

Pembuatan kitosan dari kulit udang vaname dilakukan melalui tiga tahap utama, yaitu demineralisasi, deproteinasi, dan deasetilasi. Proses dimulai dengan membersihkan kulit udang, kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 105 °C selama 6 jam. Setelah kering, kulit udang dihaluskan menjadi serbuk. Tahap demineralisasi dilakukan dengan merendam serbuk kulit udang dalam larutan HCI 1 N dengan rasio 1:10, kemudian dipanaskan pada suhu 80 °C selama 1 jam sambil diaduk. Selanjutnya, tahap deproteinasi dilakukan dengan merendam hasil demineralisasi ke dalam larutan NaOH 6%, lalu dilanjutkan dengan NaOH 50% dengan rasio 1:10, dan dipanaskan pada suhu 100°C selama 2 jam sambil diaduk. Setelah itu, proses deasetilasi, yaitu tahap mengubah kitin menjadi kitosan, dilakukan dengan merendam hasil deproteinasi ke dalam asam asetat dengan rasio 1:10, lalu dipanaskan pada suhu 110 °C selama 2 jam sambil diaduk. Setelah proses ini selesai, rendaman didinginkan selama 30 menit, kemudian disaring, dan padatan yang tertinggal dicuci menggunakan akuades hingga mencapai pH netral. Terakhir, hasil akhir dikeringkan kembali dalam oven pada suhu 80 selama 12 jam, kemudian ditimbang (Achmad et al., 2023).

Analisis dilakukan dengan mengamati perubahan reaktivitas (positif atau negatif) pada masing-masing perlakuan (tanpa pengawet, kitosan 1%, dan kitosan

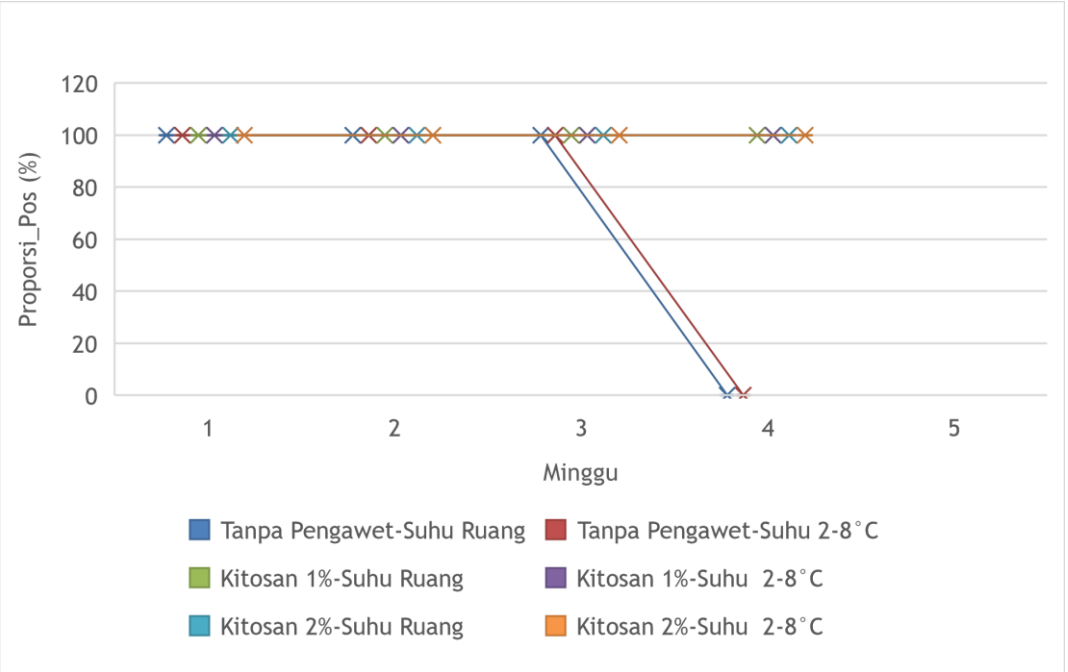
2%) serta pada dua kondisi suhu penyimpanan suhu ruang (24-26^{O}C) dan suhu 2-8^{O}C. Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini adalah rapid test metamfetamin, dengan menggunakan merek Orient Gene MET dari Pabrik Zhejiang Orient Gene Biotech Co., Ltd. Pemeriksaan metamfetamin dilakukan dengan metode imunokromatografi, yaitu secara kualitatif, dengan hasil positif dan negatif dengan nilai cut-off 500 ng/mL. Hasil pengujian disajikan secara deskriptif dalam tabel distribusi dan proporsi. Analisis statistik untuk mengetahui pengaruh pengawet kitosan dan suhu penyimpanan terhadap stabilitas urine positif metamfetamin menggunakan Uji Fisher's Exa Test menggunakan IBM SPSS 24.

Penelitian ini tidak dibuat komisi etik karena tidak melakukan pengambilan spesimen kepada manusia secara langsung. Sampel pada penelitian menggunakan bahan yang sudah tersedia. Penelitian ini meminta izin kepada POLRES Ciamis untuk melakukan pengambilan sampel dan STIKes Muhammadiyah Ciamis untuk melakukam pemeriksaan Metamfetamin. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei 2025 di Laboratorium Imunoserologi STIKes Muhammadiyah Ciamis.

HASIL

Pembuatan kitosan pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan 1 Kg udang vaname segar, yang menghasilkan 293 gram cangkang udang. Cangkang tersebut kemudian dikeringkan dalam oven, diperoleh 52 gram cangkang udang kering. Melalui tahapan pembuatan yang meliputi demineralisasi, deproteinisasi, dan deasetilisasi, akhirnya didapatkan kitosan serbuk sebanyak 32 gram, hasil rendemennya sebesar 61%. Hasil pengujian urine negatif amfetamin dengan kitosan 1% dan 2% menunjukkan hasil negatif. Berikut merupakan hasil dari pemeriksaan urine positif metamfetamin tanpa pengawet, dengan kitosan 1% dan 2% dengan variasi suhu ruang (24-26^{O}C) dan suhu 2-8^{O}C, ditunjukkan pada tabel 1 dan 2. Hasil uji statistik Fisher's Exact Test pada pengujian metafetamin positif pada minggu ke-4 antara kelompok tanpa pengawet dan kelompok dengan kitosan (gabungan) terlihat pada tabel 3.

Gambar 1. Stabilitas Urine Positif Metamfetamin Terhadap Waktu Penyimpanan



Berdasarkan Gambar 1, pola stabilitas sampel urine positif metamfetamin menunjukkan bahwa seluruh perlakuan masih mempertahankan hasil positif hingga minggu ketiga. Tidak terlihat penurunan pada keseluruhan kelompok penyimpanan, baik pada suhu ruang maupun suhu 2–8°C, serta baik tanpa pengawet maupun dengan penambahan kitosan. Penurunan terjadi pada minggu ke empat pada kelompok tanpa pengawet pada suhu ruang dan suhu 2–8°C.

Tabel 1. Proporsi Positif Tiap Perlakuan Pada Minggu Ke- 0-3 hasil pemeriksaan metamfetamin

Pengujian	n_total	n-positif	% positif	95%CI (Wilson)
Tanpa pengawet-Suhu ruang	2	2	100%	34,2-100%
Tanpa pengawet-Suhu 2-8°C	2	2	100%	34,2-100%
Kitosan 1%-Suhu ruang	2	2	100%	34,2-100%
Kitosan 1%-Suhu 2-8°C	2	2	100%	34,2-100%
Kitosan 2%-Suhu ruang	2	2	100%	34,2-100%
Kitosan 2%-Suhu 2-8°C	2	2	100%	34,2-100%

Tabel 1 menunjukkan bahwa semua kelompok perlakuan memiliki proporsi positif 100% selama minggu ke-0 hingga minggu ke-3. Rentang *confidence interval* Wilson yang relatif lebar (34,2–100%) mencerminkan ukuran sampel yang kecil, namun secara umum tetap menunjukkan adanya metamfetamin pada periode

tersebut. Dengan demikian, hingga minggu ketiga, penggunaan atau tidak penggunaan pengawet belum memperlihatkan perbedaan bermakna terhadap stabilitas analit.

Tabel 2. Proporsi Positif Tiap Perlakuan Pada Minggu Ke-4 hasil pemeriksaan metamfetamin

Pengujian	n_total	n-positif	% positif	95%CI (Wilson)
Tanpa pengawet-Suhu ruang	2	0	0%	0-65,8%
Tanpa pengawet-Suhu 2-8°C	2	0	0%	0-65,8%
Kitosan 1%-Suhu ruang	2	2	100%	34,2-100%
Kitosan 1%-Suhu 2-8°C	2	2	100%	34,2-100%
Kitosan 2%-Suhu ruang	2	2	100%	34,2-100%
Kitosan 2%-Suhu 2-8°C	2	2	100%	34,2-100%

catatan: Wilson CI untuk n=2 dan k=2 ≈ 34.2%–100%; untuk n=2 dan k=0 ≈ 0–65.8%.

Perubahan signifikan mulai terlihat pada minggu ke-4 sebagaimana ditampilkan pada Tabel 2. Pada kelompok tanpa pengawet, baik yang disimpan pada suhu ruang maupun 2–8°C, seluruh sampel (0 dari 2) tidak lagi menunjukkan hasil positif. Hal ini berlawanan dengan seluruh kelompok yang diberi kitosan, baik konsentrasi 1% maupun 2%, yang tetap mempertahankan hasil positif 100%. Perbedaan ini menunjukkan bahwa degradasi metamfetamin mulai terjadi pada sampel tanpa pengawet setelah melewati tiga minggu penyimpanan.

Tabel 3. Perbandingan hasil positif pada minggu ke-4 antara kelompok tanpa pengawet dan kelompok dengan kitosan (gabungan) — Fisher's Exact Test

Perlakukan	n-positif	n-negatif	Total	Exact Sig. (2-sided)
Tanpa pengawet	0	4	4	*p*=0,002
Dengan Kitosan (1% dan 2%)	8	0	8	
Total	8	4	12	

signifikasi $p < 0,05$

Untuk memastikan signifikansi statistik dari perbedaan tersebut, Tabel 3 menyajikan hasil uji Fisher's Exact Test dengan membandingkan kelompok tanpa pengawet terhadap kelompok dengan kitosan (digabungkan). Hasil analisis menunjukkan perbedaan yang sangat bermakna (p = 0,002), menandakan bahwa penggunaan kitosan berasosiasi kuat dengan kemampuan mempertahankan hasil positif metamfetamin pada minggu ke-4.

DISKUSI

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui stabilitas urine positif metamfetamin dengan penambahan pengawet kitosan 1% dan 2% berdasarkan lamanya penyimpanan. Stabilitas penyimpanan merupakan aspek penting dalam penanganan sampel urine metamfetamin, karena setiap jenis obat memiliki tingkat stabilitas yang berbeda yang dapat memengaruhi hasil analisis (Dwiyanti et al., 2023). Selain itu, proses penguraian obat oleh enzim tetap berlangsung meskipun sampel telah berada di luar tubuh (Manela, 2015). Untuk mengurangi penguraian tersebut, ditambahkan kitosan sebagai pengawet dengan konsentrasi 1% dan 2%, dan sampel disimpan pada dua kondisi suhu, yaitu suhu ruang (24–26°C) dan suhu (2–8°C).

Kitosan merupakan senyawa yang berasal dari proses deasetilasi kitin, yaitu zat yang banyak ditemukan di kulit hewan laut jenis Crustacea, seperti udang dan kepiting. Cangkang hewan laut ini memiliki kitin yang terikat dengan protein dan mineral (Thariq et al., 2016). Komponen utama dalam kulit udang meliputi protein (25%-44%), kalsium karbonat (45%-50%), dan kitin (15%-20%). Limbah padat berupa kulit udang ini dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan kitosan. Kitin, salah satu komponen yang dapat diolah menjadi polimer, berfungsi sebagai sumber potensial (Setiati et al., 2021).

Kitin yang terdapat dalam cangkang udang berupa mukopolisakarida yang terikat dengan garam anorganik, terutama kalsium karbonat ($CaCO_3$), serta mengandung protein dan lipid yang memberikan warna pada kulit udang. Oleh karena itu, untuk memperoleh kitin dari cangkang udang diperlukan proses pemisahan mineral (demineralisasi) menggunakan HCl dan pemisahan protein (deproteinasi) dengan menambahkan NaOH 6%. Selanjutnya, untuk mendapatkan kitosan, dilakukan pemisahan gugus asetil (deasetilasi) dengan NaOH 50% (Sudianto et al., 2020).

Kitosan memiliki potensi tinggi sebagai bahan antimikroba karena memiliki enzim lisozim serta gugus aminopolisakarida yang mampu menghambat

pertumbuhan mikroorganisme. Enzim lisozim mampu menghancurkan dinding sel bakteri, sehingga bakteri kehilangan kemampuannya untuk menimbulkan infeksi dalam tubuh. Kemampuan kitosan dalam menghambat pertumbuhan bakteri disebabkan oleh karakteristiknya yang bermuatan positif, yang efektif dalam menghambat perkembangan bakteri (Suherman et al., 2018).

Kitosan tidak dapat larut dalam air tetapi larut dalam kondisi asam, dan memiliki daya tahan yang cukup tinggi saat dilarutkan. Kitosan digunakan dalam berbagai bidang modern seperti biokimia, bioteknologi, farmasi, kosmetik, industri makanan, dan lainnya (Pardi et al., 2023). Kitosan adalah polimer rantai panjang dengan rumus molekul $(C_6H_{11}NO_4)n$, yang dihasilkan dari kitin melalui proses deasetilasi yang menghilangkan gugus asetil (CH_3-CO) menggantinya dengan atom hidrogen (H) menjadi gugus amina (NH_2) (Thariq et al., 2016).

Berdasarkan Tabel 1 dan 2, urine positif metamfetamin tanpa pengawet dapat bertahan sampai tiga minggu pada suhu ruang (24-26°C) dan suhu 2-8°C. Ketahanan ini menunjukkan bahwa zat tersebut cukup stabil dalam kondisi tertentu, tergantung pada berbagai faktor seperti frekuensi penggunaan, jumlah dosis, serta waktu pengambilan sampel urine. Biasanya, metamfetamin hanya terdeteksi 1–3 hari setelah penggunaan tunggal. Namun, pada pengguna kronis dengan dosis tinggi (misalnya 0,5 gram per hari selama 3 tahun), zat ini menumpuk di tubuh dan dilepaskan perlahan, sehingga bisa tetap terdeteksi lebih lama. Pada minggu keempat, hasil pemeriksaan urine untuk metamfetamin menunjukkan hasil negatif. Meskipun konsentrasi metamfetamin dalam urine tidak diketahui secara pasti, hasil negatif tersebut menandakan bahwa kadar zat tersebut berada di bawah nilai *cut-off*, yaitu 500 ng/mL. Penyimpanan di suhu dingin membantu menjaga stabilitas zat dalam urine. Durasi penggunaan, dosis, dan cara penyimpanan sangat memengaruhi hasil uji toksikologi (Mahmudi et al., 2023).

Berdasarkan Gambar 1 dan Tabel 1 serta Tabel 2, terlihat bahwa pada minggu ke-4, semua sampel urine yang tidak diberi pengawet menunjukkan

hasil negatif terhadap metamfetamin (0 dari 4 sampel; 0%, 95% CI: 0–65,8%). Sementara itu, semua sampel yang diberi pengawet kitosan 1% atau 2% tetap menunjukkan hasil positif, baik pada suhu ruang (24–26°C) maupun suhu dingin (2–8°C) (8 dari 8 sampel; 100%, 95% CI: 34,2–100%). Dalam Tabel 3, uji *Fisher's Exact Test* untuk membandingkan proporsi hasil positif antara sampel tanpa pengawet dan sampel dengan pengawet kitosan (1% dan 2% secara bersamaan) menunjukkan perbedaan yang sangat signifikan dengan nilai $p < 0,05$ ($p = 0,002$). Hasil ini membuktikan bahwa penambahan kitosan 1% atau 2% secara signifikan meningkatkan stabilitas sampel urine yang positif metamfetamin selama penyimpanan selama 4 minggu, baik pada suhu ruang maupun suhu dingin, dibandingkan dengan sampel yang tidak diberi pengawet. Ini menunjukkan bahwa kitosan efektif menjaga kestabilan metamfetamin, bahkan di suhu penyimpanan yang kurang ideal. Hal ini terjadi karena Cara kerja kitosan dalam mempertahankan metamfetamin di dalam sampel urine tidak hanya bergantung pada sifat antibakterinya, tetapi juga melibatkan interaksi fisikokimia. Kitosan, yang mengandung gugus amina bebas bermuatan positif pada pH asam, berpotensi berinteraksi dengan gugus fungsional pada molekul metamfetamin melalui ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik. Interaksi ini dapat membantu menstabilkan metamfetamin dalam matriks urine, serta mengurangi potensi degradasi atau penguapan selama penyimpanan. Selain itu, kitosan dapat membentuk lapisan pelindung semi-permeabel yang membatasi paparan terhadap oksigen, cahaya, dan mikroorganisme. Kombinasi dari sifat-sifat ini menjadikan kitosan sebagai bahan yang menjanjikan dalam menjaga kestabilan senyawa target seperti metamfetamin dalam sampel biologis selama proses penyimpanan atau transportasi (Mudyantini et al., 2018).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kitosan mampu membantu mempertahankan stabilitas metamfetamin dalam urine, yang terlihat dari hasil rapid test yang tetap positif atau tidak menunjukkan penurunan hasil yang bermakna. Penggunaan kitosan 1% dan 2% efektif menjaga hasil positif rapid test hingga 4 minggu, baik pada suhu ruang (24-26°C) maupun suhu 2-8°C.

Kitosan 1% bisa menjadi pilihan yang lebih hemat dan memberikan perlindungan tambahan terhadap degradasi zat aktif (Akmarina & Sriwidodo, 2016). Perbandingan sampel urine dengan dan tanpa kitosan menunjukkan bahwa kitosan bisa membuat sampel urine lebih stabil dan memperpanjang waktu deteksi metamfetamin. Ini sangat berguna dalam analisis toksikologi forensik, terutama saat sampel perlu disimpan lama sebelum diuji (Wirasuta, 2018).

Temuan ini mendukung dugaan bahwa kitosan dapat menghambat pertumbuhan mikroba serta menjaga kondisi kimia urine sehingga metamfetamin tidak cepat terdegradasi. Jika dibandingkan dengan studi-studi sebelumnya, kitosan telah dikenal efektif sebagai antimikroba dan stabilisator pada berbagai sampel biologis, namun hampir tidak ada penelitian yang secara khusus mengevaluasi perannya terhadap stabilitas narkotika dalam urine. Dengan demikian, penelitian ini memberikan kontribusi penting dalam mengisi kekosongan pengetahuan tersebut.

Penelitian sebelumnya oleh Yaman (2022) menunjukkan bahwa penambahan pengawet NaF 1% pada urine positif metamfetamin mampu menjaga kestabilan sampel lebih baik pada suhu 4°C dibandingkan suhu 25°C. Namun, hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa penggunaan pengawet kitosan dapat memperpanjang masa stabilitas sampel urine hingga 4 minggu, baik pada suhu ruang (24-26°C) maupun suhu 2-8°C. Hal yang perlu diperhatikan adalah tanpa pengawet kitosan, sampel urine masih tetap stabil hingga 3 minggu, yang lebih lama dibandingkan sampel tanpa pengawet pada penelitian sebelumnya. Temuan ini mengindikasikan bahwa kitosan berpotensi menjadi alternatif pengawet yang efektif dalam menjaga kestabilan sampel urine positif metamfetamin untuk waktu yang lebih lama.

Penelitian ini memiliki beberapa kekuatan, antara lain penggunaan pengawet alami yang aman dan ramah lingkungan, pendekatan baru dalam toksikologi forensik, serta relevansinya yang tinggi bagi wilayah yang tidak memiliki fasilitas penyimpanan dingin. Namun demikian, penelitian ini juga memiliki beberapa keterbatasan, antara lain jumlah sampel yang terbatas dan

penggunaan metode rapid test secara kualitatif, sehingga hasilnya sulit untuk diterapkan secara umum dan tidak mampu mengukur kadar metamfetamin secara tepat karena tidak menggunakan metode konfirmasi sehingga perubahan kadar metamfetamin tidak dapat diukur secara kuantitatif. Penilaian yang dilakukan bersifat kualitatif melalui rapid test dengan sampel dan variasi kondisi pengujian yang masih terbatas. Selain itu, faktor-faktor seperti perbedaan metabolisme tubuh, dosis, dan frekuensi pemakaian juga memengaruhi hasil yang didapat.

Secara klinis, penelitian ini menawarkan alternatif pengawetan urine yang aman, mudah diterapkan, dan berpotensi menjaga keandalan skrining narkotika dengan mengurangi risiko hasil negatif palsu akibat degradasi sampel. Untuk penelitian selanjutnya, disarankan memakai metode HPLC (*High-performance liquid chromatography*) untuk menentukan kadar sebenarnya, mengevaluasi berbagai konsentrasi kitosan, membandingkannya dengan pengawet standar, serta melakukan pengujian jangka panjang atau pada kondisi penyimpanan ekstrem agar diperoleh pemahaman yang lebih komprehensif mengenai efektivitas kitosan sebagai pengawet sampel urine.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa urine positif metamfetamin yang ditambahkan pengawet kitosan 1% dan 2% dapat stabil selama empat minggu baik di suhu ruang (24-26^{o}C) atau di suhu 2-8^{o}C, sehingga kitosan dapat digunakan sebagai pengawet alami dalam menjaga stabilitas urine positif metamfetamin, dan berpotensi digunakan dalam laboratorium toksikologi forensik.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih seluruh civitas akademik Program Studi D3 Teknologi Laboartroium Medis STIKes Muhammadiyah Ciamis yang telah mendukung dalam penelitian ini, sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

REFRENSI

Achmad, F., Fajar, M., Lubis, I. S., Suhartono, S., & Suharto, S. (2023). Pembuatan Kitosan Dari Limbah Kulit Udang Dan Pemanfaatannya Sebagai Koagulan Alami Pada Penjernihan Air. *Jurnal Teknologi Bahan Dan Barang Teknik*, *11*(2), 73–80. https://doi.org/10.37209/jtbbt.v11i2.282

Akmarina, C. A., & Sriwidodo, S. (2016). Aplikasi Kitosan Dalam Bidang Farmasetik. *Farmaka*, *14*(2), 318–330.

Dwiyanti, S. P., Irawan, D. A. H., Abbas, Z. A., Utami, M. R., & Nurfadhila, L. (2023). Validasi Metode Analisis Senyawa Obat Dalam Sampel Biologis (Urine). *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, *6*(2), 885–891. https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v6i2.165

Elyyana, N., Putri Sukma Wibowo, S., Nurayuni, T., Rahmawati Utami, M., & Nurfadhila, L. (2023). Literature Review: Qualitative and Quantitative Identification Methods of Morphine in Urine Samples Literatur Review: Metode Analisis Identifikasi Kualitatif dan Kuantitatif Morfin Dalam Sampel Urine. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, *6*(2), 816–830.

Hudaya, Imel Ramelia Hasna, V. L., Valensia, R., Hermawan, K. A., Hartati, H., Hasanah, F. F., & Aida, F. (2022). Metode Validasi Analisis Metamfetamin dalam Sampel Biologis. *Jurnal Syntax Admiration*, *3*(4), 589–594. https://doi.org/10.46799/jsa.v3i4.419

Mahmudi, I., Suaniti, N. M., & Diantariani, N. P. (2023). Optimasi Suhu Penyimpanan Sampel Urin Terhadap Analisis Kandungan Metamfetamin Serta Metabolitnya dengan GC-MS. *Jurnal Kimia*, *17*(1), 25–32. https://doi.org/10.24843/jchem.2023.v17.i01.p04

Manela, C. (2015). Pemilihan, Penyimpanan dan Stabilitas Sampel Toksikologi pada Korban Penyalahgunaan Narkotika. *Jurnal Kesehatan Andalas*, *4*(1), 338–345. https://doi.org/10.25077/jka.v4i1.243

Mudyantini, W., Santosa, S., Dewi, K., & Bintoro, N. (2018). Pengaruh Pelapisan Kitosan dan Suhu Penyimpanan terhadap Karakter Fisik Buah Sawo (Manilkara achras (Mill.) Fosberg) Selama Pematangan. *Agritech*, *37*(3), 343. https://doi.org/10.22146/agritech.17177

Novitasari, A. E., & Dara, S. (2021). Kandungan NAPZA Jenis Amfetamin, Metamfetamin dan Benzodiazepin pada Urine Pasien Medical Check Up di Rumah Sakit. *Jurnal Sains*, *13*(2), 14–20.

Pardi, H., Meilinda, R., Ningsih, P. A., & Anggraini, D. (2023). Pemanfaatan Limbah Kulit Udang sebagai Bahan Pembuatan Kitosan dan Aplikasinya

sebagai Pengawet Alami Pangan: Tinjauan. *KATALIS: Jurnal Penelitian Kimia Dan Pendidikan Kimia*, *6*(2), 50–57. https://doi.org/10.33059/katalis.v6i2.8083

Parwati, P. A., Bintari, N. W. D., & Prihatiningsih, D. (2022). Penilaian Hasil Pemeriksaan Sedimen Urine Dengan Variasi Pengawet. *Jurnal Inovasi Pendidikan*, *3*(3), 5445–5452.

Sari, D. A. I. P., Parwati, P. A., Abadi, M. F., & Subawa, A. A. N. (2023). Perbedaan Hasil Sedimen Urine dengan Pengawet Formalin dan Toluena. *Junal Laboratorium Khatulistiwa*, *6*(2), 7–12.

Setiati, R., Siregar, S., Wahyuningrum, D., & Fathaddin, M. T. (2021). Potensi Keberhasilan Kulit Udang Sebagai Bahan Dasar Polimer Kitosan: Studi Literatur. *Jurnal Penelitian Dan Karya Ilmiah Lembaga Penelitian Universitas Trisakti*, *6*(1), 156–164. https://doi.org/10.25105/pdk.v6i1.8637

Sidik, G., Marsigit, W., & Syafnil. (2022). Pengaruh Kitosan Sebagai Edible Coating Terhadap Mutu Fisik Dan Kimia Jeruk Rimau Gerga Lebong Selama Penyimpanan. *Jurnal Agroindustri*, *12*(2), 72–85. https://doi.org/10.31186/jagroindustri.12.2.72-85

Sudianto, Suseno, S. H., & Suptijah, P. (2020). Optimasi Produksi Kitosan Larut Air menggunakan Metode Hidrolisis Bertekanan. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, *23*(3), 441–446. https://doi.org/10.17844/jphpi.v23i3.30022

Suherman, S., Latif, M., & Rosmala Dewi, S. T. (2018). Potensi Kitosan Kulit Udang Vannemei (Litopenaeus vannamei) Sebagai Antibakteri Terhadap Staphylococccus epidermidis, Pseudomonas aeruginosa, Propionibacterium agnes, dan Escherichia coli dengan Metode Difusi Cakram Kertas. *Media Farmasi*, *14*(1), 116–127. https://doi.org/10.32382/mf.v14i1.145

Thariq, M. R. A., Fadli, A., Rahmat, A., & Handayani, R. (2016). Pengembangan Kitosan Terkini pada Berbagai Aplikasi Kehidupan: Review. *Jurnal Teknologi Pangan*, *10*(1), Hal. 49-57. https://www.researchgate.net/publication/311806381

Widyastuti, W. (2023). Perbandingan Karakteristik Dan Kualitas Kitosan Dari Kulit Udang Jerbung (Penaeus merguiensis De Man) Dan Udang Windu (Penaeus monodon Fabricius). *SITAWA : Jurnal Farmasi Sains Dan Obat Tradisional*, *2*(1), 1–14. https://doi.org/10.62018/sitawa.v2i1.24

Wirasuta, M. A. . (2018). Analisis Toksikologi Forensik dan Interpretasi Temuan Analisis. *Indonesian Journal of Legal and Forensic Sciences*, *1*(1), 47–55.

Yaman, B. (2022). *Analisis Efek Suhu , Zat Pengawet Dan Waktu Penyimpanan Terhadap Kadar Metamfetamin Yang Diperiksa Dengan Metode Gas Chromatography-Mass Spectrometry (Gc-Ms) Pada Urin Pengguna Metamfetamin*.

ANALISIS KADAR IMUNOGLOBULIN E (IgE) TOTAL TERHADAP INFEKSI TELUR CACING *SOIL TRANSMITTED HELMINT* (STH)

Feni Ramadhani[1*] · Nirmawati Angria[1] · Abd Rahman[1]

1Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Teknologi Kesehatan, Universitas Megarezky, Sulawesi Selatan, Indonesia

e-Mail: feniramadhani2610@gmail.com
No Tlp WA : 081356074301 / 085974831468

Abstract

Helminthiasis is a health problem that requires serious attention. Infections caused by soil-transmitted helminths (STH) can affect individuals of all age groups. The human immune response to helminth infections is typically associated with increased levels of Immunoglobulin E (IgE) and eosinophils.The purpose of this study was to assess the relationship between total IgE levels and individuals infected with Soil-Transmitted Helminth (STH) eggs. This research used a quantitative approach with a cross-sectional study design to analyze total IgE levels in individuals at high risk of STH infection (such as farmers, scavengers, and waste collectors), using the Sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) method.The total sample consisted of 20 participants, including 2 farmers (10%), 11 scavengers (55%), and 7 waste collectors (35%). The results showed a significant correlation between total Immunoglobulin E (IgE) levels and the number of Soil-Transmitted Helminth eggs, with a p-value of 0.000.Conclusion: There is a significant relationship between total IgE levels and infection with Soil-Transmitted Helminth (STH) eggs.

***Keywords**: Immunoglobulin E (IgE), STH, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)*

Abstrak

Kecacingan merupakan masalah kesehatan yang memerlukan penanganan serius. Infeksi yang disebabkan oleh cacing yang ditularkan melalui tanah dapat menginfeksi semua kelompok umur. Reaksi imun manusia terhadap kecacingan yaitu dikaitkan dengan peningkatan kadar Imunoglobulin E (IgE) dan eosinofil. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menilai hubungan antara kadar IgE total dengan orang yang mengalami infeksi telur cacing *Soil Trasmitted Helmint* (STH). Jenis penelitian ini adalah penelitian kuantitatif dengan *cross- sectional study* untuk Menganalisis Kadar Imunoglobulin E (IgE) Total Terhadap Infeksi telur cacing *Soil Transmitted Helmint* pada orang yang berpotensi terinfeksi (petani, pemulung dan petugas pengakut sampah) dengan menggunakan Metode *Enzyme-Linked Immunosorbent* (ELISA) Sandwich. Total sampel yaitu 20 sampel yang terdiri dari petani 2 orang (10%), pemulung 11 orang (55%) dan pengangkut sampah 7 orang (35%). Didapatkan kolerasi kadar Imunoglobulin E (IgE) dengan Jumlah telur *cacing Soil Transmitted Helmint* (STH) dengan P-value 0.000. Kesimpulan dari penelitian ini adalah adanya hubungan yang signifikan antara kadar Imunoglobulin E (IgE) terhadap orang yang terinfeksi telur cacing *Soil Transmitted Helmint* (STH).

Kata Kunci : Imunoglobulin E (IgE), STH, *Enzyme-Linked Immunosorbent* (ELISA)

PENDAHULUAN

Kecacingan adalah salah satu masalah kesehatan yang memerlukan penanganan serius. Cacing yang ditularkan melalui tanah dapat menginfeksi semua kelompok umur. Infeksi kecacingan masih sering

diabaikan, karena tidak menimbulkan gejala klinis yang jelas, meski memiliki konsekuensi jangka panjang. Di antara jenis cacing terdapat spesies yang penularannya melalui tanah atau dikenal dengan istilah *Soil Transmitted Helmith* (STH) (Lutur dkk., 2024).

Soil Transmitted Helmith (STH) adalah cacing yang telurnya berkembang di tanah, berubah dari tidak menular menjadi menular atau infeksi. Beberapa jenis cacing yang biasa ditemukan sebagai STH adalah *Ascaris lumbricoides* (cacing gelang), *Trichuris trichuria* (cacing cambuk), *Ancylostoma duodenale*, dan *Necator americanus* (cacing tambang) (Sorisi dkk., 2019).

Pada data *Word Health Organitazion* (WHO) mengatakan bahwa infeksi cacing ini menginfeksi melalui tanah (STH) termasuk salah satu infeksi yang paling umum di seluruh dunia dengan perkiraan 1,5 miliar orang yang terinfeksi atau 24% dari populasi dunia. Infeksi ini menyerang masyarakat termiskin dan paling miskin dengan akses yang buruk terhadap air bersih, sanitasi, dan kebersihan di daerah tropis dan subtropis, yang paling banyak dilaporkan berasal dari Afrika sub-Sahara, Tiongkok, Amerika Selatan, dan Asia. Infeksi menyebar melalui telur dalam tinja manusia, yang kemudian mencemari tanah di tempat yang tidak higienis. Lebih dari 260 juta anak prasekolah, 654 juta anak usia sekolah, 108 juta remaja putri, dan 138,8 juta wanita hamil dan menyusui menderita cacing ini secara intensif di tempat tinggal mereka. Semuanya memerlukan perawatan dan pencegahan (WHO, 2023).

Menurut data dari Badan Pusat Statistik Provinsi Sulawesi Selatan, jumlah kasus penyakit kecacingan pada tahun 2015 yaitu 8.365, dan di Makassar dengan jumlah jumlah kasus 556 yang terinfeksi kecacingan (Badan Pusat Statistik, 2015). Pada gambaran prevalensi kecacingan di Indonesia tahun 2020-2022 yang dilakukan Trasia pada tahun 2023 dalam jurnalnya menunjukkan bahwa Provinsi Sulawesi Selatan, kota Makassar di daerah Manggala dengan subjek pengumpul sampah memiliki prevalensi 71,8% ditemukan terinfeksi STH (Trasia, 2023).

Pada data epidemiologi, tempat tinggal dan sanitasi buruk serta higienitas yang rendah mempunyai resiko terinfeksi yang lebih tinggi.

Adapun faktor lain seperti tingkat kebersihan pribadi yang rendah, yang juga dikenal sebagai perilaku hidup bersih sehat, termasuk kebiasaan mencuci tangan sebelum makan dan setelah buang air besar (BAB), menjaga kebersihan kuku, dan jajan di tempat yang tidak dikontrol kebersihannya. Perilaku BAB tidak di toilet dapat menyebabkan pencemaran tanah dan lingkungan oleh feses yang mengandung talur cacing dan tidak tersedianya sumber air bersih (Jannah & Haryatmi, 2023).

Penyakit kecacingan adalah penyakit yang biasanya berlangsung lama dan mematikan, dan menyebabkan berbagai tanda-tanda kesehatan, termasuk penurunan gizi, kecerdasar, dan produktivitas. Selain itu, penyakit kecacingan menyebabkan penurunan penyerapan makronutrien seperti karbohidrat dan protein, serta anemia, yang merupakan penurunan jumlah darah dalam tubuh. Gejala kecacingan biasanya termasuk diare, kurang nafsu makan, lemah, lesu, pucat, tidak bersemangat, penurunan berat badan, batuk, dan penurunan konsentrasi (Halleyantoro dkk., 2019).

Respons tubuh terhadap benda asing di dalam tubuh seperti bakteri, virus, dan parasite. Leukosit, yang terdiri dari limfosit dan monosit dalam darah, dan granulosit, yang terdiri dari basofil, eosinofil, dan neutrophil. Secara ekstraselular, reaksi antara antibodi IgE dan eosinofil menyebabkan keberadaan cacing. Antibodi IgE mendorong mastosit untuk mengalami reaksi inflamasi dan menarik sel-sel eosinofil untuk mendekat dan melekat pada permukaan cacing, yang kemudian dipecahkan oleh granula eosinofil (Arin dkk., 2021).

Reaksi imun manusia terhadap kecacingan yaitu dikaitkan dengan peningkatan kadar Imunoglobulin E (IgE) dan eosinofil. Dimana peningkatan aktivitas sel Th2 yang dominan mensekresikan IL-4 dan IL-5, yang masing-masing akan merangsang produksi IgE dan aktivitas eosinofil. IgE yang terikat pada permukaan cacing akan diikat oleh eosinofil yang kemudian teraktivasi dan mensekresikan granul enzim yang dapat membunuh parasit (Anwar & Dewi, 2024).

Rengganis pada tahun 2012 melakukan penelitian untuk membandingkan respons imun adaptif seluler terhadap infeksi Ascaris lumbricoides dan Wuchereria bancrofti pada ibu hamil. Tiga kelompok,

yang terinfeksi Ascaris lumbricoides, Wuchereria bancrofti, dan sehat, dibandingkan dengan data kadar sitokin IL-5 sebelum dan setelah stimulasi dengan antigen BmA. Dari 286 data wanita hamil dari penelitian utama yang tersedia, 82 memenuhi kriteria penelitian dan dianalisis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa respons imun adaptif selular terhadap infeksi Ascaris lumbricoides dan Wuchereria bancrofti pada ibu hami tidak berbeda secara signifikan antara kelompok infeksi (p=0,60) dan setelah stimulasi antigen BmA dan Ascaris lumbricoides (p=0,07; p=0,92) (Rengganis, 2012).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Apsari pada tahun 2018 mengenai hubungan kadar IgE total, jumlah eosinofil dan basophil dengan intensitas infeksi *Ascaris lumbricoides, Trichuris trichuria* dan *Hookworm* pada petani di Kabupaten Klungkung, Povinsi Bali, dari 162 sampel feses dari petani berusia 25 hingga 80 tahun, 22 sampel menunjukkan infesi Soil Transmitted Helmint (STH), 20 sampel darah dari petani yang terinfeksi STH, dan 20 sampel darah dari petani yang tidak terinfeksi STH. Hasil menunjukkan korelasi signifikan antara jumlah eosinofil dan EPG (p=0,00), jumlah basofil dan EPG (p=0,001), dan kadar IgE total dan EPG (p=0,001). Infeksi tunggal A.lumbricoides adalah 1,85%, T.trichiura 9,26%, dan infeksi campuran A.lumbricoides dengan T.trichiura 1,23%, dan A.lumbricoides dengan Hookworm 0,61%. (Apsari, 2018).

Kelompok yang rentang terinfeksi *Soil Transmitted Helmint* (STH) yaitu kelompok para pekerja yang bekerja kontak erat dengan tanah. Tanah merupakan media untuk perkembangan telur nematoda usus untuk berkembang menjadi stadium infektif yang dapat ditularkan ke manusia. Contoh pekerja yang memiliki faktor resiko terinfeksi yaitu petani, pemulung, tukang sampah dan pengrajin tanah (Prabandari dkk., 2023).

Berdasarkan uraian diatas, maka peneliti tertarik untuk menganalisis kadar Imunoglobulin E (IgE) total terhadap infeksi telur cacing *Soil Transmitted Helmint* (STH).

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sampel feses, serum darah, tabung PLAIN, jarum vacutainer, alcohol swab, alcohol, plaster,

larutan kato-katz 3% (gliserin, aquades, melacit green), kertas timbang, selovan, karton,jarring besi, aluminium foil, stick, preparate, sampel darah, feses, tissue, tip kuning, KIT *Human Immmunoglobulin E Bioassay Technology Laboratory* (*IgE BT-LAB Kit)*.

Adapun tahapan penelitian ini diantaranya:

1. Pengambilan sampel feses

   Dipersiapkan wadah steril kemudian sampel feses dikumpulkan langsung dari buang air besar menggunakan sendok yang tersedia bersama wadah.

2. Pengambilan sampel darah

   Disiapkan alat dan bahan yang digunakan untuk sampling, kemudian dibersihkan area penusukkan, setelah itu dilakukan penusukkan pada area vena, setelah itu jika darah sudah tertampung pada tabung dan susuai dengan volume yang diinginkan, dibuka tourniquet dan dicabur spoit, setelah itu tutup area bekas tusukkan menggunakan plaster.

   Darah vena diambil sebanyak 3-5 cc dan dimasukkan ke dalam tabung Plain. Tabung sampel daran disentrifugasi dengan kecepatan 3.000 rpm selama 15 menit, kemudian dipipet serum darah dan dimasukkan kedalam tup PCR. Sampel serum darah tersebut disimpan pada suhu -40°C sampai seluruh sampel terkumpul.Pembuatan fraksi etil asetat ekstrak etanol biji alpukat

3. Prosedur pembuatan larutan Kato-Katz

   Ditimbang melacit green sebanyak 0,3 gram kemudian ditambahkan 10 ml aquadets lalu di larutkan didalam gelas kimia (larutan melacit green 3%) , setelah itu siapkan gelas kimia 250 ml kemudian masukkan 100 ml aquadets ditambah larutan gliserin 100 ml dan ditambahkan 1 ml melacit green 3%. Setelah larutan kato-katz jadi dimasukkan selovan kedalam larutan selama 24 jam.

4. Prosedur pemeriksaan telur cacing sampel feses metode Kato-katz

   Disiapkan alat dan bahan yang digunakan, diambil sampel feses yang akan diperiksa, letakkan sampel diatas aluminium foil dan letakkan jaring besi diatas sampel lalu tekan menggunakan stick, letakkan karton yang sudah diberi lubang di bagian atas preparate, diambil sampel feses yang sudah

disaring dengan menggunakan stick, lalu letakkan feses diatas kertas karton yang berlubang lalu ratakan, setelah itu angkat karton tersebut kemudian diambil selovan yang sudah terendam larutan kato diletakkan diatas sampel tinja yang ada di preparate ditekan hingga rata lalu diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 10x (Acuan identifikasi telur cacing menggunakan atlas parasitologi).

5. Prosedur pemeriksaan kadar Imunoglobuli E

a. Persiapan reagen

Disiapkan semua reagen pada suhu kamar (22±5°C) sebelum digunakan. KIT yang digunakan yaitu KIT *Human Immmunoglobulin E, IgE BT-LAB Kit*. Didalam KIT berisi reagen untuk sumur 1× 96 atau 10×96 dan berisi komponen reagen yang akan digunakan. Disiapkan reagen sebanyak yang diperlukan untuk melakukan penelitian. Disiapkan *wash buffer* (dengan mengencerkan wash buffer 25× menggunakan aquadest. Untuk membuat *wash buffer* 500 ml maka, *wash buffer* 20 ml di campurkan dengan 480 ml aquadest, homogenkan).

b. Persiapan standar

Diberikan label pada lima tabung, standar 1-5, kemudian ditambahkan 120µl standar *diluent* dan 120µl standar *solution* ke dalam tabung nomor 5, lalu diinkubasi selama 15 menit. Pipet 120µl *diluent* ke tabung 1-4. Standar pada tabung nomor 5 dipipet 120µl kedalam tabung standar nomor 4, proses tersebut dilakukan hingga tabung standar nomor 1.

Tabel 1. Pengenceran Standar

Standar	Pengenceran	Volume Standar *Diluent* (µl)	Volume Standart (µl)	Konsentrasi (ng/mL)
1	Standar stok	-	-	2400ng/ml
2	Standar 5	120µl	120µl	1200ng/ml
3	Standar 4	120µl	120µl	600ng/ml
4	Standar 3	120µl	120µl	300ng/ml
5	Standar 2	120µl	120µl	150ng/ml
6	Standar 1	120µl	120µl	75ng/ml

c. Preparasi sampel

Sampel serum yang telah disimpan di -40°C diambil lalu dibiarkan mencair, setelah mencair sampel disusun ke dalam rak sampel sesuai urutan yang akan dimasukkan ke dalam well

d. Preparasi well

Disiapkan 26 sumuran atau well yang akan digunakan. Terdapat 96 well yang di sediakan oleh KIT. Strip sumuran yang tidak digunakan dikembalikan ke dalam kantong foil yang berisi kemasan sebelumnya ditutup lalu disimpan kembali pada suhu 4°C, digunakan 20 *well* untuk sampel uji, 5 *well* untuk standar dan 1 *well* untuk blanko.

e. Tahapan pengujian

Disiapkan semua reagen, standar kerja dan sampel sesuai petunjuk dan yang telah dilakukan sebelumnya kemudian diambil sumuran sesuai kebbutuhan sampel, dimasukkan 40µl ke dalam well sampel (pastikan mikropipet tidak menyentuh dasar tabung), ditambahkan 10µl antibody anti IgE kedalam well sampel, kemudian ditambahkan 50 µl *streptavidin*-HRP ke dalam well sampel dan well standar, di masukkan 50 µl strander ke dalam well standar, setelah itu ditutup plate menggunakan sealer dan inkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C ke dalam *incubator Heldolph Titramax 1000*. Setelah diinkubasi dilepas sealer kemudian dilakukan tahapan pencucian sebayak 5× dengan menggunakan *wash buffer,* dipipet 300µl lalu dimasukkan ke dalam well sample, standar dan blanko, setiap perlakuan didiamkan selama 30 detik lalu buang larutan wash buffer kemudian dibersihkan denngan cara di tap-tap ke atas meja yang beralaskan tissue (lakukan pencucian senyak 5×) setelah itu dilanjutkan dengan penambahan subtract A sebanyak 50 µl kesemua well setelah itu ditambahkan subtract B sebanyak 50 µl ke dalam setiap well, diinkubasi Kembali selama 10 menit suhu 37°C dalm keadaan gelap, setalah diinkubasi ditambahkan 50 µl *stop solution* lalu dibaca menggunakan ELISA reader, di program computer untuk pembacaan ELISA lalu dicatat hasil absorbansi dan kadar Imunoglobulin E pada 450 nm.

Pengumpulan data dilakukan dengan mengambil data sekunder dan data primer, data sekunder diambil dari hasil wawancara para pekerja petani, pemulug dan tukang angkut sampah. Data sekunder merupakan data yang akan peneliti ambil yaitu seperti nama, umur, jenis kelamin, pekerjaan, dan kondisi tubuh para pekerja. Data primer yang didapatkan berupa sampel feses dan darah pasien yang akan dilakukan pemeriksaan

telur cacing dan pengukuran kadar Imunoglobulin E. Analisis data diperoleh dari hasil pemeriksaan kemudian dibuat dalam bentuk tabel dan Statistical Package for the Social Sciences (SPSS).

HASIL

1. Krakteristik sebaran variable subjek penelitian

Tabel 1. Hasil Krakteristik sebaran variable subjek penelitian

Karakteristik	**N**	**%**
Usia		
>30 tahun	12	60 %
<30 tahun	8	40 %
Total	**20**	100 %
Jenis Kelamin		
Laki – laki	9	45%
Perempuan	11	55%
Total	**20**	100%
Pekerjaan		
Petani	2	10 %
Pemulung	11	55 %
Pengangkut sampah	7	35 %
total	**20**	100 %

Data diperoleh dari karakteristik responden

Berdasarkan tabel 1., terdapat tiga karakteristik yang terdapat pada penelitian ini terkait dengan data yang disajikan yaitu usia, jenis kelamin dan pekerjaan. Rata-rata sebaran usia <30 tahun dan >30 tahun. Sebaran rata-rata jenis kelamin untuk laki-laki sebanyak 10 dan perempuan 10 orang. Sebaran pekerjaan yaitu petani, pemulung dan pengangkut sampah. Karakteristik subjek penelitian dapat dilihat pada tabel 1

2. **Hasil Pemeriksaan Mikroskopik Telur Cacing *Soil Transmitted Helmint* (STH)**

Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Mikroskopik Telur Cacing *Soil Transmitted Helmint* (STH)

Kode Sampel	Jumlah Telur	Jumlah telur per 1 gram
P1	266	**38.000**
P4	285	**40.714**
P5	350	**50.000**
P6	32	**4.571**
P7	6	**857**
P8	5	**714**
P9	51	**7.285**
P10	-	**0**
P11	6	**857**
P12	278	**39.714**
P13	-	**0**
P14	21	**3.000**
P15	251	**35.857**
P16	49	**7.000**
P17	10	**1.428**
P18	4	**571**
P19	230	**32.857**
P20	171	**24.428**
PT3	9	**1.285**
PT4	**412**	**58.857**

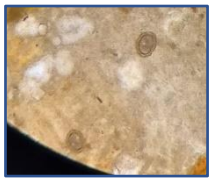
Berdasarkan tabel 2., jumlah sampel yang digunakan yaitu 20 sampel, yang terdiri dari 18 orang yang terinfeksi telur cacing *Soil Transmitted Helmint* (STH) dan 2 sampel sebagai control sehat. Hasil pemeriksaan mikroskopik jumlah telur cacing STH akan dihitung kembali dengan menggunakan rumus intensitas cacing, yang dapat dilihat pada tabel 2.

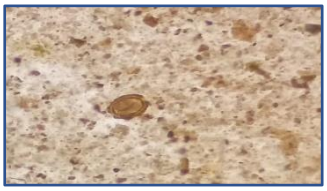
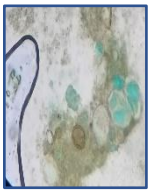
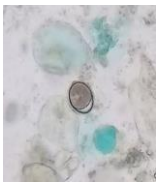
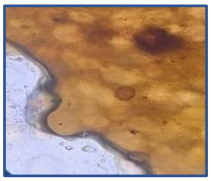
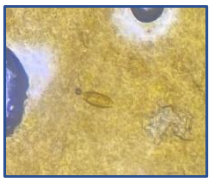
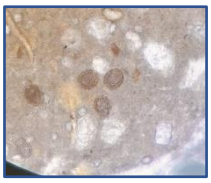
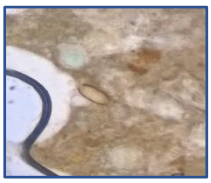
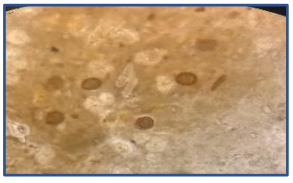
3. Gambar Hasil Pengamatan Jenis Telur Cacing *Soil Transmitted Helmint* (STH)

Tabel 3. Gambar Hasil Pengamatan Jenis Telur Cacing *Soil Transmitted Helmint* (STH)

Kode sampel	**Gambar**	**Jenis telur cacing**

P1	 	*Ascaris lumbricoides* dan *Trichuris trichuria*
P4		*Ascaris lumricoides*
P5		*Ascaris lumricoides*
P6		*Ascaris lumricoides*
P7		*Ascaris lumricoides*
P8		*Ascaris lumricoides*
P9		*Ascaris lumricoides*

Asc		*aris lumricoides*
P12		*Ascaris lumricoides*
P14	 	*Ascaris lumricoides* dan *Trichuris trichuria*
P15	 	*Ascaris lumricoides* dan *Trichuris trichuria*

P16		*Ascaris lumricoides*
P17	  	*Ascaris lumricoides*, *Trichuris trichuria* dan *Ancylostoma duodenale*
P18	 	*Ascaris lumricoides* dan *Trichuris trichuria*
P19	 	*Ascaris lumricoides* dan *Trichuris trichuria*
P20		*Ascaris lumricoides*
PT3		*Ascaris lumricoides*

PT4		***Ascaris lumricoides***

Berdasarkan tabel 3., jumlah sampel yang digunakan yaitu 20 sampel, yang terdiri dari 18 orang yang terinfeksi telur cacing *Soil Transmitted Helmint* (STH). gambar hasil pengamatan jenis telur cacing dapat dilihat pada tabel 3

4. Hasil Presentase Jenis Telur Cacing *Soil Transmitted Helmint* (STH)

Tabel 4. Presentase Jenis Telur Cacing *Soil Transmitted Helmint* (STH)

Jenis telur cacing terinfeksi	Jumlah Sampel yang terinfeksi	Presentase
Ascaris lumbricoides	12	**66,67**
Ascaris lumbricoides + *Trichuris trichuria*	6	**33,33**
Ascaris lumbricoides + *Trichuris trichuria* + *Ancylostoma duodenale*	1	**5.56**
Jumlah	**18**	**100%**

Berdasarkan Tabel 4., jumlah sampel yang digunakan yaitu 20 sampel, yang terdiri dari 18 orang yang terinfeksi telur cacing *Soil Transmitted Helmint* (STH). presentasi jenis telur cacing dapat dilihat pada tabel 4

5. Hasil Analisis Kadar *Imunoglobulin E* (IgE)

Tabel 5. Hasil Analisis Kadar *Imunoglobulin E* (IgE)

Plate	Well	Sample	Original [Abs]	Fitted conc.
		P1	0.0935	**124.3631**
Plate 1	A01			
		P10	0.0766	**69.4780**
Plate 1	A08			
		P11	0.0798	**76.2711**

Plate 1	A09			
		P12	0.0946	**128.7781**
Plate 1	A10			
		P13	0.0697	**50.5900**
Plate 1	A11			
		P14	0.0852	**93.7535**
Plate 1	A12			
		P15	0.0929	**121.9913**
Plate 1	B01			
		P16	0.0863	**97.5440**
Plate 1	B02			
		P17	0.0846	**91.7192**
Plate 1	B03			
		P18	0.0806	**78.7452**
Plate 1	B04			
		P19	0.0919	**118.0947**
Plate 1	B05			
		P20	0.0879	**103.1998**
Plate 1	B06			
		P4	0.0968	**137.8709**
Plate 1	A02			
		P5	0.1	**151.7394**
Plate 1	A03			
		P6	0.084	**89.7081**
Plate 1	A04			
		P7	0.0818	**82.5312**
Plate 1	A05			
		P8	0.081	**79.9972**
Plate 1	A06			
		P9	0.0866	**98.5916**
Plate 1	A07			
		PT3	0.0842	**90.3759**
Plate 1	B07			
		PT4	0.1129	**216.0002**
Plate 1	**B08**			

Berdasarkan tabel 5., kadar Imunoglobulin E (IgE) diukur menggunakan ELISA READER, seperti yang ditunjukkan pada tabel di atas, yang dimana kadar minimal yaitu 50.5900 ng/mL dan kadar maksimalnya 216.0002 ng/mL.

6. Hasil Kadar *Imunoglobulin E* (IgE) pada Subjek Penelitian

Tabel 6. Kadar Imunoglobulin (IgE) pada subjek penelitian

Variabel	Kadar tertinggi Imunoglobulin E (ng/mL)	Kadar terendah Imunoglobulin E (ng/mL)	N	p-value
Imunoglobulin E (IgE)	216.0002	50.5900	20	1.000

Berdasarkan tabel 6., kadar *Imunoglobulin E* diukur menggunakan ELISA READER sebagaimana data yang disajikan dalam bentuk kurva absorbansi dari nilai absorbansi terendah (50.5900) dan tertinggi (216.0002) disajikan dalam bentuk tabel, hasil *Imunoglobulin E* dapat dilihat pada tabel 6.

7. Hasil Uji kolerasi Imunoglobulin E (IgE) dengan jumlah telur cacing *Soil Transmitted Helmint* (STH)

Tabel 7. Kolerasi kadar Imunoglobulin E dengan Jumlah telur cacing *Soil Transmitted Helmint* (STH)

Variabel	Uji kolerasi (p)	Koefisian kolerasi (r)	Keterangan
IgE Telur Cacing	0.000	1.000	Signifikan

Berdasarkan tabel 7., pada uji kolerasi menggunakan uji kolerasi spearman, menunjukkan adanya hubungan secara signifikan antara kadar Imunoglobulin E dengan jumlah telur cacing dengan nilai p. value 0.000 karena nilai p-value < 0.05.

DISKUSI

Berdasarkan tabel 1 karakteristik responden berdasarkan usia > 30 tahun sebanyak 12 orang (60%) dan < 30 tahun sebanyak 8 orang (40%). Berdasarkan jenis kelamin yaitu laki-laki berjumlah 9 orang (45%) dan perempuan 11 orang (55%). Sedangkan berdasarkan pekerjaan yaitu petani sebanyak 2 orang (10%), pemulung sebanyak 11 orang (55%) dan pengangkut sampah sebanyak 7 orang (35%). Secara keseluruhan, karakteristik subjek menunjukkan dominasi kelompok usia > 30 tahun, dengan porporsi jenis kelamin yang lebih banyak perempuan dan pekerjaan yang didominasi oleh pemulung.

Berdasarkan tabel 2 hasil pemeriksaan mikroskopis telur cacing *Soil Transmitted Helmint* (STH) yaitu dimana penelitian ini dilakukan terhadap 20 sampel, dengan 18 diantaranya terinfeksi telur cacing STH, dua sampel digunakan sebagai control sehat untuk membandingkan hasil. Dimana hasil teringgi pada P20 jumlah telur cacing 412 (58.857) dan terendah pada P10 dan P13 yang tidak terinfeksi telur cacing dan dijadikan sebagai control sehat. Berdasarkan tabel 3 hasil pengamatan mikroskopis jenis telur cacing *Soil Transmittes Helmint* (STH), terdapat tiga jenis yang didapatkan dalam pengamatan yaitu pada sampel P4,P5,P6,P7,P8,P9,P11,P12,P116,PT3 dan PT4 didapatkan jenis *Ascaris lumbricoides* dengan bentuk oval dengan permukaan yang khas seperti berbintik dan bagian dinding luas seperti bergerigi, pada sampel P1,P14,P15,P18,P19 dan P20 didapatkan ko-infeksi antara jenis *Ascaris lumbricoides* + *Trichuris trichuris* dengan bentuk lebih Panjang dan ramping dengan dua ujung yang lebih lancip, sedangkan pada sampel P17 didapatkan ko-infeksi antara jenis *Ascaris lumbricoides* + *Trichuri trichuria* + *Ancylostoma duodenale* bentuk oval memiliki permukaan yang halus dan terlihat embrio yang berkembang di dalam.

Berdasarkan tabel 4 presentase jenis telur cacing *Soil Trasmitted Helmint* (STH), terdapat tiga katagori yaitu jenis *Ascaris lumbricoides*

dengan jumlah tertinggi pada 12 sampel dengan presentase (66,67%), kemudian jenis *Ascaris lumbricoides + Trichuris trichuria* 8 sampel dengan presentase (33,33%) hal ini menunjukkan adanya ko-infeksi yang dimana individu terinfeksi lebih dari satu jenis cacing, dan jenis *Ascaris lumbricoides + Trichuris trichuria + Ancylostoma duodenale* 1 sampel dengan presentase (5,56%) ko-infeksi ini lebih jarang ditemukan dibantingkan dengan jenis cacing lainnya. Total keseluruhan yang terinfeksi yaitu 18 sampel, dengan total presentase 100% dengan jenis cacing yang paling dominan diantaranya yaitu *Ascaris lumbricoides*. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh (Situmorang dkk., 2023) yang dinama cacing jenis *Ascaris lumbricoides* merupan jenis cacing yang paling dominan ditemukan karena lebih cepat berkembang biak.

Berdasarkan tabel 5 Kadar *Imunoglobulin E* (IgE) diukur menggunakan ELISA READER, yang dimana kadar minimal yaitu 50.5900 ng/mL didapatkan dari sampel yang tidak terinfeksi telur cacing dan kadar maksimalnya 216.0002 ng/mL didapatkan pada sampel yang memiliki nilai tertinggi terinfeksi telur cacing.

Berdasarkan tabel 6 kadar *Imunoglobulin E* (IgE) pada subjek penelitian menggunakan ELISA (*Enzym Linked Immunoassay)* dengan prinsip ikatan antigen dan antibody, dimana dilakukan uji *Binomial test* karena data yang didapatkan dari hasil normalitas berdistribusi tidak normal. Hasil menunjukkan kadar IgE tertinggi mencapai 216.0002 ng/ml dan kadar terendah 50.5900 ng/ml. hasil uji menggunakan *Binomial test* didapatkan P- value yang dihasilkan adalah 1.000 yang menunjukkan hasil tidak signifikan secara statistic karena P-value yang lebih dari 0,05 menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan kadar IgE antara subjek yang diteliti.

Berdasarkan tabel 7 dilakukan uji kolerasi kadar Imunoglobulin E (IgE) dengan Jumlah telur cacing *Soil Transmitted Helmint* (STH) dimana dilakukan uji kolerasi spearman karena data yang didapatkan dari hasil normalitas berdistribusi tidak normal. Hasil kolerasi yang didapatkan (P-

value = 0.000). Hal ini menunjukkan bahwa kolerasi antara kadar Imunoglobin E (IgE) dan jumlah kasus terinfeksi telur cacing *Soil Transmitted Helmint* (STH) signifikan, karena P-value < 0,05. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan (Apsari, 2018) yaitu dimana intensitas infeksi STH memiliki hubungan yang signifikan dengan kadar IgE.

Respon imunitas terhadap parasit cacing di perantarai oleh *Imunoglobulin- E* (IgE). Dimana sel dendritik dan makrofag berperan pada tahap ini yang akan datang mendekat ke daerah infeksi. Antigen dari cacing dan memberi sinyal kepada sel B naif untuk memberikan respon. Kemudian sel B naif akan teraktifasi menjadi *T-helper 2* (Th2). Th2 akan mengeluarkan Interleukin (IL) seperti IL-4 dan IL-5. IL-4 akan memberikan sinyal kepada sel B untuk mengeluarkan IgE (Putra dkk., 2022).

Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopik yang dilakukan menggunakan metode Kato-katz terdeteksi telur jenis cacing *Soil Trasmitted Helmint* (STH) yaitu jenis *Ascaris lumbrocoides, Trichuris trichuria* dan *Ancylostoma duodenale* pada pekerja petani, pemulung dan pengangkut sampah.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengukuran kadar Imunoglobulin E (IgE) yang dilakukan hasil yang diperoleh yaitu hasil menunjukkan kadar IgE tertinggi mencapai 216.0002 ng/mL dan kadar terendah 50.5900 ng/mL.

Dilakukan uji kolerasi kadar Imunoglobulin E (IgE) dengan jumlah telur cacing *Soil Transmitted Helmint* (STH), hasil kolerasi yang didapatkan (P-value = 0.000). Hal ini menunjukkan bahwa kolerasi antara kadar Imunoglobin E (IgE) dan jumlah kasus terinfeksi telur cacing *Soil Transmitted Helmint* (STH) signifikan, karena nilai (P-value < 0,05).

UCAPAN TERIMAKASIH

Melalui kesempatan ini, peneliti mengucapkan rasa hormat serta terima kasih yang setinggi-tingginya terkhusus kepada kedua orang tua

peneliti yang tak hentinya memberikan do'a, semangat, dan dukungan kepada peneliti baik dari segi moril maupun materil.

1. Nirmawati Angria selaku Pembimbing penelitian.
2. Laboran Universitas Megarezky yang telah mengarahkan saat proses penelitian.
3. Pihak-pihak yang telah banyak membantu yang tidak bisa peneliti sebutkan satu per satu.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan baik dalam proses penelitian maupun penyusunan naskah ini. Penelitian ini belum pernah dipublikasikan di media manapun.

REFRENSI

Anwar, E. N., & Dewi, D. C. (2024). Respon Imun Adaptif Seluler Dengan Infeksi Ascaris Lumbricoides Pada Ibu Hamil Di Desa Srikuncoro Bengkulu Tengah. *Jurnal Ilmiah Pharmacy*, *11*(1), 31–42.

Apsari, P. I. B. (2018). *Tesis Hubungan Kadar IgE Total, Jumlah Eosinofil Dan Basofil Dengan Intensitas Infeksi Ascaris lumbricoides, Trichuris Trichiura DAN Hookworm Pada Petani Di Kabupaten Klungkung, Provinsi Bali*.

Arin, O., Retno, S., & Anita Dwi, A. (2021). Hubungan Kejadian Infeksi *Soil transmitted helminths* (STH) dengan Nilai Eosinofil Dan Hemoglobin Darah pada Masyarakat Di Kampung 1001 Malam Surabaya. *Analis Kesehatan Sains*, *10*(2), 12–18. https://doi.org/10.36568/anakes.v10i2.19

Halleyantoro, R., Riansari, A., & Dewi, D. P. (2019). Insidensi Dan Analisis Faktor Risiko Infeksi Cacing Tambang Pada Siswa Sekolah Dasar Di Grobogan, Jawa Tengah. *Jurnal Kedokteran Raflesia*, *5*(1), 18–27. https://doi.org/10.33369/juke.v5i1.8927

Jannah, R. M., & Haryatmi, D. (2023). Identifikasi *Soil Transmitted Helminth* (STH) Pada Petugas Sampah Di Kecamatan Ciputat Kota Tangerang Selatan. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, *5*(2), 26–31.

Lutur, N., Hartati, & Sulfiani. (2024). Deteksi Telur Cacing (Sth) Pada Feses

Pemulung Yang Tinggal Di TPA Tamangapa Antang. *Journal of Biogical Science*, *6*(2), 1–7.

Prabandari, A. S., Sari, A. N., & Ahtamagara, A. F. (2023). Infeksi Nematoda Usus pada Petani di Kabupaten Sukoharjo Jawa Tengah dan Faktor yang Mempengaruhinya. *Indonesian Journal on Medical Science*, *10*(2). https://doi.org/10.55181/ijms.v10i2.432

Putra, I. M. C. D., Sumardika, I. N. G., Pramana, I. M. D., & Sari, N. L. P. S. K. (2022). Non-eosinofilia pada Infeksi Trichuris trichiura: sebuah laporan kasus. *Intisari Sains Medis*, *13*(1), 171–174. https://doi.org/10.15562/ism.v13i1.1277

Rengganis, R. A. (2012). *Perbandingan respon imun adaptif selular infeksi Ascaris lumbricoides dan Wuchereria bancrofti pada ibu hamil*.

Situmorang, P. R., Sihombing, R. A. K., & Hutabarat, Y. B. (2023). Identifikasi Morfologi Cacing STH (Soil Transmintted Helminth) Pada Kuku Anak Sd Yayasan Betania Tahun 2023. *Jurnal Kesehatan Tambusai*, *4*(3), 3152–3158.

Sorisi, A. M. H., Sapulete, I. M., & Pijoh, V. D. (2019). Prevalensi infeksi cacing usus soil transmitted helminths pada orang dewasa di Sulawesi Utara. *Jurnal Kedokteran Komunitas Dan Tropik*, *7*(2), 281–284.

Trasia, R. F. (2023). Epidemiological Review: Mapping Cases and Prevalence of Helminthiasis in Indonesia on 2020-2022. *International Islamic Medical Journal*, *4*(2), 37–50. https://doi.org/10.33086/iimj.v4i2.4172

WHO. (2023). *WHO*. World Health Organization. https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/soil-transmitted-helminth-infection

ANALISIS PENGARUH PERBEDAAN GOLONGAN DARAH MANUSIA TERHADAP PRODUKTIVITAS TELUR DAN LARVA NYAMUK *Aedes aegypti* STRAIN KOTA KENDARI

Sri Aprilianti Idris[1]* · Darmayanita Wenty[1]· Rostika[1]· Susanti[1]· Muhammad Sultanul Aulya[1] · Fika[1] · Firly Sahara[1]

[1] Bina Husada Kendari, Sulawesi Tenggara, Indonesia

e-Mail: sriaprilianti.aakkdi@gmail.com
No Tlp WA : 081343868806

Abstract

Aedes aegypti is the primary vector of dengue fever, reproducing through an oviposition process in aquatic environments. The egg productivity of female mosquitoes is strongly influenced by the source of blood they consume. This study aimed to analyze the effect of human blood type variations on the egg productivity of Aedes aegypti. The research was conducted experimentally using adult female mosquitoes fed with human blood of types A, B, AB, and O, each with three replications. After the blood-feeding process, the number of eggs and larvae produced was counted, and the data were analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA) to determine significant differences among treatments. The results showed that mosquitoes fed on blood type AB produced the highest number of eggs and larvae, with an average of 431 eggs and 187 larvae, followed by blood types O, B, and A. However, statistical analysis showed F-values for eggs = 0.766 (p = 0.544) and for larvae = 0.299 (p = 0.825), indicating no significant differences (p > 0.05). In conclusion, variations in human blood type had no significant effect on the egg or larval productivity of Aedes aegypti.
***Keywords**: Aedes aegypti, blood type, egg productivity, dengue fever.*

Abstrak

Aedes aegypti merupakan vektor utama penyebab penyakit demam berdarah dengue (DBD) yang berkembang biak melalui proses bertelur di lingkungan perairan. Produktivitas telur nyamuk betina sangat dipengaruhi oleh sumber darah yang dikonsumsi. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh variasi golongan darah manusia terhadap produktivitas telur *Aedes aegypti*. Metode penelitian yang digunakan bersifat eksperimental dengan menggunakan nyamuk betina dewasa yang diberi pakan berupa darah manusia bergolongan darah A, B, AB, dan O, masing-masing dengan tiga kali ulangan. Setelah proses pemakanan darah, jumlah telur dan larva yang dihasilkan dihitung, kemudian data dianalisis menggunakan analisis varians (ANOVA) satu arah untuk mengetahui adanya perbedaan signifikan antarperlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nyamuk yang mengonsumsi darah golongan AB menghasilkan jumlah telur dan larva tertinggi, yaitu rata-rata 431 butir telur dan 187 larva, disusul oleh golongan darah O, B, dan A. Namun, hasil uji statistik menunjukkan nilai Fhitung telur = 0,766 (p = 0,544) dan Fhitung larva = 0,299 (p = 0,825), sehingga tidak terdapat perbedaan signifikan (p > 0,05). Kesimpulannya, variasi golongan darah manusia tidak berpengaruh nyata terhadap produktivitas telur maupun larva *Aedes aegypti*.
Kata kunci: *Aedes aegypti*, golongan darah, produktivitas telur, demam berdarah dengue.

PENDAHULUAN

Nyamuk *Aedes aegypti* merupakan vektor utama penyakit demam berdarah dengue (DBD), chikungunya, dan zika yang hingga kini masih menjadi permasalahan kesehatan masyarakat di berbagai wilayah tropis, termasuk Indonesia (WHO, 2024). Penyakit yang ditularkan oleh nyamuk ini menunjukkan

tingkat morbiditas dan mortalitas yang tinggi, terutama di daerah dengan kepadatan penduduk dan sanitasi yang kurang baik. Kota Kendari, sebagai salah satu wilayah endemis DBD di Sulawesi Tenggara, sering mengalami peningkatan kasus setiap tahunnya, terutama pada musim penghujan ketika populasi nyamuk berkembang pesat.

Faktor-faktor yang memengaruhi perkembangbiakan dan produktivitas nyamuk *A.aegypti* cukup kompleks, meliputi kondisi lingkungan, suhu, kelembaban, sumber pakan darah, serta kemampuan fisiologis nyamuk betina dalam menghasilkan telur (Reinhold *et al.*, 2018). Salah satu faktor penting yang menarik untuk diteliti adalah pengaruh perbedaan golongan darah manusia terhadap produktivitas telur dan larva nyamuk. Golongan darah manusia (A, B, AB, dan O) memiliki perbedaan dalam komposisi antigen dan kadar protein plasma (Syaravicena *et al.*, 2023), yang dapat memengaruhi preferensi nyamuk saat mengisap darah serta efisiensi konversi darah menjadi energi untuk pembentukan telur.

Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa *A.aegypti* memiliki kecenderungan tertentu terhadap golongan darah manusia. Beberapa studi melaporkan bahwa nyamuk lebih tertarik pada golongan darah O dibandingkan A atau B, sementara penelitian lain menunjukkan hasil yang bervariasi tergantung pada strain nyamuk dan kondisi lingkungan. Namun, belum banyak penelitian yang secara khusus mengkaji pengaruh perbedaan golongan darah terhadap produktivitas telur dan larva *A.aegypti* strain lokal, seperti di Kota Kendari, yang mungkin memiliki karakteristik biologis berbeda akibat adaptasi terhadap lingkungan setempat.

Kajian mengenai hubungan antara golongan darah manusia dan produktivitas telur *A.aegypti* sangat penting, tidak hanya untuk memahami aspek biologis nyamuk, tetapi juga untuk mendukung strategi pengendalian vektor yang lebih efektif. Jika diketahui bahwa jenis golongan darah tertentu dapat meningkatkan produktivitas nyamuk, maka informasi tersebut dapat menjadi dasar dalam pengembangan pendekatan pencegahan berbasis perilaku dan lingkungan, seperti pemilihan donor pakan darah untuk penelitian, atau strategi pengendalian populasi nyamuk di daerah endemis (Jaramillo-Ramirez *et al.*, 2025).

Dengan demikian, penelitian ini berfokus pada analisis pengaruh perbedaan golongan darah manusia terhadap produktivitas telur dan larva nyamuk *A.aegypti* strain Kota Kendari. Melalui penelitian ini diharapkan dapat diperoleh gambaran yang lebih jelas mengenai hubungan antara faktor fisiologis inang dan kemampuan reproduksi vektor penyakit, yang selanjutnya dapat berkontribusi dalam upaya pengendalian penyakit berbasis vektor di tingkat lokal maupun nasional.

BAHAN DAN METODE

Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi golongan darah manusia terhadap produktivitas telur *A.aegypti* strain Kota Kendari. Eksperimen dilakukan di Laboratorium Parasitologi Politeknik Bina Husada Kendari dalam kondisi terkontrol, baik dari segi suhu, pencahayaan, maupun waktu perlakuan, untuk memastikan hasil yang akurat dan dapat direplikasi.

Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan adalah 300 ekor nyamuk *A.aegypti* betina dewasa berumur 1–2 minggu, hasil kolonisasi di Laboratorium Parasitologi Politeknik Bina Husada Kendari. Seluruh nyamuk dibagi menjadi empat kelompok perlakuan berdasarkan jenis golongan darah yang akan diberikan, yaitu golongan darah A, B, AB, dan O. Setiap kelompok terdiri dari tiga kali ulangan *(triplo)* untuk memastikan keandalan data hasil penelitian.

Donor Darah

Darah manusia yang digunakan sebagai pakan nyamuk diperoleh dari 12 orang sukarelawan sehat berusia 19–21 tahun dengan berat badan 45–50 kg, terdiri dari 1 laki-laki dan 11 perempuan. Setiap golongan darah (A, B, AB, dan O) diwakili oleh tiga orang pendonor yang berbeda. Pengambilan darah dilakukan secara langsung melalui proses pengisapan oleh nyamuk dengan pengawasan ketat di lingkungan laboratorium.

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *chamber* sebanyak 12 buah, ovitrap sebanyak 12 buah, nampan sebanyak 12 buah, kain penutup berwarna hitam, pipet tetes, aspirator, mikroskop *stereo*, *hand tally counter*, pulpen,

kertas dan *stopwatch*.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *A.aegypti* betina yang berusia 1-2 minggu sebanyak 300 ekor, kertas label, air, kertas saring, golongan darah A sebanyak 3 orang, golongan darah B sebanyak 3 orang, golongan darah AB sebanyak 3 orang dan golongan darah O sebanyak 3 orang.

Prosedur Penelitian

Masing-masing golongan darah dilakukan perlakuan sebanyak tiga kali, *chamber* sebanyak 12 buah yang telah terisi dengan *A.aegypti* betina. Pada masing-masing *chamber* berisi 25 ekor *A.aegypti* diberi makan darah, tangan dimasukkan kedalam *chamber* selama 10 menit, jumlah nyamuk yang hinggap dan makan darah di hitung secara terpisah setiap 5 menit. Selanjutnya pada masing-masing *chamber* diberi ovitrap dan didiamkan hingga bertelur selama 2 x 24 jam. *Chamber* ditutup menggunakan kain berwarna hitam. Dilanjutkan dengan perendaman telur pada nampan yang berisi air selama 2 x 24 jam dan dilakukan perhitungan jumlah larva. Semua perlakuan dilakukan dalam kondisi laboratorium dan waktu yang sama untuk meningkatkan akurasi hasil.

Analisa Data

Hasil yang diperoleh pada penelitian pengaruh variasi golongan darah terhadap produktivitas telur dan larva *A.aegypti* strain kota Kendari yang dilaksanakan 1 April – 7 Juli 2023 di Laboratorium Parasitologi Politeknik Bina Husada Kendari disajikan pada Tabel 1.

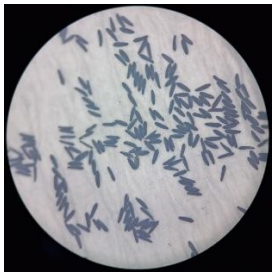
HASIL

Tabel 1. Hasil produktivitas telur dan larva *A.aegypti*

Sampel	Perlakuan	Produktivitas		Jumlah		Rata-rata		Jumlah (%)	
		Telur	Larva	Telur	Larva	Telur	Larva	Telur	Larva
Gol. Darah A	P1	305	124	889	392	296	131	21	22
	P2	268	110						
	P3	316	158						
Gol. Darah B	P1	332	139	999	395	333	132	24	23
	P2	233	124						
	P3	434	132						

Sampel	Perlakuan	Produktivitas		Jumlah		Rata-rata		Jumlah (%)	
		Telur	Larva	Telur	Larva	Telur	Larva	Telur	Larva
Gol. Darah AB	P1	338	127	1292	560	431	187	31	32
	P2	310	73						
	P3	644	360						
Gol. Darah O	P1	432	217	1052	413	351	138	25	24
	P2	284	82						
	P3	366	114						
Total				4232	1749	1411	584	100	100

Berdasarkan hasil pengamatan diperoleh bahwa nyamuk yang diberi darah bergolongan AB menghasilkan jumlah telur dan larva tertinggi, yaitu rata-rata, 431 butir telur dan 187 larva dengan persentase 31% dan 32% dari total produksi. Sementara itu, produktivitas terendah ditemukan pada perlakuan dengan golongan darah A, dengan rata-rata 296 butir telur dan 131 larva (21% dan 22%). Golongan darah O dan B menunjukkan hasil menengah dengan rata-rata telur 351 dan 333 butir serta larva 138 dan 132 ekor.



Gambar 1. Telur nyamuk *Aedes aegypti*



Gambar 2. Larva nyamuk *Aedes aegypti*

Tabel 2. Hasil output analisa data menggunakan *one way* ANOVA pada pengaruh variasi golongan darah terhadap produktivitas telur *Aedes aegypti* ANOVA

	Jumlah Penyimpangan	Derajat Kebebasan	Rata-rata Penyimpangan	F Hitung	F Tabel
Antar Kelompok	29049,667	3	9683,222	0,766	0,544
Dalam Kelompok	101120,000	8	12640,000		
Total	130169,667	11			

Berdasarkan hasil analisis data menggunakan uji *One Way* ANOVA terhadap pengaruh variasi golongan darah manusia terhadap produktivitas telur *Aedes aegypti* strain Kota Kendari, diperoleh nilai F hitung sebesar 0,766 dan F tabel sebesar 0,544. Hasil ini menunjukkan bahwa nilai F hitung lebih besar dibandingkan F tabel, namun perbedaannya tidak signifikan secara statistik

karena masih berada di bawah tingkat kepercayaan yang umum digunakan (p > 0,05).

DISKUSI

Berdasarkan hasil diatas, diperoleh data bahwa nyamuk *A.aegypti* yang memperoleh pakan darah bergolongan AB menghasilkan jumlah telur dan larva paling tinggi dengan rata-rata 431 butir telur dan 187 larva. Sebaliknya, nyamuk yang diberi pakan darah bergolongan A menunjukkan produktivitas terendah dengan rata-rata 296 butir telur dan 131 larva.

Hasil tersebut menunjukkan bahwa perbedaan golongan darah manusia tidak menjadi faktor dominan yang memengaruhi proses reproduksi nyamuk. Faktor lain seperti kondisi fisiologis nyamuk, umur, suhu, kelembapan, dan kualitas lingkungan laboratorium kemungkinan memiliki peranan yang lebih besar terhadap produktivitas telur dan larva (Ezeakacha & Yee, 2019). Penelitian yang dilakukan oleh (Galhena *et al*., 2023) juga menyatakan bahwa perbedaan jenis golongan darah manusia tidak memberikan pengaruh signifikan terhadap jumlah telur yang dihasilkan oleh nyamuk *A.aegypti*, karena variasi jumlah telur lebih banyak dipengaruhi oleh faktor fisiologis dan lingkungan dibandingkan komposisi darah inang itu sendiri. Hasil penelitian ini juga mendukung temuan (Rumbiwati & Trimuratno, 2020) yang menjelaskan bahwa kemampuan nyamuk betina dalam menghasilkan telur lebih banyak ditentukan oleh kandungan protein dan hemoglobin dalam darah yang berperan dalam proses vitelogenesis, bukan oleh antigen golongan darah.

Secara fisiologis, proses pembentukan telur pada nyamuk *A.aegypti* melibatkan pemanfaatan protein darah untuk membentuk kuning telur (*yolk*) melalui mekanisme vitelogenesis di ovarium (Rumbiwati & Trimuratno, 2020). Dengan demikian, tingginya jumlah telur pada perlakuan dengan darah bergolongan AB dalam penelitian ini dapat diinterpretasikan sebagai variasi biologis alami nyamuk, bukan akibat langsung dari perbedaan jenis antigen atau komponen kimia darah.

Selain faktor fisiologis nyamuk, kondisi lingkungan laboratorium juga berperan penting dalam menentukan produktivitas telur dan daya tetas larva. (Reinhold *et al*., 2018) menegaskan bahwa faktor eksternal seperti suhu, kelembapan, durasi pemberian pakan darah, serta frekuensi kawin nyamuk betina berpengaruh besar terhadap keberhasilan reproduksi *A.aegypti*. Oleh

karena itu, perbedaan hasil antar penelitian kemungkinan besar dipengaruhi oleh perbedaan kondisi lingkungan maupun strain nyamuk yang digunakan, karena setiap populasi nyamuk dapat beradaptasi secara genetik terhadap lingkungan asalnya.

Dengan hasil analisis dan dukungan teori dari berbagai penelitian terdahulu, dapat disimpulkan bahwa meskipun terdapat variasi jumlah telur dan larva antar golongan darah manusia, perbedaan tersebut tidak signifikan secara statistik. Hal ini mengindikasikan bahwa komposisi antigen golongan darah tidak secara langsung menentukan kemampuan reproduksi nyamuk *A.aegypti*. Sebaliknya, faktor lingkungan, kondisi fisiologis nyamuk, serta kandungan protein darah secara umum memiliki pengaruh yang lebih besar terhadap produktivitas telur dan larva (Barek *et al*., 2020).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, variasi golongan darah manusia tidak berpengaruh signifikan terhadap produktivitas telur dan larva *A.aegypti*. Temuan ini menegaskan bahwa *A.aegypti* mampu memanfaatkan berbagai jenis darah manusia tanpa memengaruhi kemampuan reproduksinya.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Politeknik Bina Husada Kendari, yang telah memberikan dukungan dan fasilitas sehingga penelitian dapat diselesaikan dengan baik.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan bahwa tidak terdapat konflik kepentingan dalam penelitian berjudul *"Pengaruh Variasi Golongan Darah Manusia terhadap Produktivitas Telur Aedes aegypti Strain Kota Kendari di Laboratorium."* Seluruh proses penelitian, analisis data, dan penyusunan naskah dilakukan secara independen tanpa adanya pengaruh dari pihak manapun yang dapat memengaruhi hasil atau kesimpulan penelitian ini.

REFRENSI

Barek, L. M. A., Pitang, Y., & Herminsih, A. (2020). Faktor Lingkungan dan Perilaku dengan kejadian Demam Berdarah Dengue (DBD) di Dusun Kampung Baru Desa Magepanda Wilayah Kerja Puskesmas Magepanda Kabupaten Sikka. *Jamhesic*, 85–92.

Ezeakacha, N. F., & Yee, D. A. (2019). The role of temperature in affecting carry-over effects and larval competition in the globally invasive mosquito Aedes albopictus. *Parasites and Vectors*, *12*(1), 1–11. https://doi.org/10.1186/s13071-019-3391-1.

Galhena, G., Ganehiarachchi, G., Gunathilaka, R., & Jayatunga, D. P. W. (2023). Effect of ABO and Rh blood groups on host preference, oviposition success, and development of laboratory-reared Aedes aegypti. *International Journal of Tropical Insect Science*, *43*(1), 51–60.

Jaramillo-Ramirez, G. I., Budhwar, S., Ford, E., Parra-Henao, G., Cortes-Gonzalez, L. F., Saldarriaga-Gomez, L. A., & Jones, R. T. (2025). Social perception and environmental risk factors for dengue in an endemic municipality in eastern Colombia: a mixed method study. *Scientific Reports*, *15*(1), 12736. https://doi.org/10.1038/s41598-025-96549-8.

Reinhold, J. M., Lazzari, C. R., & Lahondère, C. (2018). Effects of the Environmental Temperature on Aedes aegypti and Aedes albopictus Mosquitoes: A Review. *Insects*, *9*(4). https://doi.org/10.3390/insects9040158.

Rumbiwati, R., & Trimuratno, J. (2020). Pemanfaatan Telur Ayam Sebagai Pengganti Darah dalam Mematangkan Telur Nyamuk Aedes aegypti. *Indonesian Journal of Laboratory*, *3*(1), 1–5.

Syaravicena, D., Jayanthi, S., Ramadila, A., Sapitri, S. N., Annisa, V., & Mentiasari, C. S. (2023). Identification of Blood Types of Biology Education Students at Samudra University. *Jurnal Biologi Tropis*, *23*(1), 499–504.

WHO. (2024). *Demam Berdarah-Situasi Global*.

DETEKSI *Plasmodium falciparum* DAN *Plasmodium vivax* PADA PENDERITA PASCA INFEKSI MALARIA DENGAN MENGGUNAKAN METODE *MULTIPLEX POLYMERASE CHAIN REACTION*

Muhammad Arul Ramadhani[1] * · Nabila Putir Salsabila[1] · Ka'bah[1]

[1] Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Teknologi Kesehatan, Universitas Megarezky, Sulawesi Selatan, Indonesia

e-Mail : arul04ramadhan@gmail.com
No Tlp WA : 082198420590

Abstract

Malaria is an infection caused by the Plasmodium Sp parasite, including Plasmodium falciparum, Plasmodium vivax, Plasmodium ovale, Plasmodium malariae, and Plasmodium knowlesi. Female Anopheles mosquitoes spread malaria through their bites. Malaria is still a problem in Mimika Regency, Central Papua Province is still endemic to malaria with the dominance of two species of Plasmodium falciparum and Plasmodium vivax. The purpose of this study was to detect Plasmodium falciparum and Plasmodium vivax in patients with post-malaria infection. This study used the Multiplex Polymerase Chain Reaction method, which is proven to be more sensitive than conventional methods. This study was conducted at the HUMRC Laboratory of Hasanuddin University. The results showed that of the 17 samples used, two of them showed Plasmodium vivax with a target band of 121 bp; However, DNA measuring 205 bp indicating Plasmodium falciparum was not found, so all samples were declared negative for this type. The results of this study indicate that only Plasmodium vivax was found in samples of patients who had recovered from malaria infection in Mimika Regency, while Plasmodium falciparum was not found. This shows the importance of molecular detection to unite malaria infections and assist in disease control in areas where the disease is very common.

Keywords : Malaria, Multiplex PCR, Post-infection, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*

Abstrak

Malaria adalah infeksi yang disebabkan oleh parasit *Plasmodium Sp*, termasuk *Plasmodium falciparum, Plasmodium vivax, Plasmodium ovale, Plasmodium malariae, dan Plasmodium knowlesi*. Nyamuk *Anopheles* betina menyebarkan malaria dengan gigitannya. Malaria masih menjadi masalah di Kabupaten Mimika, Provinsi Papua Tengah masih endemis malaria dengan dominasi dua spesies *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium vivax*. Adapun tujuan penelitian ini untuk mendeteksi *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium vivax* pada penderita pasca infeksi malaria. Penelitian ini menggunakan metode *Multiplex Polymerase Chain Reaction* yang dimana metode ini terbukti lebih sensitif dibanding metode konvensional. Adapun penelitian ini dilakukan di Laboratorium *HUMRC* Universitas Hasanuddin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 17 sampel yang digunakan, dua diantaranya menunjukkan *Plasmodium vivax* dengan target band 121 bp; Namun, DNA berukuran 205 bp yang menunjukkan *Plasmodium falciparum* tidak ditemukan, sehingga seluruh sampel dinyatakan negatif untuk jenis ini. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa hanya *Plasmodium vivax* yang ditemukan pada sampel pasien yang telah pulih dari infeksi malaria di Kabupaten Mimika, sementara *Plasmodium falciparum* tidak ditemukan. Hal ini menunjukkan pentingnya deteksi molekuler untuk menyatukan infeksi malaria dan membantu dalam pengendalian penyakit di wilayah dimana penyakit tersebut sangat umum .

Kata Kunci : Malaria, *Multiplex PCR*, Pasca infeksi, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*

PENDAHULUAN

Malaria disebabkan oleh *Plasmodium Sp*. dan menyebar melalui gigitan nyamuk *Anopheles* betina. *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale, Plasmodium vivax, dan Plasmodium falciparum*, atau *Plasmodium knowlesi* adalah empat jenis *Plasmodium* malaria. Penyakit malaria terjadi di daerah tropis dan subtropis, di mana sekitar 2,3 miliar orang, atau 41% dari total penduduk dunia, rentan terhadap tertular. (Gasong dkk., 2024).

Laporan dari *World Health Organization* (WHO) mengatakan bahwa diperkirakan terdapat 249 juta kasus malaria di seluruh dunia pada tahun 2023. Laporan tersebut juga menyoroti bahwa Indonesia menyumbang sekitar 94 persen kematian akibat malaria di wilayah Asia Tenggara yang dipantau oleh WHO. Pada tahun 2023, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (Kemenkes RI) melakukan upaya penghapusan penyakit malaria di tingkat kabupaten/kota. Dari 514 kabupaten/kota yang diuji, 372 berhasil mengeliminasi malaria, yang berarti sekitar 72% dari total kematian pada tahun 2022. harapan kita, pada tahun 2024, Indonesia dapat mencapai target eliminasi malaria sebesar 90% (Arisjulyanto dkk., 2024)..

Data kasus malaria di Provinsi Papua Tengah, khususnya di Kabupaten Mimika, menunjukkan bahwa ada perbedaan dalam jumlah kasus Plasmodium masing-masing jenis di tahun 2023 dan 2024. *Plasmodium falciparum (Pf), Plasmodium vivax (Pv), Plasmodium ovale (Po), Plasmodium malariae (Pm)*, dan kasus campuran *(Plasmodium mix)*.

Pada tahun 2023, tercatat bahwa kasus malaria tertinggi disebabkan oleh *Plasmodium vivax*, dengan jumlah mencapai 63.650 kasus, diikuti oleh *Plasmodium falciparum* yang mencatatkan 59.893 kasus. Namun, pada tahun 2024, terjadi perubahan yang signifikan jumlah kasus *Plasmodium falciparum* melonjak drastis menjadi 77.567 kasus, sementara kasus *Plasmodium vivax* justru mengalami penurunan menjadi 59.650 kasus. Peningkatan jumlah kasus *Plasmodium falciparum* ini menunjukkan kecenderungan yang mengarah pada dominasi jenis parasit tersebut dalam penularan malaria.

Di samping penurunan kasus secara keseluruhan, kasus *Plasmodium ovale* turun dari 190 pada tahun 2023 menjadi 82 pada tahun 2024. Hal yang sama juga terlihat pada *Plasmodium malariae*, yang turun dari 7.938 menjadi 7.168 kasus. Penurunan ini mungkin mencerminkan efektivitas intervensi atau

perubahan ekologi yang berpengaruh terhadap vektor pengangkut parasit tersebut.

Di sisi lain, kasus malaria campuran *(Plasmodium mix)* justru mengalami peningkatan, dari 14.071 menjadi 16.931 kasus Itu menunjukkan bahwa infeksi ganda dari lebih dari satu jenis *Plasmodium* masih menjadi tantangan yang signifikan dan memerlukan perhatian khusus dalam penanganannya. meskipun terdapat penurunan pada beberapa jenis *Plasmodium*, peningkatan yang signifikan pada kasus *Plasmodium falciparum* serta kasus campuran menunjukkan perlunya penguatan strategi pengendalian malaria yang lebih komprehensif. Terutama dalam hal deteksi dini dan pengobatan yang efektif terhadap kasus-kasus berisiko tinggi yang dapat mengalami komplikasi.

Dalam penelitian ini, jenis parasit yang akan diteliti dengan metode *multiplex PCR* adalah. adalah *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium vivax*. Kedua spesies ini dipilih karena sangat umum dan sering ditemukan di daerah Mimika, Papua. Oleh karena itu, dianggap lebih relevan dan spesifik untuk dipelajari. dibagian timur Indonesia, khususnya di Mimika Papua, daerah ini masih tergolong endemis malaria dan belum mencapai status eliminasi. Beberapa faktor, seperti cuaca yang tidak menentu, keberadaan rawa-rawa, dan luasnya hutan, turut berkontribusi secara signifikan terhadap penularan malaria di daerah Kabupaten Mimika, Papua. Kondisi cuaca di Mimika sulit diprediksi, sehingga menyulitkan upaya pencegahan penyakit yang berkaitan dengan faktor lingkungan seperti malaria. (Kurniawan dkk., 2024).

Masyarakat yang sudah di katakan positif malaria berdasarkan hasil pemeriksaan mikroskopik atau uji RDT yang ada di Kabupaten Mimika Papua, yang di mana diketahui malaria sembunyi di dalam sel hati untuk bertahan hidup dan menghindari sistem kekebalan tubuh. Oleh karena itu penelitian ini akan melakukan deteksi malaria *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium vivax* karena malaria tersebut lebih dominan di daerah yang endemik malaria dan belum ada pemeriksaan yang dilakukan oleh pemerintah dengan menggunakan metode molekuler, penggunaan metode ini juga memberikan kontribusi penting terhadap pengendalian dan eliminasi malaria karena memungkinkan penanganan yang lebih tepat dan berbasis bukti. dengan belum adanya penerapan metode molekuler oleh pemerintah setempat, penelitian ini dapat

menjadi dasar untuk pengembangan strategi diagnostik yang lebih efektif dalam mendukung program pengendalian malaria di Kabupaten Mimika.

Penyakit malaria biasanya diperiksa dengan mikroskopis untuk melihat bentuk parasit malaria. Selain itu, tes diagnostik cepat (RDT) malaria digunakan untuk mendeteksi infeksi secara cepat. RDT dapat menentukan apakah seseorang terinfeksi *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium* vivax, parasit penyebab malaria. untuk mengidentifikasi parasit DNA dan RNA , teknik biologi molekuler seperti *Polymerase Chain Reaction (PCR)* juga sering digunakan. Metode *Multiplex Polymerase Chain Reaction* dipilih untuk tujuan ini karena kemampuannya untuk mengidentifikasi berbagai spesies parasit malaria secara bersamaan. Metode ini tidak hanya memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang lebih tinggi, tetapi juga efisiensi waktu dan biaya yang lebih tinggi. Oleh karena itu, sangat disarankan untuk menggunakan *Multiplex Polymerase Chain Reaction* untuk pemeriksaan malaria.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu DNA cetakan hasil isolasi, Primer *Forward* : rFAL1 TTAAACTGGTTGGGAAAACCAAATAT, Primer *Reverse* : rFAL2 ACACAATGAACTCAATCATGACTACCC (*Plasmodium falciparum* 206 bp)

Membo, H. K.dkk, (2018). Primer *Forward* : rVIV1 CGCTTCTAGCTTAATCCACATAACTGA, Primer *Reverse*: rVIV2 ACTTCCAAGCCGAAGCAAAGAAAGTCC (*Plasmodium vivax* 121 bp), Membo, H. K.dkk, (2018). tip Steril (Art) 100µL, 200µL, 20µL, tabung *mikrosentrifuge* 1,5 mL dan 0,5 mL, Tip Aerosol steril 30µL (Gilson), Tabung PCR 0,2 mL, kit ekstraksi (*geneid*), *ethanol absolut 96%*, , enzim *PCR* mix *Ready to use* (enzim taq *polymerase*, dNTP, buffer *PCR* MgCl2), *Nuclease free water* (NFW), *agarose Molecular grade (OmniPur Agarose)*, *Ethidium Bromida (RPI), Aquadest*, DNA *Ladder*.

Adapun tahapan penelitian ini diantaranya:

1. Ekstraksi DNA

Tahap pertama di lakukan ekstraksi DNA yaitu lisis (penghancuran dinding sel DNA) menggunakan *proteinase K,* siapkan tabung *eppendorf* yang bersih, dimasukkan 200 µL plasma kedalam tabung *mikrosentrifuge* 1,5 mL

steril, ditambahkan 20 µL *proteinase K*, di homogenkan dengan cara *pippetting*, kemudian di masukkan kedalam inkubator selama 5 menit pada suhu 60 C selama ° 5 menit, ditambahkan 200µL *buffer GSB (geneid)* lalu di vortex dan diinkubasi kembali pada temperatur yang sama selama 3 menit, dan di lakukan kembali inkubasi dan vortex dan inkubasi selama 2 menit, selanjutnya ditambahkan ethanol absolut (96%) sebanyak 200µL dan di vortex selama 10 detik.

Tahapan kedua yaitu Binding (Penangkapan DNA) sampel yang telah melewati tahap lisis dipindahkan semua campuran tersebut ke dalam *spin column* sebanyak 400 µL, lalu disentrifuge dengan kecepatan 14.000 rpm selama 1 menit, buang *collection tube* yang berada di bawah spin column dan di ganti dengan *collection tube* yang baru,

Tahapan ketiga *washing* ditambahkan 400µL *buffer* W1 kedalam *tabung spin column* lalu di sentrifuge selama 3 menit dengan kecepatan 14.000 rpm, kemudian dibuang cairan yang ada pada *collection tube*, ditambahkan 600µL *wash buffer (geneid)* dan disentrifuge kembali selama 30 detik, dibuang cairan pada *collection tube* dan sentrifuge kembali selama 3 menit, dibuang *collection tube* dan diletakkan *mikrocentrifuge* (1,5 mL) steril pada bagian bawah *spin column,*

Tahapan terakhir adalah *elution* yaitu melepaskan DNA dari *spin column*, dipipet 100µL *Elution buffer* diamkan selama 3 menit, kemudian disentrifuge kembali dengan kecepatan 14.000 rpm selama 30 detik, hasil ekstraksi yang mengandung DNA yang tertampung pada tabung mikrocentrifuge disimpan pada -20 C yang di gunakan sebagai template PCR. °

2. Amplifikasi

Tabel 1. Pencampuran komponen PCR

Komponen PC	**Volume (µL)**
Enzym Hs Red mix	6,5
Primer *forward Plasmodium falciparum* rFAL1	0,5
Primer *Reverse Plasmodium falciparum* rFAL2	0,5
Primer *forward Plasmodium vivax* rVIV1	0,5
Primer *Reverse Plasmodium vivax* rVIV2	0,5
Nukleas free water	1,5
Total	10

Deteksi DNA dengan metode PCR diawali dengan pencampuran komponen PCR, termasuk hasil ekstraksi DNA (sampel), sampel yang berada di dalam tabung PCR dengan komposisi seperti berikut: di siapkan tabung mikrosentrifuge 1,5 mL lalu dimasukkan *Enzym Taq Polymerase ready to use* 143µL (6,5x 22), Tambahkan Primer Forward dan reverse *Plasmodium falciparum* 11µL dan *Plasmodium vivax* 11µL (0,5x 22 reaksi/ sampel), Kemudian tambahkan 33 µL NFW ke dalam tabung tersebut (1,5 x 22 reaksi / sampel). Vorteks ±5 detik lalu pipet 20 µL larutan ke dalam masing-mang tabung PCR 0.2 mL. Tambahkan 10 µL sampel DNA (hasil ekstraksi) ke dalam tabung PCR tersebut. Spin down tabung PCR untuk homogenisasi sebelum dimasukkan ke dalam mesin PCR (pastikan semua tabung tertutup dengan rapat). Setting temperatur mesin PCR sesuai *protocol* pada tahapan Pra denaturasi memerlukan suhu 94℃ selama 5 menit 1 siklus, denaturasi 94℃ selama 45 detik dilanjutkan anneling 58℃ selama 45 detik dan *extension* 72℃ selama 1 menit diulang sebanyak 30 kali siklus, pada tahapan terakhir final elongation 72℃ selama 5 menit 1 kali siklus, selama ≤ 01:40:55 detik.

3. Elektroforesis

Tujuan Elektroforesis adalah untuk memisahkan dan menganalisis molekul bermuatan (seperti DNA, RNA, atau protein) berdasarkan ukuran dan muatannya dengan bantuan medan listrik.

Hasil dari tahapan amplifikasi kemudian akan dielektroforesis. Langkah pertama membuat terlebih dahulu gel *agarose* 2% yang dibuat dengan menimbang 1,5 gram bubuk agarose lalu dicampur 100mL TBE *(Tris Borate EDTA)* lalu homogenkan dan setelah itu dipanaskan dengan *microwave* selama dua menit sampai seluruh bubuk larut sempurnakemudian keluarkan dari *microwave* dan dipipet *Etidium Bromide (EtBr)* sebanyak 5µL lalu homogenkan selanjutnya dituang ke dalam pencetak gel yang telah dipasangkan sisiran dan tunggu hingga mengeras atau memadat.

Selanjutnya lepaskan sisir sehingga terbentuk well, dipindahkan gel ke dalam *chamber* elektroforesis yang berisi TBE 0,5x, dimasukkan 5µl *ladder marker* ke dalam sumur pertama, lalu di masukkan 5 µL DNA sampel berdasarkan nomor urutan sampel ke dalam sumur kedua sampai sumur ketujuh

belas, selanjutnya di pipet kontrol positif *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium vivax* pada sumuran ke sembilan belas, dan yang ke terakhir masukkan kontrol negatif 5µL kedalam sumuran kedua puluh, kemudian tutup *chamber* elektroforesis dan nyalakan *Power Pac* dari aliran negatif ke positif dengan atur arus listrik 400 volt, setelah itu. Lalu tekan *"RUN"* tunggu sampai 40 menit sehingga warna *loading buffer* yang biru berpindah ke tengah gel, kemudian Setelah proses elektroforesis selesai gel diangkat dan dimasukkan ke dalam alat visualisasi *Bio-Rad Geldoc UV-Transilluminator*. Kemudian dibaca pada komputer.

Peneliti mengunjungi lokasi penelitian yang telah ditentukan untuk menemui responden. Pada kesempatan tersebut peneliti menjelaskan tujuan penelitian dan memberikan panduan mengenai cara pengisian kuesioner, kemudian responden yang setuju maka akan mengisi lembar kuesioner. Responden dalam penelitian ini adalah masyarakat yang pernah mengalami gejala malaria dan memenuhi kriteria yang telah ditetapkan.

HASIL

1. karakteristik subjek penelitian

Tabel 1. Distribusi karakteristik masyarakat pasca infeksi malaria

Karakteristik	Frekuensi (n)	Presentase (%)
Usia		
14-24	4	**23,52 %**
26-30	8	**47,05 %**
32-52	5	**29,41 %**
Total	**17**	**100%**
Jenis kelamin		
Laki-laki	10	**58,82%**
Perempuan	7	**41,17%**
Total	**17**	**100%**
Gejala klinis		
Tanpa gejala	12	**70,58%**
Nyeri otot sendi & sakit kepala	4	**23,52%**
Nyeri otot sendi	1	**5,88%**
Total	**17**	**100%**

Karakteristik	Frekuensi (n)	Presentase (%)
Lama waktu pemulihan		
≤ 7 hari	14	**82,35%**
8 – 14 hari	2	**11,76%**
≥ 14 hari	1	**5,88%**
Total	**17**	**100%**
Pertama kali gejala malaria		
2 minggu lalu	2	**11,76%**
6 bulan – 1 tahun lalu	3	**17,64%**
Lebih dari 1 tahun lalu	12	**70,58%**
Total		**100%**
Jenis-jenis *Plasmodium*		
Plasmodium falciparum	10	**58,82%**
Plasmodium vivax	7	**41,17%**
Total	**17**	**100%**

Berdasarkan data primer tahun 2025, Tabel 1 menunjukkan karakteristik masyarakat pasca infeksi malaria dengan jumlah total responden sebanyak 17 orang. Responden dikelompokkan berdasarkan usia, dimana mayoritas berada pada kelompok usia 26–30 tahun sebanyak 8 orang (47,05%), diikuti oleh kelompok usia 32–52 tahun sebanyak 5 orang (29,41%), dan kelompok usia 14–24 tahun sebanyak 4 orang (23,52%). Dilihat distribusi jenis kelamin responden, mayoritas responden adalah laki-laki sebanyak 10 orang (58,82%) dan perempuan sebanyak 7 orang (41,17%)

Berdasarkan gejala klinis yang dialami, sebagian besar responden tidak mengalami gejala *(asimptomatik)* sebanyak 12 orang (70,58%). Sementara itu, 4 orang (23,52%) mengalami gejala berupa nyeri otot sendi serta sakit kepala, dan 1 orang yang mengalami berupa nyeri otot dan sendi (5,88%).

Dalam hal lama waktu pemulihan, sebagian besar responden mengalami pemulihan dalam waktu ≤ 7 hari, yaitu sebanyak 14 orang (82,35%). Sebanyak 2 orang (11,76%) memerlukan waktu 8–14 hari, sedangkan hanya 1 orang (5,88%) yang memerlukan waktu ≥ 14 hari untuk pulih sepenuhnya.

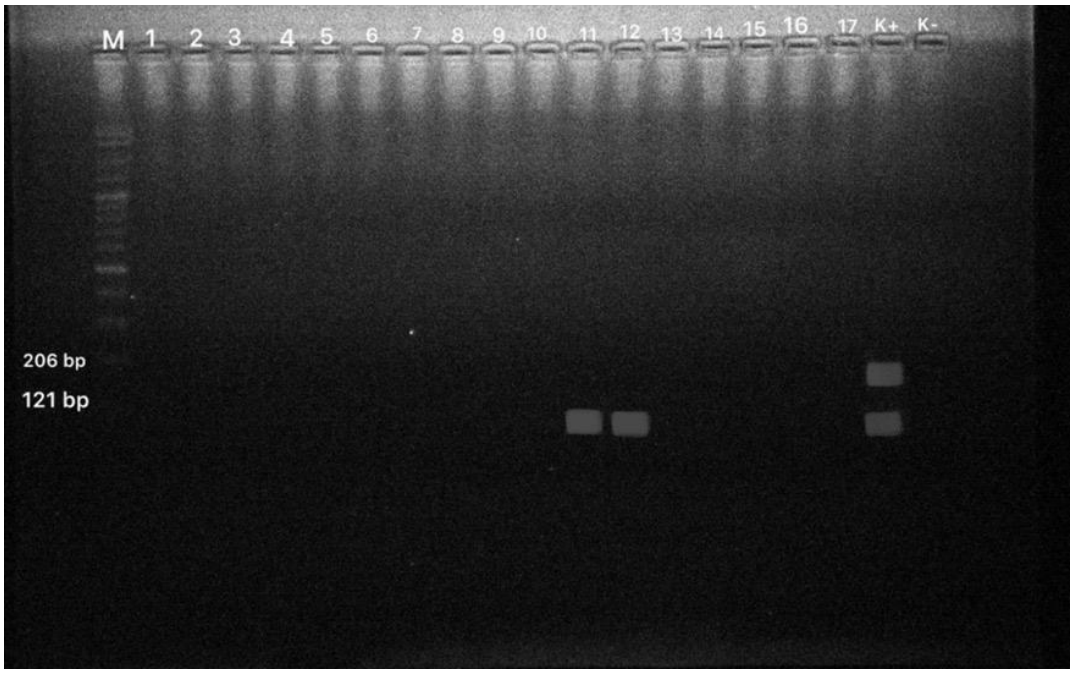
Adapun waktu pertama kali munculnya gejala malaria pada sebagian besar responden terjadi lebih dari satu tahun yang lalu, yaitu sebanyak 12 orang (70,58%). Sebanyak 3 responden (17,64%) mengalami gejala pertama kali dalam rentang waktu 6 bulan hingga 1 tahun yang lalu, dan 2 responden (11,76%) mengalami gejala pertama kali dua minggu yang lalu.

Berdasarkan jenis *Plasmodium* pasca infeksi malaria yang menginfeksi, diketahui bahwa infeksi terbanyak disebabkan oleh jenis *Plasmodium falciparum* (tropika) sebanyak 10 orang (58,82%), sedangkan jenis *Plasmodium vivax* (tersiana) ditemukan pada 7 orang (41,17%).

Tabel 2. Hasil Deteksi *Plasmodium falciparum* Dan *Plasmodium vivax* Pada Penderita Pasca Infeksi Malaria

Kode sampel	Identitas responden	Jenis pasca infeksi *Plasmodium*	Hasil
1	Tn. P	*Plasmodium falciparum*	-
2	Tn. A	*Plasmodium falciparum*	-
3	Tn. R	*Plasmodium falciparum*	-
4	Tn. L	*Plasmodium falciparum*	-
5	Tn. M	*Plasmodium falciparum*	-
6	Ny. T	*Plasmodium falciparum*	-
7	Tn. K	*Plasmodium falciparum*	-
8	An. A	*Plasmodium falciparum*	-
9	Tn. P	*Plasmodium falciparum*	-
10	Ny. A	*Plasmodium falciparum*	-
11	Ny. I	*Plasmodium vivax*	+
12	Tn. R	*Plasmodium vivax*	+
13	Tn. I	*Plasmodium vivax*	-
14	Ny. S	*Plasmodium vivax*	-
15	Ny. D	*Plasmodium vivax*	-
16	Ny. E	*Plasmodium vivax*	-
17	**Ny. R**	***Plasmodium vivax***	-

Gambar 1. Hasil Visualisasi Elektroforesis Band DNA Pada Sampel Pasca Infeksi *Plasmodium falciparum* Dan *Plasmodium vivax pcr*



Ketereangan :

M =	Marker
1-17 =	Kode sampel
K+ =	Kontrol positif
K- =	Kontrol negatif
121 bp = *vivax*	Gen target *Plasmodium*

Berdasarkan gambar 4.1 Hasil Visualisasi Elektroforesis Band DNA pada sampel pasca infeksi *Plasmodium falciparum* (tropika) dan *Plasmodium vivax* (tersiana) menunjukkan bahwa dari 17 sampel malaria terdapat 2 (11,76%) positif adanya *Plasmodium vivax* pada kode sampel 11 dengan 12 dengan ukuran 121 bp dan selebihnya menunjukkan hasil yang negatif sebanyak 15 (88,23%) Hasil negatif pada beberapa sampel dalam penelitian ini kemungkinan disebabkan oleh sejumlah faktor yang saling berkaitan. Salah satu faktor utama adalah rendahnya tingkat parasitemia pada pasien pasca infeksi malaria, serta riwayat pengobatan antimalaria yang efektif, sehingga memungkinkan tidak terdeteksinya parasit dan menghasilkan hasil negatif pada pemeriksaan menggunakan metode *Multiplex Polymerase Chain Reaction.*

DISKUSI

Penelitian ini dilaksanakan di *Hasanuddin University Medical Research Center (HUM-RC)* Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, pada bulan

Maret hingga April 2025. Pengambilan sampel dilakukan di Puskesmas Kwamki Narama, Kabupaten Mimika, Provinsi Papua Tengah. Sebanyak 17 sampel diperiksa dalam penelitian ini. Sampel darah yang digunakan adalah darah yang dikumpulkan dalam tabung *Ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA).

Kriteria sampel pada penelitian ini yang diambil adalah penderita pasca infeksi *Plasmodium falciparum* (tropika) dan *Plasmodium vivax* (tersiana), dengan pengambilan dilakukan dalam waktu dua minggu setelah pengobatan. Sampel diambil dua minggu pasca pengobatan untuk menilai terapi dan mendeteksi kekambuhan dini, terutama pada infeksi *Plasmodium vivax*. Waktu ini sangat baik untuk mendeteksi DNA parasit dengan metode *Multiplex PCR*. Sampel yang telah dikumpulkan disimpan dalam *freezer* pada suhu -18°C. Selama proses pengiriman, sampel disimpan dalam *cool box* yang berisi *ice pack* untuk menjaga suhu tetap terkontrol. Selanjutnya, sampel dikemas sesuai dengan standar *biosafety* dan protokol penerbangan, kemudian sampel langsung dibawa ke *HUM-RC* untuk disimpan kembali dalam *freezer* dengan suhu -18°C.

Penelitian ini menggunakan metode *Multiplex PCR* untuk mendeteksi *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium vivax* secara simultan dalam satu reaksi. Metode ini dipilih karena memiliki sensitivitas yang tinggi, mampu mendeteksi parasit pada tingkat parasitemia rendah, serta efisien dalam penggunaan sampel dan reagen, dengan berbagai keunggulan tersebut, dinilai tepat untuk deteksi spesifik dan simultan terhadap lebih dari satu spesies *Plasmodium* dalam waktu yang relatif singkat.

Berdasarkan data karakteristik sampel pasca infeksi malaria ditemukan perbedaan pada kategori usia yang dimana kelompok usia yang rentan golongan usia 26-30 tahun sebanyak 8 orang (47,05%) lebih banyak terkena kasus malaria. Hasil penelitian ini di sesuaikan dengan penelitian yang di lakukan oleh Kinansi dkk., (2021) yang mengatakan bahwa kelompok usia tertentu, khususnya usia produktif, dapat mempengaruhi angka kejadian malaria. Hal ini disebabkan karena individu pada usia produktif cenderung lebih aktif bekerja dan bepergian keluar rumah, sehingga memiliki peluang lebih besar untuk melakukan kontak dengan vektor penyebab penyakit malaria.

Hasil yang didapatkan data jenis kelamin berdasarkan uji distribusi frekuensi menunjukkan jenis kelamin laki-laki sejumlah 10 orang dengan presentase (58,82%) sedangkan jenis kelamin perempuan memiliki peringkat paling rendah dibandingkan dengan laki-laki yang dimana perempuan sebanyak 7 orang dengan presentase (41,17%). Hasil penelitian ini sejalan dengan temuan Safi dkk., (2024) yang mengatakan bahwa tidak ada hubungan yang signifikan antara jenis kelamin dengan kejadian malaria hingga hasil tersebut bisa disimpulkan tidak ada hubungannya. Karena infeksi dari malaria yang ditularkan dari nyamuk *Anopheles* betina tidak membedakan jenis kelamin. yang membedakan ialah tingkat kejadian malaria antara laki-laki dan perempuan yang bisa disebabkan sejumlah faktor, termasuk pekerjaan, migrasi penduduk, dan kekebalan tubuh.

Kemudian pada data distribusi karakteristik gejala klinis pasca infeksi menunjukkan bahwa tingkat tanpa gejala sebanyak 12 orang dengan presentase (70,58%) yang dimana dengan hasil penelitian ini responden tidak mengalami gejala klinis setelah dua minggu pengobatan. Kondisi ini menunjukkan bahwa hampir separuh responden berada dalam fase pemulihan yang baik dan tidak menunjukkan gejala sisa dari infeksi malaria. Tidak munculnya gejala pasca infeksi dapat disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain respons imun tubuh yang baik, kepatuhan dalam menjalani pengobatan, serta efektivitas terapi antimalaria yang diberikan. Adapun penelitian ini tidak sejalan dengan penelitian yang lakukan Muti'ah, (2013) yang menjelaskan bahwa ketika seseorang terkena malaria terdapat gejala seperti lesu, sakit kepala, malaise, dan nyeri sendi. Namun adapun dari penelitian yang di lakukan oleh Tiara dkk., (2018) yang mengatakan bahwa malaria serebral merupakan komplikasi *Plasmodium falciparum* yang paling parah. Penyakit ini dapat terjadi dalam waktu kurang dari dua minggu setelah gigitan nyamuk dan dapat berkembang setelah 2 sampai 7 hari demam. Sedangkan adapun penelitian sejalan dengan Baird, (2013) yang mengatakan bahwa *Plasmodium vivax* sering dianggap sebagai bentuk malaria yang "ringan", namun dampak sistemik jangka panjangnya dapat signifikan. Pasien pasca infeksi dapat mengalami penurunan kualitas hidup akibat kelelahan kronis dan risiko kekambuhan yang berulang, terutama jika hipnozoit tidak dieliminasi secara tuntas.

Adapun data karakteristik pada lama waktu pemulihan pasca infeksi malaria di dapatkan ≤ 7 hari sebanyak 14 orang dengan presentase (82,35%), waktu pemulihan pasca infeksi malaria sangat di pengaruhi oleh jenis *Plasmodium* yang menginfeksi dan respons individu terhadap pengobatan. Hasil penelitian ini sejalan dengan temuan Buhungo, (2012) yang menyatakan lama pemulihan pada *Plasmodium falciparum* biasanya menyebabkan penyakit yang lebih parah, tetapi dengan pengobatan yang tepat gejala tersebut dapat membaik dalam 4872 jam, sedangkan pada *Plasmodium vivax* dan *Plasmodium ovale* bisa terjadi kambuh karena ada bentuk dorman (*hipnozoit*) di sel hati, sehingga butuh pengobatan tambahan dan pemantauan lebih lama. Secara umum, gejala utama seperti demam dan menggigil dapat mulai mereda dalam 2–3 hari setelah pengobatan dimulai, tetapi pemulihan total bisa memakan waktu 1–4 minggu tergantung kondisi individu.

Dalam penelitian ini, mayoritas subjek mengalami gejala malaria pertama kali lebih dari satu tahun yang lalu sebanyak 12 orang (70,58%), Hal ini menunjukkan bahwa sebagian besar subjek berada dalam fase pasca infeksi jangka panjang. Namun beberapa penelitian menunjukkan bahwa dikatakan hasil positif *PCR* pada fase pasca infeksi tidak selalu mencerminkan infeksi yang aktif. Adapun penelitian yang dilakukan oleh (Kamaliddin dkk., 2024) DNA *Plasmodium falciparum* dapat terdeteksi hingga 28 hari setelah pengobatan, meskipun parasit telah dieliminasi dari tubuh pasien. Hal ini menunjukkan bahwa *PCR* dapat mendeteksi sisa DNA dari parasit yang telah mati, sehingga interpretasi hasil PCR pada fase pasca infeksi harus dilakukan dengan hati-hati. Di sisi lain, *PCR* memiliki kemampuan untuk mendeteksi infeksi campuran *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium vivax* yang tidak teridentifikasi melalui pemeriksaan mikroskopis.

Pada data karakteristik berdasarkan jenis *Plasmodium* pasca infeksi malaria di temukan jenis *Plasmodium falciparum* sebanyak 10 orang dengan frekuensi (58,82%) sedangkan pada *Plasmodium vivax* sebanyak 7 orang dengan (41,17 %). Hal ini sesuai dengan penelitan oleh Setiawan & Putri, (2024) yang mengatakan bahwa Spesies parasit malaria yang paling sering menyebabkan malaria di Papua adalah*Plasmodium falciparum*. Perbedaan penyebaran spesies parasite malaria di satu wilayah mungkin berbeda dengan wilayah lain, bergantung pada

keberadaan manusia, vektor, dan parasit yang dapat mencemari, dan juga dapat dipengaruhi oleh keadaan alam.

Berdasarkan data jumlah kasus malaria di Kabupaten Mimika, Provinsi Papua Tengah. Pada tahun 2023 dan 2024, dua spesies *Plasmodium* dengan angka tertinggi secara konsisten adalah *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium vivax*. Pada tahun 2024, *Plasmodium falciparum* mencatat jumlah kasus tertinggi dengan total 77.567 kasus, meningkat signifikan dibandingkan tahun 2023 yang sebanyak 59.893 kasus. Sementara itu, *Plasmodium vivax* juga menempati posisi kedua terbanyak, meskipun mengalami penurunan dari 63.650 kasus di tahun 2023 menjadi 59.650 kasus pada tahun 2024. Peningkatan kasus *Plasmodium falciparum* secara drastis dapat disebabkan oleh beberapa faktor, di antaranya adalah resistensi parasit terhadap obat antimalaria, peningkatan transmisi akibat perubahan lingkungan atau iklim yang mendukung perkembangan vektor, serta kemungkinan menurunnya efektivitas program pengendalian malaria di wilayah endemis. *Plasmodium falciparum* juga merupakan penyebab utama malaria berat (severe malaria), sehingga peningkatan kasus ini menjadi perhatian serius dalam program kesehatan masyarakat.

Di sisi lain, meskipun *Plasmodim vivax* menempati posisi kedua dengan jumlah yang cukup tinggi, terjadi tren penurunan jumlah kasus pada tahun 2024. Hal ini dapat dihubungkan dengan keberhasilan deteksi dini, pengobatan yang lebih tepat, serta intervensi program pengendalian yang menargetkan *Plasmodium vivax* secara lebih efektif. Namun demikian, *Plasmodium vivax* tetap menjadi ancaman karena memiliki kemampuan dormansi dalam hati (*hipnozoit*), yang memungkinkan infeksi kambuhan (*relaps*) meskipun pasien telah sembuh secara klinis.

Dengan demikian, fokus utama dalam pengendalian malaria harus tetap diarahkan pada dua spesies ini, mengingat kontribusi dominannya terhadap beban penyakit malaria secara keseluruhan. Peningkatan kasus *Plasmodium falciparum* menunjukkan perlunya penguatan strategi penanganan malaria berat, sedangkan penurunan *Plasmodium vivax* harus terus dijaga agar tidak terjadi masalah kesehatan kepada masyarakat akibat kelengahan dalam program pengawasan.

Jenis *Plasmodium* pada kasus malaria yang ada pada Kabupaten Mimika, Provinsi Papua Tengah, *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium vivax* yang paling dominan rentan terkena malaria. Hal ini disebabkan kondisi lingkungan tropis, aktivitas manusia, vektor yang efisien, serta akses layanan kesehatan yang terbatas menjadikan Timika dan wilayah Papua Tengah zona endemik tinggi malaria, dengan dominasi *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium vivax*. Sehingga pada penelitian ini mengenai deteksi infeksi pasca malaria menggunakan metode *Multiplex Polymerase Chain Reaction (PCR)* menjadi sangat relevan. Metode ini mampu mengatasi keterbatasan diagnosis konvensional dalam mendeteksi infeksi campuran maupun infeksi submikroskopik yang sering tidak terdeteksi setelah pengobatan. Pemilihan wilayah Mimika sebagai lokasi penelitian juga sejalan dengan upaya nasional dalam mendukung program eliminasi malaria, sekaligus memberikan kontribusi ilmiah dalam bentuk data molekuler lokal yang masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar ilmiah untuk meningkatkan akurasi diagnosis dan pengendalian malaria secara lebih efektif di daerah endemik tinggi.

Adapun pada ada penelitian ini ada beberapa tahapan yang di lakukan yaitu ekstraksi DNA, Amplifikasi DNA, elektroforesis dan yang terakhir pembacaan *geldoc*. Langkah awal yaitu di lakukan ekstraksi DNA adalah proses isolasi dan pemurnian DNA dari sel atau jaringan organisme. Tujuannya adalah untuk memperoleh DNA dalam bentuk murni yang dapat digunakan untuk analisis lebih lanjut.

Tahap terakhir adalah *elusi*, yaitu pelepasan DNA murni dari *spin column* ke dalam tabung reaksi dengan menggunakan *elution buffer*, sehingga DNA murni siap digunakan untuk amplifikasi DNA.

Tahap selanjutnya yaitu pencampuran komponen PCR (PCR mix), merupakan proses penyusunan campuran reaksi yang mengandung seluruh bahan yang diperlukan untuk menjalankan reaksi *Polymerase Chain Reaction (PCR)*. Komponen utama dalam PCR mix meliputi template DNA sebagai cetakan, primer forward dan primer reverse sebagai penanda batas fragmen DNA yang akan diamplifikasi, dNTPs *(deoxynucleotide triphosphates)* sebagai bahan baku penyusun untai DNA baru, serta *enzim Taq polymerase* yang berperan dalam

memperpanjang dan mensintesis DNA. Selain itu, ditambahkan $MgCl_2$ yang berfungsi sebagai kofaktor untuk aktivitas DNA *polymerase*, *nuclease-free water* untuk melarutkan komponen dan menyesuaikan volume total reaksi, serta *buffer* PCR yang berperan dalam menjaga kestabilan pH selama proses reaksi berlangsung.

Setelah pencampuran komponen, tahap selanjutnya amplifikasi, adalah proses memperbanyak segmen tertentu dari DNA secara *in vitro* (diluar tubuh makhluk hidup) menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction (PCR)*. Tujuan dari amplifikasi ini adalah untuk menghasilkan salinan DNA target dalam jumlah besar dari sampel yang sangat kecil, sehingga dapat dianalisis lebih lanjut dalam berbagai aplikasi seperti deteksi patogen, identifikasi genetik, atau penelitian molekuler. Proses amplifikasi memiliki beberapa tahapan Pra denaturasi adalah tahap awal dalam proses PCR *(Polymerase Chain Reaction),* tujuannya adalah untuk memastikan bahwa semua DNA template menjadi terdenaturasi sempurna sebelum masuk ke dalam siklus utama PCR pada tahapan ini memerlukan suhu 94℃ selama 5 menit 1 siklus, kemudian tahapan denaturasi memerlukan suhu 94℃ selama 45 detik kemudian dilanjutkan *anneling* penempelan primer forward dan reverse berikatan pada masing-masing untaian DNA tunggal sesuai dengan urutan komplemennya dengan menggunakan suhu 58℃ selama 45 detik, dan tahap selanjutnya yaitu *extention* pemanjangan DNA pada enzim Taq *polymerase* mensistensikan untaian DNA baru dengan menambahkan dNTPs sehingga menghasilkan salinan baru segmen DNA target dengan suhu 72℃ selama 1 menit dan diulang sebanyak 30 kali siklus, kemudian pada tahap akhir yaitu final elongation tujuannya untuk memastikan semua fragmen DNA tersintesis sempurna pada tahap ini memerlukan suhu 72℃ selama 5 menit 1 siklus, selama ≤ 01:40:55 detik.

Berdasarkan hasil penelitian yang berjudul Deteksi *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium vivax* pada Penderita Pasca Infeksi Malaria dengan Menggunakan Metode *Multiplex Polymerase Chain Reaction*, visualisasi pada Gambar 4.1 Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 17 sampel yang diuji, dua sampel (nomor 11 dan 12) menunjukkan hasil positif terhadap *Plasmodium vivax* yang ditandai dengan fragmen DNA berukuran 121 bp. Sebaliknya, tidak ditemukan fragmen DNA berukuran 205 bp yang menandakan *Plasmodium*

falciparum, sehingga seluruh sampel dinyatakan negatif terhadap jenis tersebut.

Negatifnya hasil deteksi *Plasmodium falciparum* dapat disebabkan oleh tidak adanya bentuk hipnozoit seperti pada *Plasmodium vivax*, sehingga parasit *Plasmodium falciparum* cenderung tereliminasi sepenuhnya setelah pengobatan. Selain itu, jumlah DNA yang tersisa pasca infeksi mungkin sangat rendah atau sudah terdegradasi, sehingga tidak terdeteksi oleh *PCR*.

Sampel kode 11 dan 12 yang menunjukkan hasil positif terhadap *Plasmodium vivax* juga disertai gejala klinis berupa nyeri otot dan sakit kepala. Gejala tersebut merupakan manifestasi umum dari infeksi malaria yang disebabkan oleh *Plasmodium vivax*. Nyeri otot dan sakit kepala biasanya muncul akibat respon imun tubuh terhadap infeksi serta proses inflamasi yang terjadi selama siklus hidup parasit di dalam sel darah merah. Meskipun infeksi *Plasmodium vivax* umumnya bersifat ringan dibandingkan *Plasmodium falciparum*, gejala sistemik seperti ini tetap sering terjadi dan dapat memengaruhi kondisi fisik penderita secara signifikan.

Munculnya gejala klinis tersebut mendukung hasil deteksi molekuler yang diperoleh melalui metode *Multiplex PCR* dan menunjukkan adanya korelasi antara manifestasi klinis dengan keberadaan DNA *Plasmodium vivax* dalam sampel pasien. Dengan demikian, temuan ini memperkuat validitas penggunaan metode *Multiplex* PCR dalam mengidentifikasi infeksi *Plasmodium* secara spesifik dan sensitif, terutama pada kasus pasca infeksi malaria.

Adapun dari total 17 sampel, sebanyak 15 sampel (88,23%) menunjukkan hasil negatif. hal ini kemungkinan disebabkan oleh beberapa faktor yang saling berkaitan. Salah satu kemungkinan utama adalah keberhasilan terapi antimalaria yang telah diberikan kepada pasien. Terapi kombinasi berbasis *artemisinin* (ACT) diketahui sangat efektif dalam membersihkan parasit dari sirkulasi darah dalam waktu singkat, bahkan dalam kasus infeksi berat sekalipun. Selain itu, pada pasien dengan infeksi *Plasmodium vivax*, jika telah diberikan terapi radikal seperti *primaquine* untuk mengeliminasi *hipnozoit* di hati, maka risiko kekambuhan menjadi jauh lebih rendah. sehingga pada penelitian ini dapat menunjang bahwa pentingnya penggunaan metode

molekuler sebagai alat evaluasi lanjutan dalam pengawasan pasca pengobatan malaria, khususnya di wilayah endemik tinggi seperti Mimika.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan di Laboratorium *Hasanuddin University Medical Research Center (HUMRC),* terhadap sampel penderita pasca infeksi malaria, Berdasarkan hasil pemeriksaan terhadap 17 sampel pasien pasca infeksi malaria menggunakan metode multiplex PCR, diperoleh bahwa sebanyak 2 sampel (11,76%) menunjukkan hasil positif terhadap *Plasmodium vivax*, yang ditandai dengan terbentuknya amplifikasi DNA berukuran 121 bp. Dan tidak ditemukan amplifikasi DNA berukuran 205 bp yang mengindikasikan keberadaan *Plasmodium falciparum*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Melalui kesempatan ini, peneliti mengucapkan rasa hormat serta terima kasih yang setinggi-tingginya terkhusus kepada kedua orang tua peneliti yang tak hentinya memberikan do'a, semangat, dan dukungan kepada peneliti baik dari segi moril maupun materil.

1. Ka'bah selaku Pembimbing penelitian.
2. Laboran Universitas Megarezky yang telah mengarahkan saat proses penelitian.
3. Pihak-pihak yang telah banyak membantu yang tidak bisa peneliti sebutkan satu per satu.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan baik dalam proses penelitian maupun penyusunan naskah ini. Penelitian ini belum pernah dipublikasikan di media manapun.

REFRENSI

Angelika, P., Kurniawan, F., & Santi, B. T. (2021). "Malaria Knowlesi Pada Manusia". *Damianus Journal of Medicine*. 20. (1): 72-88.

Arisjulyanto, D., & Suweni, K.,(2024). "Pengaruh Penyuluhan Terhadap Tingkat Pengetahuan Masyarakat Tentang Malaria Di Kabupaten Kepulauan Yapen" *Jurnal Kesehatan Tropis Indonesia*. 2(1): 1-6.

Buhungo, R. A. (2012). "Faktor perilaku kesehatan masyarakat dan kondisi lingkungan rumah dengan kejadian malaria". *Jurnal Health and Sport*, 5(2): 30-43.

Baird, J.K. (2013). Evidence and implications of mortality associated with acute Plasmodium vivax malaria. *Clinical Microbiology Reviews*, 26(1): 36–57.

Endah, S. (2020). "Mengenal malaria dan vektornya". *Pustaka Ali Imron*. Bandar lampung.

Ennaidi, N.N.B. (2020). "Hubungan Antara Tingkat Beban Pemeriksaan Malaria Dan Pengalaman Pelatihan Dengan Tingkat Pengetahuan

Diagnostik Mikroskopik Malaria Analis Medis Di Kabupaten Sikka, Nusa Tenggara Timur (Skripsi)". *Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya*.

Fitriany, J., & Sabiq, A. (2018). "Malaria". *Jurnal Averrous*.4 (2): 1-20.

Gasong, N.D., Dese, D.C., Kurniasari, M.D., Joandi O., Aunalal H., (2024).

"Faktor Risiko Penyakit Malaria Secara Global: Sebuah Studi Literatur Risk Factors For Malaria In Global: A Literature Review Study Info Artikel". *Journal of Human Health*, 3(2): 32–47.

Jannah, M., dkk (2021). "Metode Biologi Molekuler". *Widina Bhakti Persada Bandung*.

Kurniawan, A., Widyawati, A. Z., Pratiwi, F. A., Faizun, N., & Meliana, R.

(2024). "Pemodelan Prevalensi Angka Kesakitan Malaria Berdasarkan Persentase Sanitasi Layak Dengan Pendekatan Estimator Least Square Spline". *Jurnal Kesehatan Lingkungan Indonesia*, 23(3): 287–293.

Kamaliddin, C., Gaffney J.B, Ashraf S., Mogollon D.C., Adamu, A., Tefa, B.M., Wijesinghe, A., Pussegoda, E., Feleke, S.M., Pillai, D.R. (2024). Survei Nasional tentang Penghapusan hrp2 / 3 dan kelch13. *The Journal of Infectious Diseases*. 230 (6): 1394–1401.

Kinansi, R. R., Mayasari, R., & Sitorus, H. (2021). Malaria pada Kelompok Wanita Usia Subur dan Anak di Indonesia: Analisis Data Riskesdas 2013. *Jurnal Vektor Penyakit*, 15(1): 17–32.

Muti'ah, R. (2013). Penyakit Malaria Dan Mekanisme Kerja Obat-Obat Antimalaria. *Alchemy*, *2(*1): 80–91.

Muna, F., Khariri. (2020). "Efektivitas Identifikasi Bakteri Sumber Infeksi Dengan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR) Multipleks". *Prosiding Seminar Nasional Biologi IP2B IV*. 2746(7902). 212-217.

Maulina, L. (2020). " Prevalensi Infeksi Malaria Di Kabupaten Pasaman Barat Tahun 2018/2019 (KTI)". Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Perintis Padang.

Membo, H. K., Ilombe, G., Masumu, J., Matangila, J., Imponge, J., Manzambi, E., Wastenga, E., Ngoyi, D.M., Geetruyden J.V., Mayumbe, J.M. (2018). "Molecular identification of Plasmodium species in symptomatic children of Democratic Republic of Congo". *Malaria Journal*, 17(1): 1–7.

Nurmaulina, W. (2017). "Hubungan Pengetahuan, Sikap Dan Perilaku Penderita Malaria Falciparum Dengan Derajat Infeksi Di Wilayah Kerja Puskesmas Hanura Kecamatan Teluk Pandan Kabupaten Pesawaran Provinsi Lampung (Skripsi)". Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Ndiki, H. T. G., Adu, A. A., & Limbu, R. (2020). "Survei Jentik Nyamuk Anopheles Di Desa Maukeli Kecamatan Mauponggo" *Media Kesehatan Masyarakat*. 2(1): 10–17.

Naada, F.S. (2024). "Jenis-Jenis Plasmodium Pada Pasien Malaria Di Tiga Desa Kecamatan Tanjung Beringin Kabupaten Serdang Bedagai Tahun 2022" (Doctoral dissertation), Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sumatera Utara.

Pava, Z., Noviyanti, R., Handayuni, I., Trimarsanto, H., Trianty, L., Burdam, F.H., Kenangalem, E., Utami, R.A.S., Tirta, Y.K., Coutrier, F. dkk (2017). "Genetic Micro-Epidemiology Of Malaria In Papua Indonesia: Extensive P. Vivax Diversity And A Distinct Subpopulation Of Asymptomatic P. Falciparum Infections". *PLoS ONE*, 12(5): 1-13.

Rinawati, W., & Henrika, F. (2019). "Diagnosis Laboratorium Malaria". *Jurnal Indon Med Assoc*. 69(10): 327-335.

Ritung, N., Pijoh, V. D., Bernadus, J. B. B. (2018). "Perbandingan Efektifitas Rapid Diagnostic Test (RDT) dengan Pemeriksaan Mikroskop pada Penderita Malaria Klinis di Puskesmus Mubune Kecamatan Likupang Barat". *Jurnal e- Biomedik*, *6*(2): 84-89.

Ryanando, Z.D. (2024) "Perbandingan Profil Hematologik Berdasarkan Jenis Plasmodium Pada Pasien Malaria Dewasa di RSUD Dr. Pirngadi dan RS Murni Teguh Tahun 2021-2023 (Skripsi)". Universitas HKBP Nommensen.

Susilawati & Prayatna, S. (2023). "Analisis Faktor Yang Berpengaruh Terhadap Kejadian Malaria Di Wilayah Pesisir Berdasarkan Teori Hl.Blum". *Jurnal Of Health And Medical Research*. 3(3): 235-241.

Susiwati, Hafy, Z., Anwar, H.C., Liberty, I.A. (2024). "Tinjauan Molekuler: Deteksi& Preventif Resistensi Malaria". *Bening Media Publishing*. 3(3): 235- 24

Salsabila, Z. Z., Noviyanti, R., Coutrier, F., Trianty, L., Sutrisna, E., & Rujito, L. (2023). "Deteksi *Plasmodium knowlesi* Menggunakan *Nested Polymerase Chain Reaction (PCR)* di Kecamatan Muara Komam Kalimantan Timur". *Jurnal Litbang Pengendalian Penyakit Bersumber Binatang Banjarnegara*,18(2): 183–190.

Saroh, D., & Haryatmi, D. (2019). “Ancaman Zoonosis : Infeksi Plasmodium knowlesi pada Manusia”. *Jurnal Farmasi*, 8(1): 17.

Setiawan, N., & Putri, N. E. (2024). “Gambaran Antara Kejadian Malaria dengan Karakteristik Pasien di Kabupaten Asmat Provinsi Papua Selatan Tahun 2023”. *Smart Society Empowerment Journal*. *4*(3): 92–100.

Safi, S. R., Solikah, M. P., & Putri, N. E. (2024). Hubungan antara faktor usia & jenis kelamin terhadap peningkatan penyakit malaria di wilayah kerja puskesmas yausakor papua selatan. *Jurnal Kesehatan Tambusai*. *5*(4): 10406– 10415.

Santika, N.T., Suwandi, J.F., Nasution, S.H. (2018). Malaria Serebral Cerebral Malaria. *Jurnal Sinaps*, 1(3): 1–21

DETEKSI *Strongyloides sp*. PADA TANAH PERTANIAN DI DESA PEMATANG HAMBAWANG, KABUPATEN BANJAR

Musyirah Mudzakkir[1] · Muhammad Chamada Fauzan[1] · Putri Kartika Sari[1] · Muhammad Arsyad[1]

[1] Program Studi D-III Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan dan Sains Teknologi, Universitas Borneo Lestari, Kalimantan Selatan, Indonesia

e-Mail: arsyad@unbl.ac.id
No Tlp WA : 082252545385

Abstract

Strongyloides stercoralis is a neglected soil-transmitted helminth that causes chronic infections through an autoinfection cycle, posing significant health challenges, especially in rural areas with poor sanitation. This study aimed to determine the presence and distribution of Strongyloides sp. larvae in agricultural soils in Pematang Hambawang (PH) Village, Banjar Regency, South Kalimantan, Indonesia. A total of 44 soil samples were collected using stratified random sampling from four different locations and examined using the Baermann funnel technique. The results showed varying levels of soil contamination, with the highest prevalence observed in PH 3 (72%) and PH 4 (66%), while the lowest was found in PH 2 (27%). These variations were influenced by environmental factors such as soil moisture and agricultural activities. The findings indicate that agricultural soils in the study area are contaminated with Strongyloides sp. larvae, highlighting the potential risk of transmission to farmers who work barefoot and have frequent contact with soil. The Baermann method proved effective for detecting live larvae, making it a valuable tool for environmental surveillance. This study underscores the importance of improving sanitation, promoting protective behaviors, and implementing further research.

***Keywords** : Strongyloides stercoralis, soil-transmitted helminth, Metode Baermann*

Abstrak

Strongyloides stercoralis merupakan cacing tanah yang sering terabaikan dan dapat menyebabkan infeksi kronis melalui siklus autoinfeksi, terutama di daerah pedesaan dengan sanitasi yang buruk. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan dan distribusi larva Strongyloides sp. pada tanah sawah di Desa Pematang Hambawang (PH), Kabupaten Banjar, Kalimantan Selatan, Indonesia. Sebanyak 44 sampel tanah diambil menggunakan teknik stratified random sampling dari empat lokasi yang berbeda dan diperiksa menggunakan metode Baermann funnel. Hasil penelitian menunjukkan tingkat kontaminasi tanah yang bervariasi, dengan prevalensi tertinggi pada PH 3 (72%) dan PH 4 (66%), sedangkan yang terendah terdapat pada PH 2 (27%). Variasi ini dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti kelembapan tanah dan aktivitas pertanian. Temuan ini menunjukkan bahwa tanah sawah di daerah penelitian terkontaminasi larva Strongyloides sp, sehingga berpotensi menjadi sumber penularan bagi petani yang bekerja tanpa alas kaki dan sering kontak langsung dengan tanah. Metode Baermann terbukti efektif untuk mendeteksi larva hidup dan dapat digunakan sebagai alat surveilans lingkungan. Penelitian ini menekankan pentingnya peningkatan sanitasi, promosi perilaku protektif, dan penelitian lanjutan yang menggabungkan pemeriksaan tanah dan tinja manusia untuk memahami pola penularan secara lebih komprehensif.

Kata Kunci: *Strongyloides stercoralis, soil-transmitted helminth, Metode Baermann*

PENDAHULUAN

Infeksi yang disebabkan oleh *Strongyloides stercoralis* masih menjadi permasalahan kesehatan masyarakat yang sering terabaikan, khususnya di wilayah tropis dan subtropis. Menurut laporan *World Health Organization* (2023), diperkirakan lebih dari 600 juta orang di dunia terinfeksi Strongyloides, dengan prevalensi yang lebih tinggi pada penduduk pedesaan yang mengalami sanitasi buruk serta keterbatasan akses terhadap air bersih. Infeksi ini memiliki karakteristik unik karena cacing tersebut dapat berkembang biak di dalam tubuh manusia melalui mekanisme autoinfeksi, sehingga menimbulkan infeksi kronis yang dapat berlangsung bertahun-tahun tanpa gejala yang jelas (Kurscheid et al., 2020).

Di Indonesia, *Strongyloides stercoralis* termasuk dalam kelompok soil-transmitted helminths (STH) yang sering ditemukan bersama *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, dan cacing tambang (*hookworm*) (Kridaningsih et al., 2020). Infeksi STH masih menjadi masalah kesehatan yang signifikan, terutama di daerah pedesaan dan komunitas yang bergantung pada sektor pertanian (Sedionoto, 2024).

Studi epidemiologi yang dilakukan di Papua menunjukkan bahwa prevalensi *Strongyloides stercoralis* cukup tinggi dan dipengaruhi oleh faktor lingkungan serta perilaku, seperti kontak langsung dengan tanah tanpa pelindung kaki (Kridaningsih et al., 2020). Penelitian lain di Kalimantan Timur juga mengidentifikasi faktor risiko utama, termasuk kebiasaan bertani di daerah hutan hujan tropis serta kurangnya sanitasi yang (Sedionoto, 2024; Sedionoto et al., 2025).

Data ini mengindikasikan bahwa meskipun program pencegahan infeksi cacing tanah telah diterapkan di Indonesia, pengendalian *Strongyloides stercoralis* masih belum optimal dan memerlukan perhatian khusus (Kridaningsih et al., 2020; Sedionoto, 2024).

Tanah memegang peranan penting dalam siklus hidup dan penyebaran

Strongyloides stercoralis. Larva infektif yang dikenal sebagai *filariform larvae* dapat bertahan hidup di tanah yang lembap dan hangat, kemudian menembus kulit manusia saat terjadi kontak langsung, misalnya ketika berjalan tanpa alas kaki di area persawahan atau perkebunan (Page et al., 2018). Faktor lingkungan seperti kelembapan tanah, suhu, dan kebersihan lingkungan sangat memengaruhi kelangsungan hidup larva di dalam tanah. Kondisi sanitasi yang buruk, drainase yang tidak memadai, serta kebiasaan masyarakat yang tidak menggunakan alas kaki menjadi faktor risiko utama yang mendukung tingginya kontaminasi larva di lingkungan. Oleh karena itu, pemeriksaan kontaminasi tanah sangat penting untuk memetakan risiko penularan di suatu komunitas, khususnya di daerah dengan aktivitas pertanian yang intensif (Ekobol et al., 2025).

Berbagai metode laboratorium telah dikembangkan untuk mendeteksi larva *Strongyloides*, baik dalam sampel tinja maupun tanah. Metode *Baermann funnel* merupakan teknik yang paling umum digunakan, dengan memanfaatkan kemampuan larva hidup untuk bermigrasi melalui media cair. Metode ini dianggap memiliki sensitivitas lebih tinggi dibandingkan metode konvensional seperti flotation, khususnya dalam mendeteksi larva *Strongyloides stercoralis* yang masih hidup (Beknazarova et al., 2016). Nieves et al. (2024) juga melaporkan bahwa metode *Baermann* lebih efektif dalam mengisolasi larva dibandingkan teknik lainnya, sehingga menjadi pilihan tepat untuk surveilans lingkungan. Meskipun demikian, penerapan metode ini di Indonesia masih terbatas dan data mengenai tingkat kontaminasi larva di tanah sawah belum banyak tersedia, terutama di daerah pedesaan seperti Kalimantan Selatan.

Desa Pematang Hambawang di Kabupaten Banjar merupakan salah satu wilayah yang berdampingan dengan desa Tambak Danau dimana pada desa Tambak Danau terdapat hasil pemeriksaan *Strongyloides stercoralis* sebesar 1,8% dari 224 sampel feses (Kristi et al., 2025) dan dari 66 sampel tanah 42,4% ditemukan larva *Strongyloides sp*. Sebagian besar penduduk desa ini bekerja sebagai petani dan memiliki kebiasaan yang dapat meningkatkan risiko terpapar

infeksi STH, seperti bekerja tanpa menggunakan alas kaki serta kurangnya fasilitas sanitasi yang memadai. Kondisi tersebut juga sama persis pada desa Pematang Hambawang sehingga menjadikan desa ini lokasi yang tepat untuk penelitian mengenai kontaminasi *Strongyloides sp.* di tanah sawah. Hingga saat ini, belum ada penelitian yang secara khusus memetakan keberadaan larva *Strongyloides sp.* di wilayah tersebut.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi sampel tanah sawah dengan karakteristik gembur, lembap, dan becek, yang diambil dari area persawahan di Desa Pematang Hambawang, Kabupaten Banjar, Kalimantan Selatan. Larutan yang digunakan terdiri dari aquades (air suling), larutan NaCl fisiologis 0,9% sebagai media dalam metode Baermann, serta larutan Lugol untuk keperluan pewarnaan dan identifikasi morfologi larva. Selain itu, bahan pendukung seperti plastik klip berukuran 30 × 40 cm, klem saringan dengan lapisan kasa logam berukuran 1 mm, objek glass berukuran 26 × 76 mm, cover glass berukuran 20 × 20 mm, kertas label, dan sarung tangan plastik juga digunakan dalam proses penelitian.

Instrumen yang dipakai meliputi pot sampel berukuran 2 × 25 cm, timbangan digital, corong kaca (Baermann funnel), tabung karet, batang corong saringan, tabung reaksi berkapasitas 10 ml, erlenmeyer berkapasitas 500 ml, mikroskop cahaya dengan perbesaran 10x dan 40x, sentrifuge, ice box, serta sekop besi mini yang steril.

Sampel tanah sawah diambil menggunakan teknik Stratified Random Sampling, yaitu dengan membagi area persawahan menjadi beberapa garis atau strata untuk memastikan keterwakilan sampel yang lebih baik. Total sampel yang dikumpulkan sebanyak 44 titik, dengan distribusi 10 titik pada garis pertama, 11 titik pada garis kedua, 11 titik pada garis ketiga, dan 12 titik pada garis keempat. Jarak antar titik pengambilan sekitar 100 meter. Pengambilan sampel dilakukan pada kedalaman 10–15 cm menggunakan sekop besi mini

steril. Setelah diambil, sampel tanah dimasukkan ke dalam plastik klip, diberi label sesuai nomor titik pengambilan, kemudian disimpan dalam ice box dan diproses paling lambat 24 jam setelah pengambilan (Nieves et al., 2024).



Gambar 1. Peta lokasi titik pengambilan sampel di Desa Pematang Hambawang, Kabupaten Banjar.

Persiapan dan pengumpulan sampel dilakukan dengan membagi area sawah menjadi empat garis berdasarkan luas wilayah, lalu menentukan titik pengambilan secara acak di setiap garis. Tanah diambil dari kedalaman 10–15 cm menggunakan sekop steril, kemudian dimasukkan ke dalam plastik klip bersih dan diberi label. Sampel yang sudah diberi label disimpan dalam ice box untuk menjaga viabilitas larva sebelum dibawa ke laboratorium. Pemeriksaan dilakukan maksimal 24 jam setelah pengambilan.

Metode pemeriksaan yang digunakan adalah Baermann funnel technique untuk mendeteksi larva Strongyloides stercoralis. Prosedurnya dilakukan dengan cara menimbang sekitar 50 gram tanah, membungkusnya dengan kain kasa, kemudian meletakkannya pada saringan yang terpasang di dalam corong

kaca. Corong diisi dengan larutan NaCl fisiologis 0,9% hingga sampel terendam. Sampel dibiarkan selama 12–24 jam agar larva bermigrasi ke bagian bawah corong. Setelah itu, 10 ml larutan di bagian bawah corong diambil menggunakan pipet tetes, kemudian dipindahkan ke tabung reaksi. Jika diperlukan, larutan disentrifugasi pada kecepatan 1500 rpm selama 5 menit. Hasil akhir diperiksa di bawah mikroskop dengan perbesaran 40x. Identifikasi larva dilakukan berdasarkan ciri morfologi khas, seperti esofagus panjang dan ujung ekor yang runcing (Page et al., 2018).

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dengan menghitung jumlah sampel positif dan negatif. Hasil analisis disajikan dalam bentuk tabel dan persentase menggunakan rumus:

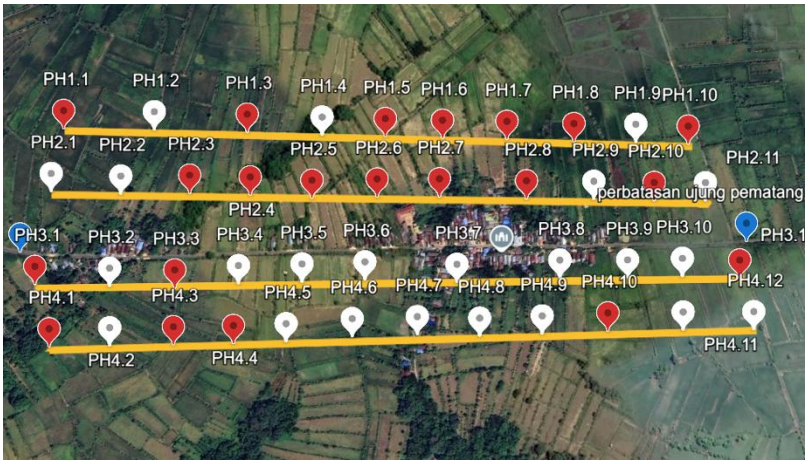
$$100\% \times \frac{JUMLAH\ SAMPEL\ POSITIF}{TOTAL\ SAMPEL} = PRESENTASE$$

Pengolahan data dilakukan menggunakan Microsoft Excel 2021.

Penelitian ini telah mendapatkan izin dari Kepala Desa Pematang Hambawang dan Dinas Kesehatan Kabupaten Banjar. Karena penelitian hanya menggunakan sampel tanah dan tidak melibatkan manusia maupun hewan, persetujuan etik dari komite etik kesehatan tidak diperlukan. Seluruh prosedur penelitian dilakukan sesuai dengan prinsip *Good Laboratory Practice* (GLP) dan standar keselamatan kerja laboratorium.

HASIL

Hasil pemeriksaan sampel tanah sawah menggunakan metode Baermann menunjukkan adanya larva *Strongyloides sp*. pada beberapa titik pengambilan di Desa Pematang Hambawang, Kabupaten Banjar. Total sampel yang diperiksa berjumlah 44 titik, yang tersebar pada empat garis pengambilan. Dari hasil pemeriksaan, ditemukan bahwa jumlah sampel positif bervariasi antar lokasi.

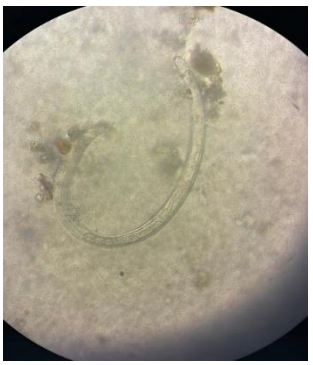


Gambar 2. Titik pengambilan tanah hasil positif (warna putih); hasil negative (warna merah)

Tabel 1. Distribusi hasil pemeriksaan

NO	Tempat Pengambilan	Titik Pengambilan	Hasil Positif	Persentase
1	PH 1	10	3	30%
2	PH 2	11	3	27%
3	PH 3	11	8	72%
4	PH 4	12	8	66%

Berdasarkan tabel tersebut, terlihat bahwa persentase tertinggi terdapat pada garis titik PH 3 dengan nilai 72%, diikuti oleh garis titik PH 4 dengan 66%. Sementara itu, persentase terendah ditemukan pada garis titik PH 2 sebesar 27%. Secara umum, hasil ini menunjukkan bahwa tingkat kontaminasi tanah oleh larva *Strongyloides sp.* berbeda-beda pada setiap area pengambilan, dengan kecenderungan lebih tinggi pada area yang memiliki kelembapan lebih tinggi dan aktivitas pertanian yang lebih intensif.



Gambar 3. Hasil Positif Larva *Strongyloides* sp. Pada Pengamatan mikroskopis

Gambar 3 menunjukkan morfologi larva yang merupakan ciri utama identifikasi *Strongyloides sp*. dimana terdapat *buccal canal, esophagus* dan *genital primordium*. *Buccal canal* pada larva *Strongyloides sp*. lebih pendek dibandingkan dengan larva cacing tambang, struktur *esophagus* tampak lebih Panjang dan *genital primordium* merupakan struktur awal dari system reproduksi pada larva *Strongyloides sp* (Nurmansyah et al., 2025).

DISKUSI

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya larva *Strongyloides sp* pada sampel tanah sawah di Desa Pematang Hambawang, Kabupaten Banjar. Dari 44 titik sampel yang diperiksa menggunakan metode Baermann, ditemukan bahwa tingkat kontaminasi bervariasi antar lokasi, dengan persentase tertinggi pada area PH 3 (72%) dan terendah pada area PH 2 (27%). Variasi ini dipengaruhi oleh perbedaan faktor lingkungan dimana pada area PH 3 dan PH 4 terdapat sungai kecil yang masih digunakan warga salah satunya BAB serta terdapat kelembapan tanah, suhu, serta aktivitas manusia di area persawahan. Temuan ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan tingginya prevalensi infeksi *Strongyloides* pada daerah dengan kondisi sanitasi yang buruk dan kebiasaan masyarakat yang sering kontak langsung dengan tanah tanpa pelindung kaki

Penelitian yang dilakukan di Desa Bekoso dan Desa Damit, Kalimantan Timur, menemukan bahwa 60% sampel tanah di Desa Bekoso dan 20% di Desa Damit positif mengandung larva *Strongyloides sp.* menggunakan metode Baermann. Hal ini mendukung bahwa metode Baermann memiliki sensitivitas yang tinggi untuk mendeteksi larva yang bergerak aktif di media cair (Kristi et al., 2025)

Penelitian ini juga memperkuat laporan kasus yang dilakukan oleh Kristi et al. (2025), yang menemukan adanya empat kasus infeksi *S. stercoralis* pada petani di Kabupaten Banjar. Studi tersebut juga mendeteksi larva hidup pada sampel tanah yang diambil dari sawah, menunjukkan bahwa lingkungan berperan sebagai reservoir penting dalam siklus penularan. Kebiasaan

masyarakat yang bekerja di sawah tanpa alas kaki dan mencuci tangan serta kaki di genangan air yang juga digunakan untuk buang air besar meningkatkan risiko transmisi infeksi.

Jika dibandingkan dengan hasil penelitian di Kabupaten Tanah Bumbu oleh Nurmansyah et al. (2025). tingkat kontaminasi tanah pada penelitian ini relatif lebih rendah. Studi di Tanah Bumbu menemukan 100% sampel tanah dari area persawahan dan 93,3% dari area perkebunan positif larva cacing tambang (hookworm). Perbedaan ini dapat disebabkan oleh karakteristik tanah yang berbeda. Tanah di Tanah Bumbu sebagian besar gembur dan berpasir, yang lebih mendukung pertumbuhan larva cacing tambang, sedangkan tanah di Desa Pematang Hambawang cenderung liat dan lebih basah sehingga lebih sesuai untuk perkembangan larva *Strongyloides stercoralis*.

Selain faktor lingkungan, faktor perilaku juga berpengaruh signifikan terhadap tingkat kontaminasi tanah. Kristi et al. (2025) melaporkan bahwa semua individu yang positif *S. stercoralis* adalah petani perempuan yang jarang menggunakan alas kaki saat bekerja. Hal ini sejalan dengan penelitian ini, di mana area dengan aktivitas pertanian yang lebih tinggi menunjukkan tingkat kontaminasi larva yang lebih besar. Metode Baermann yang digunakan dalam penelitian ini terbukti efektif dalam mendeteksi larva *Strongyloides*, karena memanfaatkan kemampuan larva hidup untuk bermigrasi ke bawah menuju media cair (Nurmansyah et al., 2025).

Metode ini juga direkomendasikan oleh *WHO* (2021) sebagai metode standar untuk mendeteksi larva *S. stercoralis* dalam sampel tanah maupun feses, meskipun memiliki keterbatasan seperti waktu pemeriksaan yang relatif lama dan sensitivitas yang dapat dipengaruhi oleh jumlah larva dan jenis tanah. Hasil penelitian ini menunjukkan perlunya intervensi kesehatan masyarakat, termasuk peningkatan sanitasi, penyediaan jamban, serta edukasi tentang penggunaan alas kaki saat bekerja di sawah. Tanpa intervensi yang tepat, kontaminasi tanah akan terus menjadi sumber penularan yang sulit dikendalikan, terutama di daerah pedesaan dengan tingkat sosioekonomi rendah. Mengingat ivermectin sebagai obat lini pertama untuk pengobatan

strongyloidiasis belum tersedia secara luas di Indonesia, pencegahan menjadi langkah yang paling efektif untuk mengurangi beban penyakit ini (Kristi et al., 2025)

KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa tanah sawah di Desa Pematang Hambawang, Kabupaten Banjar, terkontaminasi oleh larva *Strongyloides sp*. dengan tingkat kontaminasi yang bervariasi antar lokasi. Persentase tertinggi ditemukan pada area PH 3 (72%) dan PH 4 (66%), sedangkan yang terendah pada PH 2 (27%). Metode Baermann terbukti efektif untuk mendeteksi larva S. stercoralis pada sampel tanah.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Kepala Desa Pematang Hambawang, Dinas Kesehatan Kabupaten Banjar, dan masyarakat setempat yang telah memberikan izin serta dukungan dalam pelaksanaan penelitian ini. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada pihak laboratorium RSUD Ratu Zalecha Martapura yang telah memfasilitasi proses analisis sampel.

KONFLIK KEPENTINGAN

Semua penulis menyatakan bahwa tidak terdapat konflik kepentingan dalam penelitian ini.

REFRENSI

Baeknazarova, M., Whiley, H., & Ross, K. (2016). Strongyloidiasis: A Disease of Socioeconomic Disadvantage. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *13*(5), 517. https://doi.org/10.3390/ijerph13050517

Diagnostic Methods for the Control of Strongyloidiasis, Virtual Meeting, 29 September 2020 (1st ed). (2021). World Health Organization.

Ekobol, N., Boonjaraspinyo, S., Eamudomkarn, C., & Boonmars, T. (2025). Tricky

with Heat and Salt: Soil Factors, Thermotaxis, and Potential for Heat–Saline Agar Trapping of Strongyloides Larvae. *Biology*, *14*(5), 559. https://doi.org/10.3390/biology14050559

Kridaningsih, T. N., Sukmana, D. J., Mufidah, H., Diptyanusa, A., Kusumasari, R. A., Burdam, F. H., Kenangalem, E., Poespoprodjo, J. R., Fuad, A., Mahendradhata, Y., Supargiyono, S., Utzinger, J., Becker, S. L., & Murhandarwati, E. E. H. (2020). Epidemiology and risk factors of *Strongyloides stercoralis* infection in Papua, Indonesia: A molecular diagnostic study. *Acta Tropica*, *209*, 105575. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105575

Kristi, P. P., Kusumasari, P., Puspawati, P., Tanzil, Y., Nurmansyah, D., Syairaji, M., Kusumasari, R. A., Sholikhah, E. N., Buehler, N., Sy, I., Schneitler, S., Becker, S. L., & Murhandarwati, E. H. (2025). Human strongyloidiasis in rural villages of South Kalimantan, Indonesia: A case series. *Narra J*, *5*(3). https://doi.org/10.52225/narra.v5i3.2515

Kurscheid, J., Laksono, B., Park, M. J., Clements, A. C. A., Sadler, R., McCarthy, J. S., Nery, S. V., Soares-Magalhaes, R., Halton, K., Hadisaputro, S., Richardson, A., Indjein, L., Wangdi, K., Stewart, D. E., & Gray, D. J. (2020). Epidemiology of soil-transmitted helminth infections in Semarang, Central Java, Indonesia. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, *14*(12), e0008907. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008907

Nieves, E., Fleitas, P., Juárez, M., Almazán, C., Flores, G., Alani, J., Diaz, R., Martos, J., Cajal, P., Cimino, R., & Krolewiecki, A. (2024). Comparison of parasitological methods for the identification of soil-transmitted helminths, including Strongyloides stercoralis, in a regional reference laboratory in northwestern Argentina: An observational study. *Parasite Epidemiology and Control*, *26*, e00370. https://doi.org/10.1016/j.parepi.2024.e00370

Nurmansyah, D., Julpadli, M., Sasmitha, M. H., Humairah, S., Ansari, M. H., Nisa, S., Mudzakkir, M., & Zalianty, F. (2025). Optimasi Metode Baermann untuk deteksi Larva Soil Transmitted Helmints pada tanah di Tanah Bumbu. *Indonesian Journal of Microbiology*, *2*(2), 9–9. https://doi.org/10.47134/ijm.v2i2.4618

Nurmansyah, D., Zalianty, F., & Sasmitha, M. H. (2025). *Eksplorasi Larva Strongyloides sp Menggunakan Metode Baermann pada Sampel Tanah di Desa Bekoso dan Desa Damit Kalimantan Timur*. *3*(3).

Page, W., Judd, J., & Bradbury, R. (2018). The Unique Life Cycle of Strongyloides stercoralis and Implications for Public Health Action. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, *3*(2), 53. https://doi.org/10.3390/tropicalmed3020053

Sedionoto, B. (2024). Essential Environmental Risk Factors of Strongyloides stercoralis Infection Surrounding Tropical Rainforest East Kalimantan, Indonesia. *Recent Updates in Disease and Health Research Vol. 8*, 110–126. https://doi.org/10.9734/bpi/rudhr/v8/560

Sedionoto, B., Wasessombat, S., Jeenduang, N., Punsawad, C., & Tangpong, J. (2025). *Environmental Risk Factors of Hookworm and Strongyloidesstercoralis Infections Among School Children in Rural Areas Kutai Kertanegara Regency, Indonesia*.

Soil-transmitted helminth infections. (2023). Retrieved September 12, 2025, from https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/soil-transmitted-helminth-infections

PERBANDINGAN PENYEMBUHAN LUKA PEMBERIAN EKSTRAK DAUN MANGROVE (*Bruguiera gymnorrhiza*) DAN GEL BIOPLACENTON SECARA IN-VIVO

Silvia Andriani[1] · Evi Kurniawaty[2] · Iffa Afiqa Khairani[3] · Anissa Billa[1]

[1] **Fakultas Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Pringsewu Lampung Indonesia**
[2] **Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, Lampung Indonesia**
[3] **Fakultas Sains Institut Teknologi Sumatera Lampung Indoensia**

**e-Mail: silviaandriani@umpri.ac.id*

Abstract

A wound is a loss of continuity of the anatomical structure of body tissue, which can be caused by pathological processes from within or outside the body. The wound healing process involves four stages: hemostasis, inflammation, proliferation, and maturation. Bruguiera gymnorrhiza is a type of mangrove plant rich in bioactive compounds. Leaf extract from the Bruguiera gymnorrhiza mangrove contains bioactive compounds that can function as antibacterial, anti-inflammatory, analgesic, and proliferative agents, thus influencing the wound healing process. The study sample consisted of 30 rats divided into three intervention groups: K-: topical 0.2 cc of distilled water, K+: topical 0.2 cc of bioplacenton gel, and P1: topical 0.2 cc of 80% Bruguiera gymnorrhiza leaf extract with 14 days of observation. The results of the study showed that topical Bruguiera gymnorrhiza leaf extract 80% affected macroscopic wound healing in the form of a decrease in the length of the wound to 0.27 cm on the 14th day in the Kruskal-Wallis test, which showed a significant difference in macroscopic wound healing (p <0.05) between K-, K+, and P1. Topical Bruguiera gymnorrhiza leaf extract 80% affected macroscopic wound healing in the form of a decrease in the length of the cut wound and there was a significant difference in macroscopic wound healing between K-, K+, and P1 at a dose of 0.2 cc / day.
***Keywords**: Bruguiera gymnorrhiza, wound, bioactive, extract*

Abstrak

Luka merupakan kehilangan kesinambungan struktur anatomi jaringan tubuh, yang dapat disebabkan oleh proses patologis dari dalam atau luar tubuh. Proses penyembuhan luka melibatkan empat tahap, yaitu hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan maturasi. *Bruguiera gymnorrhiza* adalah jenis tanaman bakau yang kaya akan senyawa bioaktif. Ekstrak daun dari bakau *Bruguiera gymnorrhiza* mengandung senyawa bioaktif yang dapat berfungsi sebagai agen antibakteri, antiinflamasi, analgetik, dan agen proliferasi, sehingga dapat mempengaruhi proses penyembuhan luka. Sampel penelitian ini terdiri dari 30 ekor tikus terbagi menjadi 3 kelompok intervensi. K-: aquades 0,2 cc topikal, K+: gel bioplacenton 0,2 cc topikal, P1: ekstrak daun *Bruguiera gymnorrhiza* 80% 0,2 cc topikal dengan observasi selama 14 hari. Hasil penelitian didapatkan topikal ekstrak daun *Bruguiera gymnorrhiza* 80% mempengaruhi makroskopis penyembuhan luka berupa penurunan ukuran panjang luka menjadi sebesar 0,27 cm pada hari ke-14 pada uji *Kruskal-wallis* menunjukkan adanya perbedaan signifikan makroskopis penyembuhan luka ($p < 0,05$) antara K-, K+, dan P1. Topikal ekstrak daun *Bruguiera gymnorrhiza* 80% mempengaruhi makroskopis penyembuhan luka berupa penurunan panjang luka sayat dan terdapat perbedaan signifikan pada makroskopis penyembuhan luka antara K-, K+, dan P1 pada dosis 0,2 cc / hari.
Kata kunci: *Bruguiera gymnorrhiza*, luka, bioaktif, Ekstrak

PENDAHULUAN

Luka merupakan kehilangan kesinambungan struktur anatomi jaringan tubuh, mulai dari lapisan superfisial seperti lapisan epitel kulit hingga lapisan yang lebih dalam, seperti jaringan subkutis, lemak, otot, tulang, tendon, pembuluh darah, dan syaraf (Ribeiro Pereira et al., 2020). Luka dapat disebabkan oleh proses patologis dari dalam atau luar tubuh (Primadina et al., 2019). Terdapat dua jenis luka paling utama, yaitu luka akibat trauma tumpul dan luka akibat trauma tajam. Luka akibat trauma tumpul dibagi menjadi tiga kategori, yaitu luka lecet (*Vulnus abrasio*), luka memar (*Vulnus contusio*), dan luka robek (*Vulnus laceratum*). Sementara luka akibat trauma tajam terdiri dari luka bacok (*Vulnus caesum*), luka iris (*Vulnus scissum*), dan luka tusuk (*Vulnus punctum*)(Gonzalez et al., 2016).

Tubuh memiliki kemampuan untuk regenerasi sel dan jaringan yang rusak dengan membentuk struktur baru dan fungsional akibat luka melalui proses penyembuhan. Proses penyembuhan luka terdiri dari empat fase yaitu yaitu hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan maturasi. Pada fase hemostasis dimulai setelah terjadi luka maka tubuh merespon luka dengan aktivasi, adhesi, serta agregasi trombosit di daerah luka(Purnama et al., 2019). Agregasi trombosit akan membentuk massa (*clotting*) yang menstimulasi migrasi sel-sel radang pada fase inflamasi. Fase inflamasi ditandai dengan leukosit pada daerah luka yang memicu respon inflamasi yaitu tumor, kalor, rubor, dolor, dan *functio laesa* (Fadillah et al., 2023). Dilanjutkan fase profilerasi terdiri dari 3 komponen utama yaitu neoangiogenesis, fibroblas, dan re-epitelisasi dengan tujuan menutup jaringan luka. Sedangkan fase maturasi ditandai dengan remodeling kolagen yaitu kolagen tipe III mengalami degradasi dan digantikan oleh kolagen tipe I(Sugiyanti et al., 2018). Saat ini pengobatan luka sangat bervasiasi dan obat – obatan kimia sintetis terdiri dari berbagai komponen yang saling bersinergi ataupun memiliki efek samping antagonis antar komponen sehingga

menimbulkan efek buruk jika dikonsumsi secara terus menerus. Penggunaan obat-obatan bahan alam cenderung memiliki efek samping yang lebih sedikir dibandingakan dengan obat sintetis karena tubuh lebih mudah menerima dalam mengolah senyawa-senyawa alami. Salah satu tanaman yang memiliki manfaat sebagai obat luka terdapat pada tanamana bakau jenis *Bruguiera gymnorrhiza*.

Tanaman bakau jenis *Bruguiera gymnorrhiza* adalah salah satu jenis bakau yang memiliki kandungan senyawa bioaktif(Aminah et al., 2023). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, senyawa bioaktif pada ekstrak daun bakau *Bruguiera gymnorrhiza* dengan pelarut etanol ditemukan senyawa flavonoid, tanin, fenol hidrokuinon, saponin, steroid, dan triterpenoid(Asri et al., 2019). Golongan senyawa fenolik yang berfungsi sebagai antimikroba. Metabolit sekunder yang terdapat pada bakau *Bruguiera gymnorrhiza* memiliki banyak manfaat yaitu flavonoid sebagai agen proliferasi dan antiinflamasi, senyawa steroid sebagai antibakteri serta antiinflamasi, sedangkan saponin dan triterpenoid memiliki fungsi sebagai antiinflamasi(Rimbi Anggraini et al., 2018). Kandungan senyawa bioaktif pada ekstrak daun *Bruguiera gymnorrhiza* dapat mempengaruhi proses penyembuhan luka pada fase inflamasi dan proliferasi(Akib et al., n.d.). Ekstrak daun bakau *Bruguiera gymnorrhiza* dengan potensinya sebagai agen antimikroba, antiinflamasi, agen proliferasi dan analgetik maka tujuan penelitian ini untuk mengetahui ekstrak daun bakau *Bruguiera gymnorrhiza* dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan luka sayat dan perbedaan pengaruhnya dengan pemberian gel bioplacenton yang dilihat secara makroskopis.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan desain penelitian *post test only control group design*. Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah 30 ekor tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang terbagi menjadi 3 kelompok termasuk *drop out* sebanyak 10%. Besar sampel pada penelitian ini setiap kelompok terdiri dari 9 ekor tikus

Kelompok intervensi terdiri dari kelompok kontrol negatif (K-), kelompok kontrol positif (K+), dan kelompok perlakuan 1 (P1). Pada (K-) diberikan aquades sebanyak 0,2 cc secara topikal pada luka sayat, 1 kali per hari. Pada (K+) diberikan gel bioplacenton sebanyak 0,2 cc secara topikal pada luka sayat 1 kali per hari. Pada (P1) diberikan ekstrak daun bakau *Bruguiera gymnorrhiza* 80% sebanyak 0,2 cc secara topikal pada luka sayat 1 kali per hari.

Prosedur pada penelitian ini dimulai dengan pembuatan ekstrak daun *Bruguiera gymnorrhiza* 80% dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol selama 24 jam dilanjutkan dengan evaporasi sampai didapatkan ekstrak kental dalam bentuk pasta,selanjutnya pembuatan luka sayat pada punggung tikus sepanjang 2 cm dan kedalaman 2 mm yang telah dicukur bulunya dengan diameter 4 cm yang kemudian diberikan anestesi *lidocaine* secara topikal, dan intervensi serta observasi pada K-, K+, dan P1 dalam 14 hari. Tahap pengamatan merupakan kegiatan pengamatan dan penilian makroskopis luka sayat pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* dilakukan pada hari ke-1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, dan 14.Hasil pengamatan berupa pengukuran panjang luka sayat Analisis data penelitian ini dilakukan dengan uji normalitas *Shapiro-wilk*, uji homogenitas *Levenne*, dan uji non parametrik *Kruskal-wallis*.

HASIL

Data hasil pengukuran panjang luka sayat pada setiap kelompok perlakuan disajikan dalam bentuk tabel sebagai berikut.

Tabel 1. Rata-rata Panjang Luka Sayat

	Rata-rata panjang luka (cm) pada hari ke:							
	1	3	5	7	9	11	13	14
K-	2	1,66	1,48	1,29	0,87	0,73	0,69	0,63
K+	1,90	1,74	1,37	1,2	0,97	0,76	0,62	0,53
P1	2	1,82	1,62	1,24	0,88	0,53	0,31	0,27

Data panjang luka sayat pada hari ke 14

Tabel 2. Uji Homogenitas dan Uji Normalitas

Kelompok Intervensi	Uji Normalitas Shapiro-wilk	Uji Homogenitas Levenne
K-	0,034	
K+	0,011	0,266
P1	<0,001	

Tabel 3. Uji *Kruskal-wallis*

	Panjang Luka Sayat Hari ke-14
Asym. Sig.	0,0030

DISKUSI

Berdasarkan pengamatan terhadap rata-rata ukuran panjang luka pada hari ke-14 didapatkan K- memiliki rata-rata sebesar 0,63 cm, K+ memiliki rata-rata sebesar 0,53 cm, dan P1 memiliki rata-rata sebesar 0,27 cm. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa topikal ekstrak daun bakau *Bruguiera gymnorrhiza* pada konsentrasi 80% dengan dosis 0,2 cc, 1 kali sehari mempengaruhi penyembuhan luka sayat pada kulit tikus putih makroskopis dalam bentuk penurunan diameter panjang luka. Penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa ekstrak kulit batang bakau *Bruguiera gymnorrhiza* 80% mempengaruhi penyembuhan luka sayat pada kulit tikus dalam bentuk penurunan panjang luka dalam rerata waktu 7,6 hari. Penelitian lain oleh Wahyuni menyatakan bahwa pemberian ekstrak daun bakau *Bruguiera gymnorrhiza* dapat memberikan efek penyembuhan area luka bakar.

Pada kelompok perlakuan P1didapatkan rata-rata yang signifikan semakin bertambah nya hari diameter luka semakin kecil. Hal tersebut menunjukkan bahwa kandungan metabolit sekunder pada ekstrak daun *Bruguiera gymnorrhiza*

berpotensi dalam penyembuhan luka(Roy et al., 2022).

Senyawa fenolik terutama flavonoid dalam ekstrak daun *Bruguiera gymnorrhiza* dianggap sebagai antibiotik spektrum luas yang potensial(Mahmud et al., 2017). Senyawa fenolik ekstrak daun *Bruguiera gymnorrhiza* dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif (*S. aureus* dan *B. cereus*) dan bakteri gram negatif (*E. coli* dan *P. aeruginosa*). Flavonoid bekerja dengan menghambat biosintesis asam nukleat, enzim (ATPase, fosfolipase A2, prostaglandin siklooksigenase, dan lipoksigenase), beberapa proses metabolisme pada mikroorganisme. Flavonoid juga mempengaruhi permeabilitas membran sel yang menjadi dasar kuat aktivitas bakteri (Karim et al., 2020).

Aktivitas analgetik dari senyawa steroid, tanin, dan flavonoid dibuktikan melalui penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun bakau *Bruguiera gymnorrhiza* yang diberikan maka semakin cepat proses penyembuhan lukanya. Kandungan senyawa fenolik dalam ekstrak daun *Bruguiera gymnorrhiza* juga bekerja sebagai agen proliferasi dengan mempengaruhi fase proliferasi(Supriningrum et al., 2018)(Veer & Singh, 2019). Flavonoid mampu meningkatkan sintesis kolagen melalui peningkatan vaskularisasi sehingga suplai oksigen dan nutrisi ke jaringan luka berlangsung optimal yang mempengaruhi proses penyembuhan luka(Riyadi et al., 2021).

Uji *Kruskal-wallis* menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,0030 sehingga memenuhi $p < 0,05$ terdapat perbedaan penyembuhan luka sayat secara makroskopis berupa ukuran panjang luka pada hari ke-14 antara pemberian ekstrak daun bakau *Bruguiera gymnorrhiza* dan gel bioplacenton terhadap tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* (Dahibhate et al., 2022). Penelitian lain juga menyatakan bahwa pemberian topikal gel bioplacenton dengan dosis ± 1,5 gram menunjukkan hasil penutupan luka yang sempurna dalam waktu rata-rata 10,3 hari.(Kuswanti et al., 2024) pada Penelitian sebekumnya menyatakan bahwa pemberian ekstrak kulit batang bakau

Bruguiera gymnorrhiza 80% pada tikus menunjukkan penyembuhan luka sayat secara makroskopis dalam bentuk penurunan panjang luka sepenuhnya dalam waktu 7,6 hari. Hal tersebut sejalan dengan hasil penelitian ini dimana penutupan luka sepenuhnya terjadi 6 dari 9 tikus dalam 14 hari pengamatan. Hasil tersebut disebabkan kandungan senyawa fenolik terutama flavonoid yang lebih kuat pada ekstrak kulit batang dari pada ekstrak daun bakau. Flavonoid diketahui dapat bekerja sebagai antibakteri, antiinflamasi, dan agen proliferasi yang mempengaruhi proses penyembuhan luka sayat(Lin et al., 2020).

KESIMPULAN

Ekstrak daun bakau *Bruguiera gymnorrhiza* dengan dosis 80% dengan pelarut etanol mempengaruhi penyembuhan luka sayat pada kulit tikus putih jantan (*Ratus norvegicus*) galur *Sprague dawley* secara makroskopis dalam bentuk penurunan panjang luka sayat.

REFRENSI

Akib, S. N., Kurniawaty, E., Kedokteran, F., Lampung, U., Mikrobiologi, B., Kedokteran, F., & Lampung, U. (N.D.). *Perbedaan Pengaruh Pemberian Topikal Ekstrak Daun Bakau (Bruguiera Gymnorrhiza) Dan Gel Bioplacenton Pada Makroskopis Kulit Tikus Putih Jantan (Rattus Norvegicus) Galur Sprague Dawley Dengan Luka Sayat Differences In Effects Of Topical Administration Of Mangaro Leaves (Bruguiera Gymnorrhiza) And Bioplacenton Gel On The Macroscopic Skin Of Male White Rats (Rattus Norvegicus) Sprague Dawley Strain With Incision Wound*. *13*, 1303–1309.

Aminah, S., Ramadhan, M., & Latuconsina, H. (2023). *Effectiveness Test Of Mixed Extract Of Tanjang Merah (Bruguiera Gymnorrhiza) And Bogem (Sonneratia Caseolaris) In Preserved Milkfish (Chanos Chanos)*. *16*(2), 217–223.

Asri, R., Handayani, D., & Sundaryono, A. (2019). PROFIL FITOKIMIA DAN PENGARUH EKSTRAK TANGKAI DAUN TALAS KEMUMU (Colocasia Gigantea Hook.F) TERHADAP JUMLAH LEUKOSIT Mus Musculus. *Alotrop*, *3*(1). Https://Doi.Org/10.33369/Atp.V3i1.9038

Dahibhate, N. L., Shukla, S. K., & Kumar, K. (2022). A Cyclic Disulfide Diastereomer From Bioactive Fraction Of Bruguiera Gymnorhiza Shows Anti-Pseudomonas Aeruginosa Activity. *Frontiers In Pharmacology*, *13*.

Https://Doi.Org/10.3389/Fphar.2022.890790

Fadillah, S., Aji, D., & Anggraeni, D. (2023). Pemanfaatan Ekstrak Daun Kelor (Moringa Oleifera Lamk) Untuk Penyembuhan Luka Tikus Ovariektomi Yang Diberi Diet Tinggi Lemak. *Jurnal Sain Veteriner*, *41*(1), 63. Https://Doi.Org/10.22146/Jsv.77161

Gonzalez, A. C. De O., Costa, T. F., Andrade, Z. De A., & Medrado, A. R. A. P. (2016). Wound Healing - A Literature Review. *Anais Brasileiros De Dermatologia*, *91*(5), 614–620. Https://Doi.Org/10.1590/Abd1806-4841.20164741

Himalaya, D., & Maryani, D. (2022). Effects Of *Binahong* Leaf Decoction On Perineal Laceration Healing In Postpartum Women. *Global Medical & Health Communication (GMHC)*, *10*(2), 152–158. Https://Doi.Org/10.29313/Gmhc.V10i2.9355

Karim, A., Islam, A., Islam, M., Rahman, S., & Sultana, S. (2020). *Cytotoxic Effects And Anti-Bacterial Activity Of Selected Mangrove Plants (Bruguiera Gymnorrhiza And Heritiera Littoralis) In*.

Kuswanti, N., Qomariyah, N., Purnama, E. R., & Khaleyla, F. (2024). Bruguirea Gymnorrhyza Leaf Extract Metabolites: Oral Bioavailability And GI Absorption Predictions. *Journal Of Medicinal And Chemical Sciences*, *7*(3), 518–529. Https://Doi.Org/10.26655/JMCHEMSCI.2024.3.7

Lin, Y., Zheng, X., Chen, J., Luo, D., Xie, J., Su, Z., Huang, X., Yi, X., Wei, L., Cai, J., & Sun, Z. (2020). Protective Effect Of Bruguiera Gymnorrhiza (L.) Lam. Fruit On Dextran Sulfate Sodium-Induced Ulcerative Colitis In Mice: Role Of Keap1/Nrf2 Pathway And Gut Microbiota. *Frontiers In Pharmacology*, *10*. Https://Doi.Org/10.3389/Fphar.2019.01602

Mahmud, I., Zilani, M. N. H., Biswas, N. N., & Bokshi, B. (2017). Bioactivities Of Bruguiera Gymnorrhiza And Profiling Of Its Bioactive Polyphenols By HPLC-DAD. *Clinical Phytoscience*, *3*(1). Https://Doi.Org/10.1186/S40816-017-0048-5

Primadina, N., Basori, A., & Perdanakusuma, D. S. (2019). Proses Penyembuhan Luka Ditinjau Dari Aspek Mekanisme Seluler Dan Molekuler. *Qanun Medika - Medical Journal Faculty Of Medicine Muhammadiyah Surabaya*, *3*(1), 31. Https://Doi.Org/10.30651/Jqm.V3i1.2198

Purnama, H., Sriwidodo, & Ratnawulan, S. (2019). Proses Penyembuhan Dan Perawatan Luka. *Farmaka*, *15*(2), 251–256.

Ribeiro Pereira, P., Bertozzi De Aquino Mattos, É., Nitzsche Teixeira Fernandes

Corrêa, A. C., Afonso Vericimo, M., & Margaret Flosi Paschoalin, V. (2020). Anticancer And Immunomodulatory Benefits Of Taro (Colocasia Esculenta) Corms, An Underexploited Tuber Crop. *International Journal Of Molecular Sciences*, *22*(1), 265. Https://Doi.Org/10.3390/Ijms22010265

Rimbi Anggraini, R., Hendri, M., & Rozirwan, Dan. (2018). *Potensi Larutan Bubuk Daun Mangrove Bruguiera Gymnorrhiza Sebagai Pengawet Alami The Potential Of Bruguiera Gymnorrhiza Mangrove Leaf Solution Powder As Natural Preserver*. *10*(1), 51–62.

Riyadi, P. H., Tanod, W. A., Dewanto, D. K., Herawati, V. E., Susanto, E., & Aisiah, S. (2021). Chemical Profiles And Antioxidant Properties Of Bruguiera Gymnorrhiza Fruit Extracts From Central Sulawesi, Indonesia. *Food Research*, *5*, 37–47. Https://Doi.Org/10.26656/Fr.2017.5(S3).007

Roy, S., Zilani, M. N. H., Alrashada, Y. N., Islam, M. M., Akhe, F. K., Uddin, S. J., & Sarower, M. G. (2022). Profiling Of Bioactive Compounds And Antioxidant Activity Of Aquatic Weed Ipomoea Aquatica. *Aquaculture, Fish And Fisheries*, *2*(5), 425–435. Https://Doi.Org/10.1002/Aff2.56

Sugiyanti, D., Darmadji, P., Santoso, U., Pranoto, Y., Anwar, C., & Anggrahini, S. (2018). Biological Activity Of Native And Low Molecular Weight Chitosan Obtained By Steam Explosion Process. *Pakistan Journal Of Biological Sciences*, *21*(9), 441–447. Https://Doi.Org/10.3923/Pjbs.2018.441.447

Supriningrum, R., Fatimah, N., & Wahyuni, S. N. (2018). PENETAPAN KADAR FLAVONOID EKSTRAK ETANOL DAUN PACAR KUKU (Lawsonia Inermis L.) BERDASARKAN PERBEDAAN CARA PENGERINGAN. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, *4*(2), 156–161. Https://Doi.Org/10.51352/Jim.V4i2.195

Veer, B., & Singh, R. (2019). Phytochemical Screening and Antioxidant Activities of Aegle marmelos Leaves. *Analytical Chemistry Letters*, *9*(4), 478–485. https://doi.org/10.1080/22297928.2019.1657946

.

DAUN ANDONG (*Cordyline fruticosa* (L) A.Chev) SEBAGAI PEWARNA ALTERNATIF PEWARNA *WRIGHT STAIN* PADA SEDIAAN APUSAN DARAH TEPI

Nida Ariani[1*] · Putri Kartika Sari[1] · Nafila[1] · Muhammad Arsyad[1]

[1]D-III Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan dan Sains Teknologi, Universitas Borneo Lestari, Kalimantan Selatan, Indonesia

e-mail: nidaarianii29@unbl.ac.id
No wa : 085349385042

Abstract

Peripheral blood smear examination is essential in hematology to observe the morphology of erythrocytes, leukocytes, and platelets. The International Council for Standardization in Hematology recommends the Wright-Stain method for this purpose. However, Wright-Stain is a synthetic dye that is difficult to degrade, relatively expensive, and harmful to the environment. Therefore, natural alternatives such as andong leaves (Cordyline fruticosa (L.) A. Chev), which are rich in anthocyanins, offer potential as eco-friendly and affordable dyes. This study aimed to evaluate the effectiveness of andong leaf extract as a natural substitute for Wright-Stain in staining peripheral blood smears. The research used two treatments Wright-Stain and andong leaf extract-with 16 replications each. Microscopic observations showed that Wright-Stain produced clear erythrocyte morphology and accurate leukocyte and platelet staining. Meanwhile, andong leaf extract successfully stained erythrocytes but did not fully meet standard morphological criteria. However, leukocytes and platelets were stained adequately and in accordance with the staining standards. These findings indicate that andong leaf extract has the potential to serve as a natural alternative dye in hematological examinations, particularly for leukocyte and platelet staining, although optimization is needed to improve erythrocyte visualization.

Keywords : *Wright-Stain, peripheral blood smear, Andong Leaves*

Abstrak

Pemeriksaan apusan darah tepi sangat penting dalam hematologi untuk mengamati morfologi eritrosit, leukosit, dan trombosit. Dewan Internasional untuk Standardisasi Hematologi merekomendasikan metode Pewarnaan *Wright* untuk tujuan ini. Namun, Pewarnaan Wright merupakan pewarna sintetis yang sulit didegradasi, relatif mahal, dan berbahaya bagi lingkungan. Oleh karena itu, alternatif alami seperti daun andong (*Cordyline fruticosa (L.) A. Chev*), yang kaya akan antosianin, menawarkan potensi sebagai pewarna yang ramah lingkungan dan terjangkau. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas rendaman daun andong sebagai pengganti alami pewarnaan *wright* dalam pewarnaan apusan darah tepi. Penelitian ini menggunakan dua perlakuan Pewarnaan *Wright* dan rendaman daun andong-dengan masingmasing 16 kali ulangan. Pengamatan mikroskopis menunjukkan bahwa Pewarnaan *Wright* menghasilkan morfologi eritrosit yang jelas dan pewarnaan leukosit dan trombosit yang akurat. Sementara itu, rendaman daun andong berhasil mewarnai eritrosit tetapi tidak sepenuhnya memenuhi kriteria morfologi standar. Namun, leukosit dan trombosit terwarnai secara memadai dan sesuai dengan standar pewarnaan. Temuan ini menunjukkan bahwa ekstrak daun andong berpotensi sebagai pewarna alternatif alami dalam pemeriksaan hematologi, terutama untuk pewarnaan leukosit dan trombosit, meskipun optimasi diperlukan untuk meningkatkan visualisasi eritrosit.

Kata kunci : Wright-Stain, apusan darah tepi, Daun Andong

PENDAHULUAN

Pemeriksaan hematologi adalah prosedur untuk menilai kondisi sel-sel darah serta komponen darah yang terlarut dalam plasma. Pemeriksaan ini berguna untuk mengevaluasi kondisi kesehatan, menegakkan diagnosis penyakit, dan memantau efektivitas pengobatan pada seseorang. Melalui pemeriksaan hematologi, dapat diketahui adanya kelainan jumlah sel darah, gangguan fungsi darah, kelainan darah yang disebabkan oleh gangguan organ dalam tubuh, gangguan hemostasis (proses pembekuan darah), serta peningkatan jumlah leukosit (sel darah putih) yang biasanya menandakan adanya infeksi (Yati *et al*., 2023).

Pewarnaan pada sediaan apusan darah tepi (SADT) merupakan langkah penting dalam pemeriksaan hematologi untuk mengenali dan menilai morfologi sel darah seperti eritrosit, leukosit, dan trombosit, yang umumnya menggunakan pewarna sintetis seperti *Wright stain* yang mengandung metilen blue dan eosin (Nurfajrin *et al.,* 2023). *Wright*-Stain merupakan suatu metode yang digunakan untuk membedakan jenis sel darah. Larutan pewarna *Wright* umumnya akan mewarnai bagian sitoplasma dan inti sel menjadi sehingga lebih mudah dilihat. Hal ini disebabkan oleh komposisinya yang terdiri dari metilen biru, yang memberikan warna biru pada inti sel, dan eosin, yang memberikan warna merah pada sitoplasma. Keunggulan pewarna *Wright-Stain* sendiri termasuk kemampuan untuk mewarnai granula sel eosinofil dan basofil dengan jelas, fakta bahwa zat warna sudah siap pakai dan tidak perlu diencerkan. Kekurangan *wright* di sini adalah pewarnaan tidak tahan lama di iklim tropis karena bahan-bahannya tidak mudah terurai dan mudah terbakar. Selain itu, limbah pewarnaan *Wright-Stain* dalam jumlah besar merupakan pencemaran lingkungan yang berbahaya (Yati *et al.,* 2023).

Meskipun efektif, penggunaan pewarna sintetis memiliki sejumlah kelemahan, di antaranya berpotensi bersifat toksik, memerlukan biaya yang cukup tinggi, serta dapat menimbulkan dampak lingkungan akibat limbah bahan kimia yang dihasilkan (Nirmala Sari & Masrillah, 2022). Seiring dengan meningkatnya kesadaran akan kesehatan dan lingkungan, penelitian mengenai

pewarna alami sebagai alternatif pewarna sintetis dalam SADT semakin berkembang. Pewarna alami dianggap lebih aman, ramah lingkungan, dan ekonomis. Beberapa penelitian telah mengeksplorasi penggunaan ekstrak tumbuhan sebagai pewarna alami dalam SADT, seperti ekstrak ubi jalar ungu yang mengandung antosianin untuk mengamati eritrosit, terutama dalam melihat bentuk atau morfologinya (Alifah, 2022). Antosianin merupakan pigmen alami yang memberikan warna merah hingga ungu pada tanaman seperti buah naga, ubi ungu, kol ungu, dan pepaya, serta banyak ditemukan pada sayuran, bunga, dan buah-buahan (Wilujeng, 2017).

Hasil penelitian Wahyuni *et al.*, (2024) mengenai evaluasi efektivitas penggunaan rendaman daun andong digunakan sebagai alternatif pewarna alami pengganti eosin 2% dalam proses pengamatan mikroskopis telur cacing *Soil Transmitted Helminths* (STH) menunjukkan bahwa pigmen alami dari daun andong hanya dapat diekstraksi secara optimal melalui perendaman dalam larutan HCl 2N, dan telur cacing mampu menyerap warna secara maksimal pada konsentrasi 100%. Berdasarkan hal tersebut, peneliti tertarik untuk menguji rendaman daun andong sebagai pewarna alternatif metode pemeriksaan *wright stain* pada sediaan apusan darah tepi (SADT), sehingga penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah daun andong dapat digunakan sebagai alternatif pengganti pewarna *Wright Stain* pada Sediaan Apusan Darah Tepi (SADT).

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan pada penelitian ini, adalah daun andong (*Cordyline fruticosa (L.) A. Chev*), serum darah, pewarna *wright-stain*, larutan buffer phosphate pH 6,8, methanol, *methylene blue*, aquadest, dan tissue. Lokasi Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Patologi Klinik Universitas Borneo Lestari. Penelitian ini berjenis *Quasi Eksperimen* Laboratorium, dengan rancangan penelitian berupa *Post test-Only Control Group Design*. Variasi perlakuan pada penelitian ini ada 2 yaitu pewarnaan SADT menggunakan rendaman daun andong konsentrasi 100% dan pewarnaan SADT menggunakan pewarnaan wright stain sebagai control, sehingga didapat ulangan perlakuan masing-masing sebanyak 16x.

Tahapan penelitian meliputi :

1. **Pembuatan rendaman daun andong (*Cordyline fruticosa* (L) A.Chev)** Daun andong yang digunakan adalah yang berwarna merah dan masih segar. Daun andong (*Cordyline fruticosa (L.) A. Chev*) kemudian dicuci, dipotongpotong dan ditimbang sebanyak 100 gr, dimasukkan ke dalam wadah kemudian ditambahkan 100 ml methanol absolut. Rendaman di diamkan selama 24 jam dan disimpan di dalam kulkas. Setelah 24 jam baru diukur pH rendaman daun andong
2. **Uji pigmentasi antosianin rendaman daun andong (*Cordyline fruticosa* (L) A.Chev).** Rendaman daun andong (*Cordyline fruticosa (L.) A. Chev*) diambil sebanyak 10 mL kemudian dimasukkan ke dalam gelas beaker, setelah itu dipanaskan selama 5 menit di atas *hot plate* dan ditambahkan HCl 2N sebanyak 5 mL kemudian dilihat warnanya. Positif mengandung antosianin jika berwarna merah.
3. **Pembuatan preparat Sediaan Apusan Darah Tepi (SADT).** Kaca objek dibersihkan dan dibebaskan dari debu dan lemak. Serum darah sebanyak 10 µl diambil menggunakan mikropipet, kemudian diteteskan di kaca objek. Kaca penyorong diletakkan pada tetesan darah dengan kemiringan sekitar 30-40^0 dan biarkan darah menyebar ke seluruh tepi kaca. Saat darah hampir mencapai ujung kaca penyorong (sekitar 1 mm) kaca digeser secara perlahan tanpa memberikan tekanan ke bawah. Usahakan agar seluruh darah tersebar merata sebelum kaca penyorong mencapai ujung lainnya. Pastikan hasil apusan tidak terlalu tebal atau tipis. Ketebalan apusan dapat disesuaikan dengan mengatur sudut antar kaca dan kecepatan saat menggeser kaca. Setelah selesai, biarkan sediaan mengering secara alami di udara.
4. **Pewarnaan SADT menggunakan rendaman daun andong (*Cordyline fruticosa* (L) A.Chev) dan *Wright Stain***. Sediaan apusan darah tepi dibuat sebanyak 32 slide, 16 slide untuk pewarnaan wright stain sebagai kontrol, 16 slide untuk pewarnaan rendaman daun andong (*Cordyline fruticosa (L.) A. Chev*). Tahapan pewarnaan meliputi sebanyak 32 slide sediaan apusan darah tepi yang telah kering diletakkan pada rak pewarnaan kemudian

difiksasi dengan methanol absolut selama 1 menit. 16 slide apusan pada permukaannya ditutup dengan pewarna *wright* dan didiamkan selama 2 menit. 16 slide apusan lainnya pada permukaannya ditutup dengan pewarna rendaman daun andong (*Cordyline fruticosa (L.) A. Chev*) dan didiamkan juga selama 2 menit. Setelah 2 menit, 32 slide tersebut masing-masing ditambahkan 2 ml larutan buffer fosfat pH 6,8 dengan volume yang sama seperti pemberian pewarna sebelumnya lalu segera campur dengan cara meniup perlahan hingga seluruh permukaan apusan darah terendam dan muncul warna hijau metalik. Apusan kemudian didiamkan selama 20 menit, dibilas menggunakan aquades, dikeringkan udara. Jika sudah benar-benar kering dilakukan pengamatan di bawah mikroskop dengan perbesaran 10x100. Interpretasi hasil mikroskopis pewarnaan SADT menggunakan *wright stain* yaitu : eritrosit berwarna merah muda salem, leukosit memiliki inti sel yang berwarna ungu kebiruan, trombosit berwarna kebiruan.

5. **Analisis dan pengolahan data.** Data primer yang diperoleh dari hasil pengamatan diolah dan dianalisis menggunakan uji *mann whitney*.

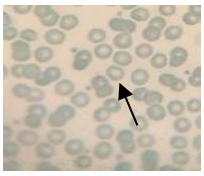
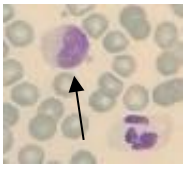
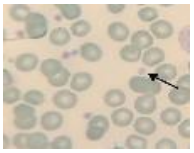
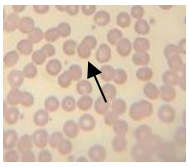
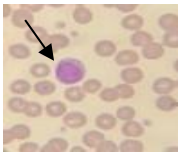
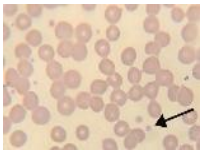
HASIL

Tabel 1. Hasil Uji pigmentasi antosianin pada rendaman daun andong *(Cordyline fruticosa (L) A.Chev)*

Perlakuan	Preparasi	Pengamatan	Hasil
Antosianin	HCl 2N	Berwarna Merah	+ (Positif)

Tabel 2. Hasil Mikroskopis sel darah (eritrosit, leukosit dan trombosit) menggunakan pewarna rendaman daun andong *(Cordyline fruticosa (L) A.Chev)* dan pewarna *wright-stain*

Pewarnaan	Gambar Mikroskopis			Total skor	Kriteria
	eritrosit	leukosit	trombosit		

Daun Andong				2/3	Tidak Baik
Keterangan	Eritrosit berwarna kehijauan	Memiliki inti sel berwarna ungu kebiruan	Trombosit berwarna kebiruan		
Wright-Stain				3/3	baik
keterangan	Eritrosit berwarna merah muda salem	Memiliki inti sel berwarna ungu kebiruan	Trombosit berwarna kebiruan		

Berdasarkan pada tabel 3, terlihat bahwa hasil mikroskopis eritrosit pada pewarnaan rendaman daun andong menunjukkan perbedaan dengan mikroskopis eritrosit pada pewarnaan *wright stain*. Hasil Uji *Mann Whitney* menunjukkan bahwa pada pewarnaan menggunakan rendaman daun andong menunjukkan perbedaan pada morfologi sel eritrosit terhadap pewarna *wright stain* dengan nilai sig. < 0,00, sedangkan pada sel leukosit dan trombosit tidak menunjukkan perbedaan dengan nilai sig 1.

DISKUSI

Hasil uji *Mann-Whitney* menyatakan adanya perbedaan yang signifikan antara hasil pewarnaan sel eritrosit menggunakan rendaman daun andong dan *wright stain*. Pewarnaan eritrosit dengan rendaman daun andong menghasilkan warna kehijauan, yang berbeda dengan warna merah muda salem yang dihasilkan oleh *Wright-stain*. Oleh karena itu, rendaman daun andong dinilai tidak memenuhi standar pewarnaan *Wright-stain* dan dikategorikan sebagai pewarna yang kurang baik untuk visualisasi eritrosit. Perbedaan ini kemungkinan disebabkan oleh kandungan antosianin dalam rendaman daun

andong yang tidak mampu menempel dengan baik pada hemoglobin atau tidak menghasilkan kontras warna yang sesuai.

Eritrosit merupakan sel darah tanpa inti yang mengandung hemoglobin, yaitu protein globular yang berperan dalam pengangkutan oksigen. Pewarna Romanowsky seperti Wright-stain mengandung eosin Y, yaitu zat warna bersifat asam dengan afinitas tinggi terhadap hemoglobin, sehingga menghasilkan warna merah muda hingga jingga pada eritrosit. Sebaliknya, antosianin dalam daun andong merupakan senyawa warna yang peka terhadap pH. Pada pH rendaman daun andong sekitar 5,7, antosianin kemungkinan tidak memiliki afinitas yang cukup terhadap hemoglobin, sehingga tidak menghasilkan warna merah seperti pada pewarna standar. Selain itu, munculnya warna kehijauan dapat disebabkan oleh degradasi antosianin menjadi senyawa lain seperti klorofil atau flavonol, terutama saat bereaksi dengan pelarut seperti metanol dalam kondisi pH yang tidak optimal.

Warna antosianin diketahui sangat bergantung pada pH media: pada pH asam (3–5), antosianin cenderung stabil dan tampak merah; pada pH netral berubah menjadi ungu; dan dalam kondisi basa dapat berwarna biru. Dengan demikian, pH rendaman yang kurang sesuai dan kestabilan antosianin yang rendah dalam medium tersebut turut berkontribusi terhadap kegagalan pewarnaan eritrosit yang optimal (Yati *et al.,* 2023).

Berbeda dengan eritrosit, sel leukosit dan trombosit menunjukkan hasil pewarnaan yang serupa dengan pewarnaan menggunakan Wright-stain saat diwarnai dengan rendaman daun andong. Pewarnaan ini dikategorikan baik karena sesuai dengan standar warna yang dihasilkan oleh *Wright-stain*, yang diketahui memberikan kontras warna yang jelas pada inti dan sitoplasma sel darah. Keberhasilan pewarnaan ini kemungkinan disebabkan oleh kandungan antosianin dan methylene blue dalam rendaman daun andong, yang memiliki afinitas tinggi terhadap struktur asam seperti inti sel leukosit dan granula trombosit (Nirmala Sari & Masrillah, 2022). Hasil ini menunjukkan bahwa daun andong memiliki potensi sebagai pewarna alami alternatif parsial, yang efektif terutama untuk visualisasi leukosit dan trombosit. Namun demikian, karena kurang optimal dalam mewarnai eritrosit, penggunaan daun andong sebaiknya

dikombinasikan dengan pewarna lain, seperti methylene blue, untuk meningkatkan kualitas pewarnaan secara keseluruhan Dalam pemeriksaan darah rutin, identifikasi jenis sel darah dapat dilakukan melalui pengamatan morfologi dengan membuat sediaan apusan darah tepi. Sediaan ini merupakan apusan sel darah manusia yang kemudian diberi pewarnaan dalam pemeriksaan hematologi untuk menilai komponen sel darah tepi, seperti eritrosit, leukosit, dan trombosit (Salnus & Arwie, 2020).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, rendaman daun andong (*Cordyline fruticosa* L.) terbukti mengandung senyawa antosianin yang ditunjukkan dengan hasil positif berwarna merah. Pewarnaan menggunakan rendaman daun andong pada sediaan apusan darah tepi mampu memberikan hasil berbeda pada setiap jenis sel darah. Sel eritrosit berhasil terwarnai, namun tidak sesuai dengan kriteria pewarnaan *Wright-Stain* sebagai kontrol. Sebaliknya, pewarnaan pada sel leukosit dan trombosit menunjukkan hasil yang baik dan sesuai dengan kriteria pewarna *Wright-Stain*. Dengan demikian, daun andong (*Cordyline fruticosa (L.) A. Chev*) berpotensi digunakan sebagai alternatif pewarna alami parsial dalam pemeriksaan hematologi, terutama untuk mewarnai leukosit dan trombosit, namun memerlukan optimalisasi lebih lanjut agar dapat memberikan hasil yang setara pada pewarnaan eritrosit.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada Universitas Borneo Lestari yang telah memberikan bantuan baik dalam bentuk moril dan materil dalam penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Peneliti menyatakan bahwa tidak terdapat konflik kepentingan dalam penelitian ini. Seluruh tahapan penelitian dilakukan secara mandiri, objektif, dan tanpa adanya pengaruh atau dukungan dari pihak lain yang dapat mempengaruhi hasil maupun interpretasi penelitian.

REFRENSI

Alifah, S. N. (2022). Literature Review: Efektivitas Pewarnaan Apusan Darah Tepi Dari Bahan Alami Ubi Jalar Ungu (*Ipomea Batatas L*) Dengan Pewarnaan Giemza. *Skripsi*.

Esti Wilujeng, A. (2017). Pemanfaatan Ekstrak Antosianin Dari Bahan Alam Untuk Identifikasi Formalin Pada Tahu Putih. *Jurnal Sains*, *7*(14).

Maulana, M. N., Putri, N (2023). Perbandingan Morfologi Sel Darah Pada Apusan Darah Tepi Menggunakan Sari Buah Stroberi (*Fragria Sp*) Dan Tomat (*Solanum Lycopersium*) Dengan Metode *Wright-Stain*. *Jurnal Skala Kesehatan,* 14(2), 103–110.

Muhammad, N., Putri, N. A., & Cahyono, J. A. (2023). Perbandingan Morfologi Sel Darah Pada Apusan Darah Tepi Menggunakan Sari Buah Stroberi (*Fragria sp*) dan Tomat (*Solanum lycopersium*) Dengan Metode Wright-Stain. *Jurnal Skala Kesehatan*, *14*(2), 103–110. https://doi.org/10.31964/jsk.v14i2.416

Nirmala Sari, A., & Masrillah, M. (2022). Morfologi Sel Darah Pada Apusan Darah Tepi (SADT) Menggunakan Pewarnaan Alternatif Ekstrak Kol Ungu (*Brassica oleracea L*). *Prosiding Seminar Nasional Biotik*, *9*(2), 189. https://doi.org/10.22373/pbio.v9i2.11660

Salnus, S., & Arwie, D. (2020). Ekstrak Antosianin Dari Ubi Ungu (*Ipomoea batatas L.)* Sebagai Pewarna Alami Pada Sediaan Apusan Darah Tepi. *Jurnal Media Analis Kesehatan*, *11*(2), 96. https://doi.org/10.32382/mak.v11i2.1771

Wahyuni, R. A., Rizqina, A., Nurbidayah, N., & Sari, P. K. (2024). Efektifitas Rendaman Daun Andong (*Cordyline fruticosa (L) A. Chev*) SEBAGAI Pengganti Eosin 2% Pada Pemeriksaan Telur Cacing Soil Transmitted Helminths (STH). *Klinikal Sains : Jurnal Analis Kesehatan*, *12*(1), 10–16. https://doi.org/10.36341/klinikal_sains.v12i1.3835

Yati, M., Muhlisin, A., Muntaha, A., & Roebiakto, E. (2023). Kualitas Pewarnaan Sediaan Apusan Darah Metode Giemsa Menggunakan Alternatif Pewarna Buah Naga Pengencer Air Mineral. *Jurnal Karya Generasi Sehat*, *1*(1). https://doi.org/10.31964/jkgs.v1i1.66

EFEKTIVITAS FILTRAT DAUN KELOR *(Moringa oleifera)* SEBAGAI AGEN TROMBOLITIK *IN-VITRO*

Syafina Azzahra[1]* · Bio Putri Ayanti[1]

[1]Program Studi Diploma Tiga Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan dan Sains Teknologi, Universitas Borneo Lestari, Kalimantan Selatan, Indonesia

e-Mail: syafina.azzahra23@gmail.com
No. Telp/WA: 0819-5997-2922

Abstract

Thrombosis is a serious medical condition characterized by the formation of blood clots (thrombi) that can obstruct blood flow and lead to complications such as heart attacks and strokes. Synthetic thrombolytic agents such as streptokinase and nattokinase have been widely used, but they carry risks of severe bleeding and allergic reactions. Therefore, there is a need for safer and more effective natural-based thrombolytic alternatives. This study aimed to determine the effectiveness of Moringa oleifera leaf filtrate as a thrombolytic agent in vitro. The study employed a quasi-experimental design with six treatment groups: four variations of Moringa oleifera leaf filtrate (1:1, 1:2, 1:3, 1:4), a positive control (nattokinase), and a negative control (distilled water). A phytochemical test was performed to identify active compounds, while a clot lysis assay was used to measure the percentage of blood clot lysis. The phytochemical analysis revealed that the filtrate contained flavonoids, alkaloids, tannins, and saponins. The clot lysis test showed that the 1:1 ratio of leaf filtrate achieved the highest average clot lysis percentage at 78.65%. These findings suggest that Moringa oleifera leaf filtrate possesses promising in vitro thrombolytic potential and could be further developed as a natural therapeutic alternative.
***Keywords** : thrombosis, clot lysis, thrombolytic agent, Moringa oleifera*

Abstrak

Trombosis merupakan kondisi medis serius yang ditandai oleh terbentuknya gumpalan darah (trombus) yang dapat menghambat aliran darah dan menyebabkan komplikasi seperti serangan jantung dan stroke. Penggunaan agen trombolitik sintetik seperti streptokinase dan nattokinase telah banyak digunakan, namun berisiko menimbulkan efek samping seperti perdarahan hebat dan reaksi alergi. Oleh karena itu, dibutuhkan alternatif agen trombolitik berbasis bahan alami yang lebih aman dan efektif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas filtrat daun kelor *(Moringa oleifera)* sebagai agen trombolitik secara in-vitro. Penelitian ini menggunakan desain quasi eksperimen dengan enam kelompok perlakuan, yaitu empat kelompok variasi filtrat daun kelor (1:1, 1:2, 1:3, 1:4), serta kontrol positif (nattokinase) dan kontrol negatif (aquadest). Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif, sedangkan uji clot lysis digunakan untuk mengukur persentase lisis bekuan darah. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa filtrat daun kelor mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin. Hasil uji clot lysis menunjukkan bahwa filtrat dengan perbandingan 1:1 memiliki rata-rata lisis bekuan darah tertinggi sebesar 78,65%. Filtrat daun kelor menunjukkan potensi sebagai agen trombolitik in-vitro yang menjanjikan dan layak dikembangkan lebih lanjut.
Kata Kunci : trombosis, *clot lysis*, trombolitik, *Moringa oleifera*

PENDAHULUAN

Penyakit kardiovaskular merupakan penyebab kematian tertinggi secara global dan berkaitan erat dengan kejadian trombosis, yaitu pembentukan gumpalan darah (trombus) dalam pembuluh darah yang menghambat aliran darah dan menyebabkan komplikasi seperti infark miokard dan stroke (Ayanti, 2022). Trombosis merupakan kondisi terbentuknya gumpalan darah (trombus) di dalam pembuluh darah yang menyebabkan penyumbatan pada aliran darah (Kurnia et al., 2019). Gumpalan darah yang terjadi secara abnormal menyebabkan penyumbatan pada pembuluh darah dan gangguan pada peredaran darah, sehingga mengakibatkan terhambatnya aliran darah melalui vena serta arteri, suplai nutrisi dan oksigen ke jaringan terhambat serta kematian jaringan (infark) (Ayanti, 2022).

Lisis trombus atau trombolisis sangat dibutuhkan pada kasus seperti serangan jantung ataupun stroke. Berbagai macam agen trombolitik komersial banyak digunakan saat ini untuk menurunkan aktivitas pembekuan darah guna mencegah dan menghancurkan trombus, seperti aktivator plasminogen jaringan (t-PA), nattokinase, urokinase (UK), Streptokinase (SK), alteplase, dan lain-lainnya. Namun obat trombolitik komersial seperti ini dapat menimbulkan risiko perdarahan hebat, syok dan reaksi anafilaksis (Kunwar et al., 2022).

Penggunaan agen trombolitik sintesis dinilai kurang efektif karena rendahnya spesifisitas fibrin, durasi kerja yang singkat, serta potensi munculnya efek samping yang merugikan seperti perdarahan pada saluran cerna dan respon alergi. Oleh karenanya, sekarang ini sudah dikembangkan alternatif yang lebih baik sebagai agen trombolitik yang terkait dengan efektivitas biaya, keamanan, dan efisien yang dapat diperoleh dari makhluk hidup seperti mikroorganisme dan tanaman. Sumber daya alam umumnya dianggap lebih aman dan dapat memberikan khasiat yang lebih baik. Tanaman dengan potensi fibrinolitik, trombolitik, dan antiplatelet dapat digunakan untuk mengurangi risiko terjadinya trombosis (Nuraini et al., 2021; Oliveira et al., 2019; Yu et al., 2019). Tanaman yang memiliki khasiat sebagai agen trombolitik umumnya mempunyai senyawa seperti alkaloid, saponin, flavonoid, serta tanin (Clements et al., 2020;

Saputri et al., 2022). Daun kelor ialah satu dari tanaman yang mempunyai kandungan senyawa tersebut (Hendra Kartika & Sukeksi, 2021; Saputri et al., 2022). Flavonoid memiliki kemampuan untuk menghentikan agregasi platelet yang mencegah pembekuan darah dengan secara tidak langsung menghambat siklooksigenase 1 (COX-1), mengurangi tromboxan A2 (TXA2) sehingga mengganggu agregasi platelet. Berpotensi meningkatkan *tissue plasminogen activator* (tPA) dan mengurangi kandungan *plasminogen activator inhibitor-1* (PAI-1) sehingga plasminogen dapat mengaktifkan plasmin yang dapat memecah bekuan yang terikat (Ciumărnean et al., 2020; Rizalallah, 2020; Wahyuningsih et al., 2024). Senyawa alkaloid mampu meningkatkan lisis bekuan melalui *tissue plasminogen activator* (tPA) dan *urokinase-type plasminogen activator* (uPA) sebagai protein yang berfungsi mengaktifkan plasminogen menjadi plasmin sehingga meningkatkan aktivitas pemecahan bekuan darah (Al-Rashed et al., 2021; K. Rohmah, 2022).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Rohmah & Fickri (2020) daun pepaya terbukti memiliki kemampuan trombolitik hingga 63,32–65,36% menyebabkan penghancuran trombus dengan hasil uji fitokimia yang memiliki senyawa alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin. Beberapa penelitian serupa mengenai tanaman yang berpotensi sebagai agen trombolitik in-vitro, seperti ekstrak metanol daun kelor oleh Kunwar et al., (2022) dan penelitian ekstrak Imperata cylindrica dan *Moringa oleifera* oleh Saputri et al., (2022). Penelitian oleh Phil et al., (2022) ekstrak bunga kelor dianalisis secara fitokimia menunjukkan adanya metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, steroid, glikosida jantung, terpenoid, tanin, saponin, protein, fenol, serta karbohidrat dan terbukti adanya aktivitas trombolitik dengan lisis bekuan 21-65%.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas pemberian filtrat daun kelor *(Moringa oleifera)* dengan variasi perbandingan 1:1, 1:2, 1:3 dan 1:4 sebagai skrining awal melalui penggunaan metode clot lysis.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Universitas Borneo Lestari, Banjarbaru, Kalimantan Selatan pada bulan April-Mei 2025, menggunakan desain quasi eksperimen *(Quasi experimental design)* yaitu eksperimen terhadap bekuan darah yang diberi filtrat daun kelor *(Moringa oleifera)*. Dalam penelitian ini rancangan yang dimanfaatkan penggunaannya ialah *posttest only controlled group design*.

Sampel yang dimanfaatkan penggunaannya pada penelitian ini ialah 12 mL darah vena dari 1 responden dengan kriteria pasien sehat yang tidak menggunakan kontrasepsi oral dan tidak sedang menjalani terapi antikoagulan. Penelitian ini menggunakan bahan berupa daun kelor, darah vena, aquadest, *Phosphate Buffer Saline* (PBS), HCl pekat, serbuk Magnesium (Mg), FeCl3 1%, amil alkohol, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendroff (larutan kalium bismut iodida), pereaksi Magner (larutan yodium dalam kalium iodida), HCl 2 N dan nattokinase. Instrumen penelitian yang dimanfaatkan penggunaannya ialah alat sampling, neraca analitik, batang pengaduk, rak tabung, *juicer*, mikropipet, pipet tetes, gelas ukur, *yellow tip, blue tip*, inkubator, tisu, beaker glass, pipet ukur, *microtube*, labu ukur, kain saring, lidi dan botol reagent gelap.

Pengumpulan data pada penelitian ini memanfaatkan penggunaan data primer yang didapat langsung dari hasil pemeriksaan potensi filtrat daun kelor sebagai agen trombolitik in-vitro menggunakan uji clot lysis. Data hasil penelitian yang meliputi persentase lisis bekuan darah dianalisis menggunakan software SPSS Statistic 27. Dilakukan uji Kruskal-Wallis untuk mengetahui perbandingan kelompok variasi perlakuan apakah didapati perbedaan yang signifikan. Terdapat perbedaan jika nilai signifikan ≤ 0,05.

Uji clot lysis dimulai dengan menimbang tabung kosong, lalu ditambahkan 500 µL darah pada tiap-tiap tabung perlakuan. Dilakukan 4 perlakuan dengan perbandingan 1:1, 1:2, 1:3 dan 1:4 hingga diperoleh 16 replikasi pada spesimen darah yang dilaku kan pada hari yang sama. Diambil 9 mL darah dan dimasukkan ke masing-masing microtube sebanyak 500 µL

pada 2 tabung kontrol dan 16 tabung replikasi. Darah yang sudah dimasukkan kedalam microtube akan membeku dan diinkubasi selama 45 menit dengan inkubator. Setelah itu, serum akan terpisah dan dibuang dengan cara dipipet menggunakan mikropipet. Bekuan darah yang terbentuk kemudian ditimbang untuk memperoleh nilai bekuan darah. Bekuan darah pada tiap-tiap microtube diberi filrat daun kelor dengan variasi perbandingan 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, kontrol positif (nattokinase) kontrol negatif (aquadest) dan diinkubasi selama 90 menit dalam inkubator. Setelah itu, cairan hasil lisis dipisahkan dan bekuan darah yang tersisa ditimbang kembali.

HASIL

Berdasarkan uji clot lysis yang telah dilakukan dari perlakuan 1:1, 1:2, 1:3, dan 1:4 dengan 4 kali pengulangan didapatkan hasil persentase lisis bekuan darah, terlihat pada tabel 1.

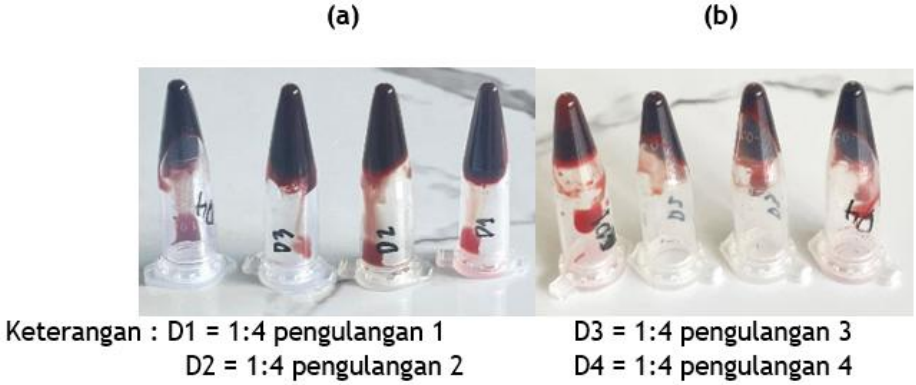
Tabel 1. Hasil Persentase Lisis Bekuan Darah Filtrat Daun Kelor

	Pengulangan				
Perlakuan	**1**	**2**	**3**	**4**	**Rata-rata**
1:1	77,5%	90,6%	61,9%	84,6%	78,65%
1:2	45%	81,5%	84%	85,3%	73,95%
1:3	63%	86,4%	84,4%	59,3%	73,28%
1:4	46,5%	84,4%	64,1%	74%	67,25%
K(+)	90,2%	91,3%	88,6%	87,8%	89,4%
K(-)	4,6%	1,3%	5,6%	1,3%	3,2%

Berlandaskan pada Tabel 1, hasil uji clot lysis menunjukkan filtrat daun kelor *(Moringa oleifera)* memiliki kemampuan dalam melisiskan bekuan darah secara *in-vitro*. Pada perbandingan 1:1 didapatkan rata-rata lisis bekuan darah sebesar 78,65%, perbandingan 1:2 dengan rata-rata sebesar 73,95%, perbandingan 1:3 rata-rata sebesar 73,28%, dan perbandingan 1:4 dengan rata-rata sebesar 67,25%. Hasil rata-rata persentase paling tinggi terlihat pada perbandingan 1:1 yang memiliki komposisi 5 mL PBS dan 5 mL filtrat daun kelor, dapat disimpulkan bahwa filtrat daun kelor *(Moringa oleifera)* mampu melisiskan bekuan darah secara *in-vitro*.

Hasil lisis bekuan darah yang diamati secara makroskopik menunjukkan

perubahan bentuk (menyusut) dan volume bekuan darah dalam microtube yang berkurang menandakan adanya lisis pada bekuan darah setelah diberikan filtrat daun kelor dengan perbandingan 1:1, 1:2, 1:3 dan 1:4. Setelah inkubasi dengan filtrat daun kelor selama 90 menit, gumpalan darah yang semula padat mengalami pencairan (lisis) dan penyusutan bekuan. Perbedaan visual tiap pengulangan dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. (a) bekuan darah sebelum inkubasi;
(b) bekuan darah setelah inkubasi selama 90 menit

Pengamatan juga dilakukan pada bekuan darah yang masih tersisa pada microtube setelah uji lisis bekuan darah in-vitro. Hasil pengamatan dilakukan secara makroskopis dengan melihat konsistensi dari bekuan darah yang tersisa pada microtube tersaji pada Gambar 2.



Gambar 2. Bekuan darah yang tersisa pada microtube setelah inkubasi

Berdasarkan Gambar 2, hasil pengamatan dilakukan secara makroskopis dengan melihat konsistensi dari bekuan darah yang tersisa pada microtube. Bekuan darah yang tersisa memiliki konsistensi kenyal dengan warna tampak gelap dan menggumpal.

Tabel 2. Hasil Uji *Kruskal-Wallis* Aktivitas Trombolitik Daun Kelor

Independent-Samples Kruskal-Wallis Test Summary	
Total N	20
Test Statistic	3.617[a.b]
Degree of Freedom	4
Asymptotic Sig.(2-sided test)	.071

Berdasarkan uji Kruskal-Wallis yang ditampilkan pada Tabel 2, diperoleh nilai signifikan dengan besaran 0,071. Nilai signifikan tersebut melampaui taraf signifikan yang dipergunakan (α = 0,05), sehingga bisa ditarik kesimpulan bahwasanya tidak didapati perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap persentase lisis bekuan darah secara *in-vitro*.

Tabel 3. Hasil Uji Mann-Whitney U

Kelompok yang dibandingkan	N_{K+}	N Variasi Perbandingan	Mean Rank K+	Mean Rank 1:1	U	Z	Sig. (p)
K+ vs 1:1	4	4	5.75	3.25	3.000	-1.443	.149
K+ vs 1:2	4	4	6.50	2.50	.000	-2.309	0.021
K+ vs 1:3	4	4	6.50	2.50	.000	-2.309	0.021
K+ vs 1:4	4	4	6.50	2.50	.000	-2.309	0.021

Berlandaskan pada hasil uji Mann-Whitney U di atas, terlihat bahwasanya perbandingan antara kelompok kontrol positif (K+) dengan kelompok filtrat daun kelor 1:2, 1:3, dan 1:4 memperlihatkan nilai signifikansi (p) dengan besaran 0,021 ($p < 0,05$), yang artinya didapati perbedaan yang signifikan secara statistik antara kelompok kontrol positif dengan ketiga konsentrasi filtrat tersebut. Pada perbandingan antara K+ dengan filtrat 1:1 diperoleh nilai $p = 0,149$ ($p > 0,05$), sehingga tidak terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik antara kedua kelompok tersebut.

DISKUSI

Dimulai dengan mengumpulkan daun kelor *(Moringa oleifera)* dan dicuci bersih, lalu tiriskan hingga tidak ada sisa air pada daun kelor yang kemudian ditimbang menggunakan neraca analitik sebanyak 50 gram. Bahan yang telah

ditimbang diolah menggunakan *juicer* dengan penambahan larutan Phosphate Buffer Saline (PBS) dengan pH 7 sebanyak 100 mL. Larutan yang dihasilkan dari *juicer* selanjutnya disaring dengan memanfaatkan penggunaan kain saring sebanyak 3 kali untuk memperoleh filtrat daun kelor yang diinginkan. Filtrat yang diperoleh dilanjutkan dengan membuat variasi perbandingan 1:1, 1:2, 1:3 dan 1:4.

Hasil uji aktivitas lisis bekuan darah menunjukkan bahwa filtrat daun kelor memiliki kemampuan untuk melisiskan bekuan darah, dengan efektivitas yang sangat bervariasi tergantung pada perbandingan filtrat. Dalam penelitian ini, filtrat daun kelor dengan rasio 1:1 menunjukkan aktivitas lisis bekuan darah tertinggi dengan rata-rata lisis bekuan darah sebesar 78,65%. Penelitian serupa yang dilakukan oleh Kunwar et al. (2022), aktivitas kemampuan melarutkan bekuan darah yang diuji di laboratorium (lisis *in vitro*) dari ekstrak daun kelor *Methanolic Extract of leaves* 1 dan II (MEL-I dan MEL-II) yang diproses dengan metanol, lalu difraksinasi atau dipisahkan berdasarkan karakter kimia tertentu, pada konsentrasi 1 mg/mL masing-masing sebesar 36,64±1,55% MEL-I dan 41,40±2,02% MEL-II.

Dengan hasil lisis yang tinggi dalam penelitian ini dan didukung dengan uji fitokimia yang positif pada filtrat daun kelor menunjukkan senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada filtrat daun kelor, seperti flavonoid dan alkaloid mampu melisiskan bekuan darah. Flavonoid diketahui mampu meningkatkan aktivitas *tissue plasminogen activator* (tPA) serta menurunkan kadar *plasminogen activator inhibitor-1* (PAI-1), sehingga mendukung aktivasi plasminogen menjadi plasmin, yaitu enzim yang bertanggung jawab atas proses fibrinolisis, yaitu pemecahan bekuan darah (Wahyuningsih et al., 2024). Filtrat daun kelor juga positif memiliki kandungan alkaloid. Senyawa ini berperan dalam merangsang aktivitas *tissue plasminogen activator* (tPA) dan *urokinase-type plasminogen activator* (uPA), dua protein penting dalam mekanisme pelarutan bekuan darah. Protein tersebut mengaktifkan plasminogen menjadi plasmin. Aktivasi plasminogen menjadi plasmin oleh senyawa dalam daun kelor mempercepat pemecahan fibrin, komponen utama bekuan darah (Al- Rashed et al., 2021;

K. Rohmah, 2022).

Selain mengukur persentase lisis bekuan darah, pengamatan juga dilakukan pada bekuan darah yang masih tersisa setelah uji lisis bekuan darah *in-vitro*. Hasil pengamatan dilakukan secara makroskopis dengan melihat konsistensi dari bekuan darah yang tersisa pada *microtube*. Bekuan darah yang tersisa memiliki konsistensi kenyal dengan warna tampak gelap dan menggumpal.

Secara statistik, efektivitas filtrat daun kelor dalam melisiskan bekuan darah menunjukkan hasil yang tidak signifikan. Hasil uji Kruskal-Wallis yang dilakukan memperlihatkan nilai signifikansi menyentuh angka p = 0,071 (p > 0,05), yang berarti tidak didapati perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan. Berdasarkan hasil uji Mann-Whitney U, didapati perbedaan yang signifikan secara statistik antara kelompok kontrol positif (K+) dengan kelompok filtrat daun kelor pada perbandingan 1:2, 1:3, dan 1:4, dengan nilai signifikansi (p) menyentuh angka 0,021 (p < 0,05). Sementara pada perbandingan antara K+ dan filtrat 1:1 memperlihatkan nilai p menyentuh angka 0,149 (p > 0,05), yang artinya tidak didapati perbedaan yang bermakna antara kedua kelompok tersebut. Temuan ini menunjukkan bahwa pemberian filtrat daun kelor pada perbandingan 1:2, 1:3, dan 1:4 mampu memberikan efek trombolitik yang secara statistik berbeda dari kontrol positif. Secara hasil uji laboratorium *in-vitro* dengan uji *clot lysis* terlihat bahwa kelompok dengan perbandingan 1:1 memiliki persentase lisis tertinggi, sehingga tetap menunjukkan indikasi potensi filtrat daun kelor sebagai agen trombolitik alami yang menjanjikan dan layak untuk diteliti lebih lanjut.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa skrining awal terhadap filtrat daun kelor *(Moringa oleifera)* menunjukkan adanya kandungan metabolit sekunder golongan flavonoid yang diketahui memiliki potensi sebagai agen trombolitik secara *in vitro*. Filtrat tersebut memberikan indikasi awal aktivitas trombolitik, yang ditandai dengan kemampuan melisiskan bekuan darah serta mempertahankan darah

dalam kondisi tidak membeku pada konsentrasi tertentu.

KONFLIK KEPENTINGAN

Para penulis tidak memiliki ikatan finansial atau komersial yang dapat menimbulkan konflik kepentingan dengan penelitian ini.

REFERENSI

Aggarwal, K. K. (2023). *A protease from Moringa oleifera Lam exhibits plasmin like activity of blood clot solubilization under ex-vivo and in-vitro hydrolysis of fibrin* (p. 238). https://doi.org/10.21203/rs.3.rs3354622/v1

Akbor, M. S., Al Hasan, M. S., Haque, M. F., Hossain, M. S., Tanim, T. I., Sheikh, S., Faruq, A. Al, & Islam, M. T. (2023). *Clot lysis and Membrane Protection Potentials of Cheilanthes Tenuifolia Methanolic Leaf Extract*. *Khulna University Studies*, 20(2), 122–130. https://doi.org/10.53808/kus.2023.20.02.1019-ls

Al-Rashed, S., Baker, A., Ahmad, S. S., Syed, A., Bahkali, A. H., Elgorban, A. M., & Khan, M. S. (2021). *Vincamine, a safe natural alkaloid, represents a novel anticancer agent*. *Bioorganic Chemistry*, 107(August 2020), 104626. https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.104626

Ayanti, B. P. (2022). Karakteristik Molekuler Enzim Protease Trombolitik Bacillus cereus HSFI-10 Hasil Purifikasi Kromatografi Filtrasi Gel dan Uji Aktivitas Antitrombosis.

Ciumărnean, L., Milaciu, M. V., Runcan, O., Vesa, S. C., Răchisan, A. L., Negrean, V., Perné, M. G., Donca, V. I., Alexescu, T. G., Para, I., & Dogaru, G. (2020). *The effects of flavonoids in cardiovascular diseases*. *Molecules*, 25(18), 1–18. https://doi.org/10.3390/molecules25184320

Clements, G., Yamlean, P. V. Y., & Lolo, W. A. (2020). Formulasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Etanol Herba Seledri (*Apium graveolens L.*) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus. Pharmacon, 9(2), 226–232.

Hendra Kartika, C., & Sukeksi, A. (2021). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 96% Daun Kelor *(Moringa oleifera L.)* Terhadap Pemeriksaan Prothrombin Time (PT). Jurnal Labora Medika, 5(2), 43–47.

Irwan, Z. (2020). Kandungan Zat Gizi Daun Kelor (Moringa Oleifera) Berdasarkan Metode Pengeringan. Jurnal Kesehatan Manarang, 6(1), 66–77. http://jurnal.poltekkesmamuju.ac.id/index.php/m

Khan, M. S., Malik, A., & Ahmad, A. (2018). *Understanding clot lysis mechanisms for natural thrombolytic agents: A review. Biomedicine & Pharmacotherapy*, 107, 68–76.

Kunwar, B., Jain, V., & Verma, S. K. (2022). *In vitro thrombolytic activity of Moringa oleifera*.Nusantara Bioscience, 14(1), 63–69. https://doi.org/10.13057/nusbiosci/n140108

Marcińczyk, N., Gromotowicz-Popławska, A., Tomczyk, M., & Chabielska, E. (2022). *Tannins as Hemostasis Modulators. Frontiers in Pharmacology*, 12(January), 1–21. https://doi.org/10.3389/fphar.2021.806891

Mondong, F. R., Sangi, M. S., & Kumaunang, M. (2015). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Patikan Emas (*Euprorbia prunifolia Jacq*.) dan Bawang Laut (*Proiphys amboinensis (L.) Herb*). Jurnal MIPA UNSRAT, 4(1), 81–87. https://doi.org/10.35799/jm.4.1.2015.6910

Nuraini, L., Tri Purwanto, B., Syahrani, A., Primaharinastiti, R., & Toto Poernomo, A. (2021). Pengaruh Proses Fermentasi pada Daun *Centella asiatica* oleh *Acetobacter tropicalis* Terhadap Aktivitas Trombolitik. Majalah Farmasetika, 6(Suppl 1), 1. https://doi.org/10.24198/mfarmasetika.v6i0.36665

Oliveira, V. de M., Assis, C. R. D., Silva, J. C., Silva, Q. J., Bezerra, R. de S., & Porto, A. L. F. (2019). *Recovery of fibrinolytic and collagenolytic enzymes from fish and shrimp byproducts: Potential source for biomedical applications. Boletim Do Instituto de Pesca*, 45(1), 1–10. https://doi.org/10.20950/1678-2305.2019.45.1.389

Permatasari, E. A., Indrayati, A., & Kurniasari, F. (2024). Isolasi dan Uji Aktivitas Fibrinolitik Ekstrak Enzim Fibrinolitik Bakteri yang Berasal dari Limbah Cair Rumah Pemotongan Ayam (RPA) di Karanganyar. Jurnal Kesehatan Masyarakat, 8(1), 539–554.

Phil, K. M. S. M. S. M., Praveen, S., Murali, N., Raghu, N., & Suresh, P. (2022). *Evaluation of Invitro Thrombolytic Activity of Moringa Oleifera Flower Extract. International Journal of Scientific Research in Science and*

Technology, 9(10), 230–238.

Rizalallah, A. A. (2020). Uji Aktivitas Antikoagulan Ekstrak Etanol 96 % Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum Ruiz & Pav*) Secara In Vitro. Skripsi, STIKES Rumah Sakit Anwar Medika, 17–18.

Rohmah, K. (2022). Uji Aktivitas Antiplatelet dan Trombolitik Perasan Daging Buah Nanas (*Ananas comosus L* .) Secara In Vitro.

Rohmah, M. K., Fickri, D. Z., Damasari, K. P., Azis, R., & Wahyuni, K. I. (2019). Uji Aktifitas Antikoagulan Ekstrak Alkaloid Total Daun Alpukat (*Persea americana Mill)* Secara *In Vitro*. *Journal of Pharmaceutical-Care Anwar Medika*, 2(1), 31– 42.

Saputri, F. C., Andriani, A., & Azmi, N. U. (2022). *Imperata cylindrica and Moringa oleifera: Antithrombotic Effect on Pulmonary Thromboembolism in Mice*. *Pharmacognosy Journal*, 14(1), 148–153. https://doi.org/10.5530/pj.2022.14.20

Wahyuningsih, P., Indrayanti, A., & Leviana, F. (2024). Uji Aktivitas Fibrinolitik Ekstrak dan Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) dengan Metode *Clot lysis*. Jurnal Sains Dan Kesehatan, 6(2), 317–327.

Warninghiyun, H., Indrayati, A., & RSP, P. (2023). Potensi Ekstrak Enzim Daun Pepaya (*Carica papaya L*.) Sebagai Agen Fibrinolitik Dengan Metode *Clot lysis in Vitro*. Journal Syifa *Sciences and Clinical Research*, 5(2), 294–303. https://doi.org/10.37311/jsscr.v5i2.21326

Yu, E., Malik, V. S., & Frank B. Hu. (2019). *Cardiovascular Disease Prevention by Diet Modification: JACC Health Promotion Series*. *Journal of Clinical Sleep Medicine*, 72(8), 914–926. https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.02.085.Cardiovascular

Zaman, R., Jakaria, M. P. M., Sayeed, M. A., & Islam, M. (2015). *In vitro clot lysis activity of different extracts of Mangifera sylvatica Roxb. Leaves*. *Research Journal of Medicinal Plant*, 9(3), 135–140. https://doi.org/10.3923/rjmp.2015.135.14

EFEKTIVITAS METODE SEDIMENTASI DAN FLOTASI PADA IDENTIFIKASI TELUR CACING DARI KEONG SAWAH (*Pila ampullaces*) PEDAGANG KAKI LIMA DI KOTA BEKASI

Anita Oktari[1]* · Cenia Putri Hanifah[1] · Siti Nur Inayah[2] · Rani Handriani[1] · Isti Sofia Insani[1] · Linta Rahayu Rahmawati[1]

[1] **Program Studi Analis Kesehatan, Sekolah Tinggi Analis Bakti Asih, Bandung, Jawa Barat, Indonesia**
[2] **Program Studi S1 Kimia, Sekolah Tinggi Analis Bakti Asih, Bandung, Jawa Barat, Indonesia**

*e-Mail : anita_oktari@staba.ac.id
No Tlp WA : 08122334215

Abstract

Worm disease is still considered trivial by most Indonesians. Rice field snails are intermediary animals that cause worm diseases in humans. This study aims to identify the presence of worm eggs in boiled rice field snails sold by street vendors in Bekasi City using sedimentation and flotation methods. The type of research used is descriptive with a sample of 16 rice field snails obtained from street vendors in Bekasi. Data processing through coding and tabulation. The results of the analysis of 16 boiled rice field snails examined (using 3 verifiers), obtained 3 positive samples (18.75%) found worm eggs of the species Trichuris trichiura, Ascaris lumbricoides, and Clonorchis sinensis in the sedimentation method and 1 positive (6.25%) Ascaris lumbricoides worm eggs in the flotation method. Overall, out of a total of 32 examinations, 4 samples (25%) were positive and 28 samples (75%) were negative. Statistically, the two methods did not differ significantly in sensitivity because the Asymp, sig value was 0.526 > 0.05. Health analysts are expected to be more active in providing outreach to the community, especially rice field snail traders, about the types of processed foods, namely by suggesting them to pay attention to proper washing and processing methods.
***Keywords** : Trichuris trichiura, Ascaris lumbricoides, Clonorchis sinensis, Rice field snails, street vendors.*

Abstrak

Penyakit kecacingan masih dianggap sebagai hal sepele oleh sebagian besar masyarakat Indonesia. Keong sawah adalah hewan perantara yang menyebabkan penyakit cacingan pada manusia. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keberadaan telur cacing pada rebusan keong sawah (*Pila ampullacea)* pedagang kaki lima di Kota Bekasi yang dilakukan dengan metode sedimentasi dan metode flotasi. Jenis penelitian yang digunakan adalah deskriptif dengan menggunakan sampel penelitian 16 Keong sawah yang didapat dari pedagang kaki lima di Bekasi. Pengolahan data melalui *coding* dan *tabulating*. Hasil analisa dari 16 rebusan Keong sawah yang diperiksa (dengan menggunakan 3 verifikator), maka didapatkan 3 sampel positif (18,75%) ditemukan telur cacing spesies *Trichuris trichiura , Ascaris lumbricoides,* dan *Clonorchis sinensis* pada metode sedimentasi dan 1 positif (6,25%) telur cacing *Ascaris lumbricoides* pada metode flotasi. Secara keseluruhan dari total 32 pemeriksaan, 4 sampel (25%) positif dan 28 sampel (75%) negatif. Secara statistik kedua metode tidak berbeda signifikan sensitifitasnya karena nilai Asymp,sig 0,526 > 0,05. Bagi tenaga Analis Kesehatan diharapkan lebih aktif memberikan sosialisasi kepada masyarakat terutama pedagang keong sawah (*Pilla ampulacea*) tentang jenis olahan makanan yang memicu adanya masalah kecacingan yaitu dengan menyarankan untuk memperhatikan cara pencucian dan pengolahan dengan benar.
Kata kunci : *Trichuris trichiura, Ascaris lumbricoides, Clonorchis sinensis,* rebusan Keong sawah, pedagang kaki lima.

PENDAHULUAN

Pedagang kaki lima merupakan tempat orang biasa membeli makanan di Indonesia. Penjual kaki lima yang menjual berbagai macam makanan dengan rasa yang lezat dan penyajian yang menarik belakangan ini meningkat, tetapi kualitas masakan mereka yang kurang di perhatikan, keong sawah (*Pila ampullacea*) merupakan salah satu makanan unik yang harus di perhatikan. Diketahui bahwa keong sawah (*Pila ampullacea*) tinggal di sawah, di mana mereka secara teoritis mengandung telur atau larva cacing yag dapat menginfeksi hewan perantara melalui tanah, memyebabkan penyakit cacingan. Pencemaran cacing juga dapat terjadi karena bahan makanan dicuci kurang bersih dan diproses dengan cara yang salah. Karena cercaria dalam tubuh keong sawah (*pila ampullace*) ini dapat menginfeksi manusia dan hewan (Sarni et al., 2022).

Infeksi cacing yang ditularkan melalui tanah *Soil Transmitted Helminths* (STH) termasuk salah satu infeksi yang paling umum di seluruh dunia dengan perkiraan 1,5 miliar orang atau 24% dari populasi dunia yang terinfeksi. Prevalensi kejadian cacingan di Indonesia pada anak berkisar 2,7 – 60,7% (Maulina et al., 2020). Di Indonesia penyakit cacingan tersebar luas di daerah pedesaan maupun di daerah perkotaan. Hasil survei infeksi kecacingan di sekolah dasar (SD) di beberapa propinsi menunjukan prevalensi sekitar 60% - 80%, sedangkan untuk semua umur berkisar antara 40% - 60%. Survei di Indonesia juga menunjukkan bahwa seringkali prevalensi *Ascaris lumbricoides* yang tinggi disertai prevalensi *Trichuris trichiura* yang tinggi pula. Prevalensi *Ascaris lumbricoides* yang lebih tinggi dari 70% ditemukan antara lain di beberapa desa di Sumatera (78%), Kalimantan (79%), Sulawesi (88%), Nusa tenggara Barat (92%) dan Jawa Barat (90%). Prevalensi *Trichuris trichiura* juga tinggi untuk daerah Sumatera (83%), Kalimantan (83%), Sulawesi (83%), Nusa tenggara Barat (84%) dan Jawa Barat (91%). Sedangkan prevalensi cacing tambang (*Hookworm*) berkisar 30 % sampai 50% di berbagai daerah di Indonesia (Nainggolan, 2022).

Keong sawah (*Pila ampullacea*) merupakan hewan perantara yang

menyebabkan penyakit cacingan pada manusia. Keong sawah (*Pila ampullacea*) merupakan sejenis siput air tawar dan dapat dijumpai di sawah, parit, serta danau. Keong sawah (*Pila ampullacea*) memiliki cangkang hijau pekat sampai hitam, tetapi bentuknya mirip dengan siput murbai (keong mas). Hewan bercangkang ini dikenal pula sebagai keong gondang, siput sawah, siput air atau tutut. Keong sawah (*Pila ampullacea*) biasanya diambil dan dibasmi karena mampu berkembang biak dengan pesat sehingga berubah menjadi hama bagi tanaman padi berusia muda di negara Indonesia. Keberadaan keong sawah (*Pila ampullacea*) di Indonesia kini dimanfaatkan sebagai bahan pangan bagi masyarakat karena kandungan protein yang cukup tinggi sehingga menjadikan bahan pangan yang layak dikonsumsi. Namun kewaspadaan perlu diberikan kepada masyarakat yang sering mengonsumsi hewan ini. Hal ini disebabkan karena beberapa parasit yang menjadikan keong sawah (*Pila ampullacea*) sebagai inang perantara, salah satunya golongan *Soil Transmited Helminths*/STH (Fauziah et al., 2022).

STH yang biasa disebut nematoda usus sering menjadi masalah bagi kesehatan manusia yang ditularkan melalui tanah. Jenis STH yang menginfeksi manusia yaitu *Ascaris lumbricoides, Trichiuris trichiura, , Necator americanus, serta Ancylostoma duodenale* (Arisanti et al., 2023). Penyakit cacingan berdampak buruk pada status klinis mulai dari infeksi ringan sampai berat. Infeksi ringan dapat menyebabkan penyakit kurang kalori protein (KKP), anemia, penurunan inteligent (IQ) pada anak- anak, kelelahan, bibir pecah-pecah, menurunnya produktivitas dan kualitas kerja pada orang dewasa, sedangkan infeksi berat dapat menyebabkan sering pikun atau bingung, alergi, nafas pendek, dan kemerahan kulit seperti iritasi (Koehler et al., 2021).

Perpindahan telur cacing ke manusia dapat terjadi melalui tanah yang terkontaminasi tinja penderita. Di daerah dengan sanitasi buruk, telur cacing dapat mengkontaminasi hewan atau bahan makanan. Penyebaran STH melalui makanan sering disebabkan proses pencucian dan pengolahan bahan pangan yang tidak higienis, serta kurangnya pengetahuan masyarakat tentang pencegahan penyakit cacingan (Helmalia & Fadhliani, 2019).

Salah satu cara pengolahan keong sawah yang higienis untuk meminimalisir risiko kecacingan adalah dengan merendam keong dalam air bersih semalaman sambil mengganti air 2–3 kali, membersihkan lumut pada cangkang, memotong bagian belakang cangkang untuk mengeluarkan kotoran, serta mencucinya beberapa kali hingga benar-benar bersih (Cahyono & Kustiningsih, 2021). Meskipun perebusan keong sawah hingga mendidih umumnya dianggap cukup untuk membunuh sebagian besar parasit, beberapa penelitian menunjukkan bahwa ketahanan telur cacing tertentu terhadap panas dapat bervariasi. Telur *Ascaris lumbricoides*, misalnya, memiliki lapisan pelindung yang dapat membuatnya relatif resisten terhadap suhu tinggi jika pemanasan tidak dilakukan dengan waktu dan suhu yang cukup. Faktor seperti lama perebusan, volume air, dan ukuran keong dapat mempengaruhi efektivitas pemanasan dalam menonaktifkan telur cacing (Schlosser et al., 2023). Oleh karena itu, pengujian pada rebusan keong sawah dari pedagang kaki lima penting dilakukan untuk memastikan bahwa proses pemasakan yang dilakukan benar-benar aman dan tidak menyisakan telur cacing yang berpotensi infektif.

BAHAN DAN METODE

Populasi dalam penelitian ini yaitu seluruh jenis keong sawah (*Pila ampullacea)* dari pedagang kaki lima Kota Bekasi. Sampel yang digunakan adalah rebusan keong sawah (*Pila ampullacea*) dari salah satu pedagang kaki lima Kota Bekasi. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya NaCl 0,9%; Aquades; NaCl Jenuh.

Prosedur persiapan diawali dengan merebus keong (*Pila ampullacea*), mengeluarkan daging keong (*Pila ampullacea*) menggunakan tusuk gigi, menghaluskan daging keong (*Pila ampullacea*) dengan cara dicincang halus menggunakan pisau di atas papan pemotong. Setelah halus, daging keong dimasukkan ke dalam cup sampel.

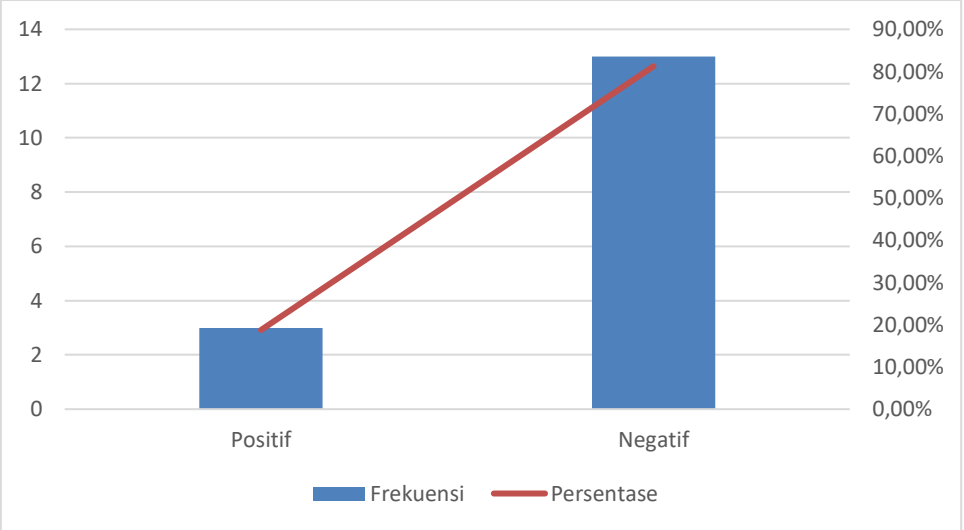
Metode sedimentasi dilakukan dengan cara menimbang sampel sebanyak 1 gram, memasukkan sampel pada tabung reaksi, menambahkan NaCl 0,9% sampai

¾ tabung, mengaduk sampai homogen, menyaring dengan 2 lembar kain kasa, melakukan sentrifugasi hasil penyaringan dengan kecepatan 1500- 2300 rpm selama 1-2 menit, membuang larutan supernatan di atasnya dengan hati-hati, menambah kembali larutan NaCl 0,9% dan mengaduk hingga rata. Kemudian dilakukam kembali sentrifugasi 5-7 kali sampai supernatan menjadi jernih, membuang larutan NaCl 0,9 % dilanjutkan memipet endapan pada tabung reaksi. Tahapan akhir yakni menaruh endapan di atas objek glass 1 tetes dan menutupnya menggunakan cover glass. Kemudian pengamatan telur cacing STH dilakukan dengan cara melihat objek glass di bawah mikroskop dengan perbesaran 100-400 x dalam 10 lapang padang. Hasil yang tampak kemudian dilaporkan kepada verifikator dan didokumentasikan (Asa et al., 2022).

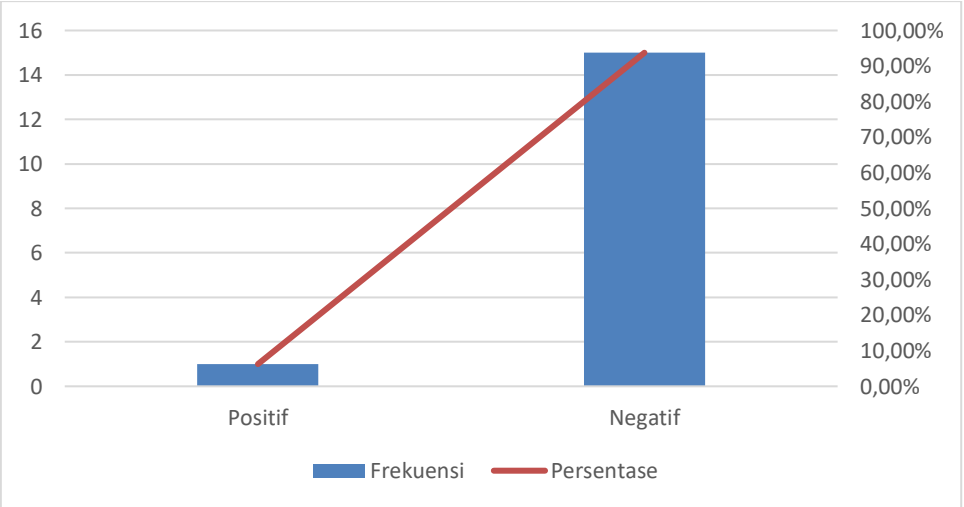
Metode flotasi dilakukan dengan cara menimbang sampel sebanyak 1 gram, memasukkan sampel pada tabung reaksi, memasukkan larutan NaCl jenuh sebagai perendam ke dalam tabung reaksi hingga berbentuk cembung. Setelah 10 menit, dilakukan proses penempelan cover glass pada larutan cembung tersebut dan dipindahkan pada objek glass. Kemudian pengamatan telur cacing STH dilakukan dengan cara melihat objek glass di bawah mikroskop dengan perbesaran 100-400 x dalam 10 lapang padang. Hasil yang tampak kemudian dilaporkan kepada verifikator dan didokumentasikan (Khurana et al., 2021).

HASIL

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kinik dr. Reza Fauzi Kota Bekasi secara mikroskopis menggunakan metode flotasi dan sedimentasi. Hasil penelitian dinyatakan positif apabila ditemukan telur cacing pada rebusan keong sawah. Berdasarkan Gambar 1 dan Tabel 1 menunjukkan 3 sampel (18,75%) positif dan 13 sampel (81,25%) negatif dengan menggunakan metode sedimentasi, ditemukan telur cacing spesies *Trichuris trichiura, Ascaris lumbricoides, dan Clonorchis sinensis*. Berdasarkan Gambar 2 dan Tabel 2 menunjukkan 1 sampel (6,25%) positif dan 15 sampel (93,75%) negatif dengan menggunakan metode flotasi, ditemukan telur cacing spesies *Ascaris lumbricoides*.



Gambar 1. Grafik distribusi frekuensi hasil metode sedimentasi



Gambar 2. Grafik distribusi frekuensi hasil metode flotasip

Tabel 1. Hasil pengamatan metode sedimentasi pada pemeriksaan rebusan keong sawah

Kode sampel	Hasil	Spesies Telur Cacing
A1.	Positif	*Clonorchis sinensis*
A2.	Negatif	Negatif
A3.	Negatif	Negatif
A4.	Negatif	Negatif
A5.	Negatif	Negatif
A6.	Positif	*Ascaris lumbricoides*
A7.	Negatif	Negatif
A8.	Negatif	Negatif

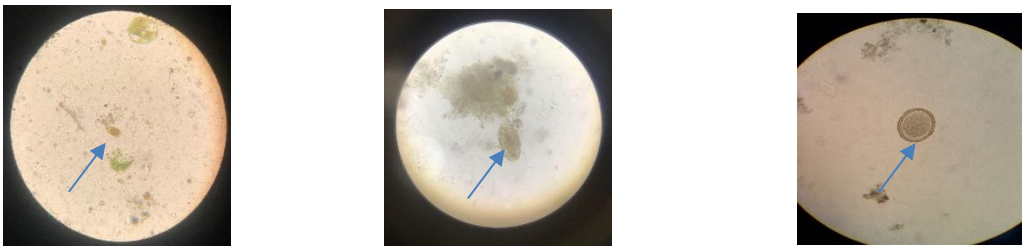
Kode sampel	Hasil	Spesies Telur Cacing
A9.	Negatif	Negatif
A10.	Negatif	Negatif
A11.	Negatif	Negatif
A12.	Negatif	Negatif
A13.	Negatif	Negatif
A14.	Positif	*Trichuris trichiura*
A15.	Negatif	Negatif
A16.	Negatif	Negatif

Tabel 1, Gambar 3, dan Gambar 4 menunjukkan bahwa ditemukan telur cacing spesies *Trichuris trichiura* pada preparat 14, telur cacing spesies *Ascaris lumbricoides* pada preparat 6, dan telur cacing spesies *Clonorchis sinensis* pada preparat 1 dengan metode sedimentasi.

Tabel 2. Hasil pengamatan metode flotasi pada pemeriksaan rebusan keoang sawah

Kode sampel	Hasil	Spesies Telur Cacing
B1.	Negatif	Negatif
B2.	Negatif	Negatif
B3.	Negatif	Negatif
B4.	Negatif	Negatif
B5.	Negatif	Negatif
B6.	Negatif	Negatif
B7.	Negatif	Negatif
B8.	Negatif	Negatif
B9.	Negatif	Negatif
B10.	Negatif	Negatif
B11.	Positif	*Ascaris lumbricoides*
B12.	Negatif	Negatif
B13.	Negatif	Negatif
B14.	Negatif	Negatif
B15.	Negatif	Negatif
B16.	Negatif	Negatif

Tabel 2 dan Gambar 3 menunjukkan bahwa ditemukan telur cacing spesies *Ascaris lumbricoides* pada preparat 11 dengan metode flotasi.



A B C

Gambar 3. Hasil pengamatan sampel positif telur cacing (perbesaran 400x)
Keterangan : A = Sampel kode A1, positif telur *Clonorchis sinensis*; B = Sampel kode A6, positif telur *Ascaris lumbricoides*; C = Sampel kode B11, positif telur *Ascaris lumbricoides*



A B

Gambar 4. Perbandingan hasil pengamatan sampel positif telur cacing (perbesaran 400x) dan sampel negatif
Keterangan : A = Sampel kode A14, positif telur *Trichuris trichiura*; B = Sampel kode B6, negatif telur cacing

Secara statistik kedua metode yang dilakukan dalam penelitian ini tidak berbeda signifikan sensitifitasnya karena nilai *Asymp,sig* 0,526 > 0,05.

DISKUSI

Berdasarkan hasil penelitian identifikasi telur cacing pada rebusan keong sawah (*Pila ampullacea*) dengan metode sedimentasi dan flotasi yang didapatkan hasil positif telur cacing *Ascaris lumbricoides* berjumlah 2 sampel. Menurut (Gordon & Mcmanus, 2017), kontaminasi telur cacing *Ascaris lumbricoides* lebih besar daripada telur lainnya dikarenakan telur cacing *Ascaris lumbricoides* memiliki ketahanan yang lebih baik di lingkungan. Telur *Ascaris lumbricoides*

akan mati pada suhu lebih dari 40^{O}C selama 15 jam sedangkan pada suhu 50^{O}C selama 1 jam. Pada suhu dingin, telur *Ascaris lumbricoides* dapat bertahan hingga suhu kurang dari 8^{O}C.

Telur cacing *Trichuris trichiura* ditemukan positif berjumlah 1 sampel. Menurut (Aiemjoy et al., 2017), suhu kurang dari 8^{o}C dapat merusak telur *Trichuris trichiura,* sehingga telur tidak mampu bertahan yang menyebabkan kematian, sedangkan suhu optimum yaitu 40-48^{O}C dalam 2-4 minggu telur yang mengandung larva berubah menjadi infektif. Dalam waktu 3-10 hari kemudian menjadi cacing dewasa sampai dengan 90 hari cacing dewasa siap bertelur.

Pada rebusan keong (*Pila ampullacea*) tidak terdapat telur cacing *Hookworm*. Hal ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti jenis tanah dan suhu. Telur *Hookworm* membutuhkan suasana yang lembab, basah, kaya akan oksigen dan dengan suhu optimum 26-27 ^{O}C. Menurut (Hairani, 2016), larva cacing *Hookworm* mampu hidup pada tanah yang gembur karena cacing *Hookworm* membutuhkan banyak oksigen. *Hookworm* mampu dengan mudah menginfeksi inangnya karena selain telur, bentuk larva *infektif* dapat memasuki tubuh inang secara aktif. Aktifitas manusia yang tidak menjaga kebersihan diri serta masuknya *Hookworm* melalui makanan semakin meningkatkan resiko penularan cacing tersebut.

Telur cacing *Clonorchis sinensis* ditemukan positif berjumlah 1 sampel. Hal ini dapat disebabkan oleh *Clonorchis sinensis* menjadikan keong sawah sebagai selalu satu inang perantara pertama (Sohn & Chai, 2024). Menurut WHO *Clonorchis sinensis* dapat dimatikan dengan pembekuan pada suhu -10°C selama 5 hari. Data ini mencakup referensi bahwa diperlukan 3-4 hari untuk membunuh larva *Clonorchis sinensis* jika dibekukan pada -20°C dan 32 jam untuk membunuh larva *Opisthorchis felinus* pada -28°C.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 16 sampel keong sawah pedagang kaki lima di Kota Bekasi ditemukan 3 positif telur cacing (18,75%) dengan metode sedimentasi dan 1 positif telur cacing STH (6,25%) dengan metode flotasi. Jenis telur cacing yang ditemukan adalah *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris*

trichiura, dan *Clonorchis sinensis.* Positifnya rebusan keong sawah sebagai makanan tradisonal dan budaya Indonesia oleh telur cacing menunjukkan prevalensi kecacingan di Indonesia masih dapat berlangsung tinggi persentasenya.

Berdasarkan penelitian (Regina et al., 2018) pada rebusan keong (*Pila ampullacea*) didapatkan hasil positif telur *Soil Transmitted Helminths (STH)* yaitu *Ascaris lumbricoides* ditemukan 70%, *Trichuris trichiura* ditemukan 25%, *Hookworm* ditemukan 5%. (Arisanti et al., 2023) juga menyimpulkan bahwa pada kerang air tawar (*Pilsbryoconcha exilis)* ditemukan jenis telur STH yaitu telur cacing gelang (*Ascaris lumbricoides)* dan telur cacing tambang (*Hookworm*).

STH memiliki dampak yang besar dalam infeksi kecacingan yang diderita oleh manusia. Infeksi kecacingan secara bertahap dapat menyebabkan penderita menjadi lemah yang mengakibatkan menurunnya kondisi kesehatan, kekurangan zat gizi serta kehilangan darah. Selain itu, dapat pula menghambat perkembangan fisik, kecerdasan dan produktifitas kerja, dapat menurunkan sistem kekebalan tubuh sehingga mudah terkena penyakit lainnya (Arisanti et al., 2023).

Cara pengolahan keong (*Pila ampullacea)* yang higienis mampu meminimalisir terjadinya suatu penyakit cacingan yaitu dengan cara merendam keong (*Pila ampullacea)* dengan air bersih selama semalam dan mengganti 2 - 3 kali air rendaman tersebut, menggosok-gosok cangkang supaya lumut yang menempel di cangkang bersih, mencuci beberapa kali sampai bersih, memotong bagian belakang cangkang untuk mengeluarkan kotoran keong, dan mencuci lagi beberapa kali sampai bersih (Siagian, 2023).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengamatan dengan metode sedimentasi dan flotasi pada pemeriksaan sempel rebusan keong sawah di Laboratorium Klinik dr. Reza Fauzi, dapat disimpulkan bahwa pada metode sedimentasi mendeteksi 3 sampel positif telur cacing (18,75%) yakni telur cacing spesies *Trichuris trichiura, Ascaris*

lumbricoides, Clonorchis sinensis dan 13 sampel negatif (81,25%). Pada metode flotasi mendeteksi 1 sampel positif telur cacing (6,25%) yakni telur cacing spesies *Ascaris lumbricoides* dan 15 sampel negatif (93,75%). Meskipun secara statistik kedua metode tidak berbeda signifikan sensitivitasnya, namun dari hasil penelitian metode sedimentasi efektif dalam mendeteksi keberadaan telur cacing pada rebusan keong sawah.

UCAPAN TERIMAKASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada seluruh sivitas akademika Sekolah Tinggi Analis Bakti Asih Bandung.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

REFRENSI

Aiemjoy, K., Gebresillasie, S., Stoller, N. E., Shiferaw, A., Tadesse, Z., Chanyalew, M., Aragie, S., Callahan, K., & Keenan, J. D. (2017). Epidemiology of soil-transmitted helminth and intestinal protozoan infections in preschool-aged children in the Amhara Region of Ethiopia. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, *96*(4), 866–872. https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0800

Arisanti, D., Widyanti, T., Fatmawati, A., Rustiah, W., Anita, A., & Rosmawati, A. (2023). Identifikasi Telur Nematoda Usus Golongan Soil Transmitted Helminth (STH) Pada Kuku Petani. *Lontara Journal of Health Science and Technology*, *4*(1), 1–7. https://doi.org/10.53861/lontarariset.v4i1.324

Asa, B. F., Shintouo, C. M., Shey, R. A., Afoumbom, M. T., Siekeh, N., Yoah, A., Kah, E., Ickowitz, A., Tata, C. Y., Asongalem, E., & Ghogomu, S. M. (2022). Prevalence, correlates of undernutrition and intestinal parasitic infection among children below 5 years living in the forest community of Ndelele, East Region of Cameroon: A cross-sectional assessment. *PLoS ONE*, *17*(12 December), 1–17. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0278333

Cahyono, J. A., & Kustiningsih, Y. (2021). *Prototype Skala Laboratorium Untuk Deteksi Dini Kecacingan Di Daerah Aliran Sungai Martapura Oleh :*

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.

Fauziah, N., Aviani, J. K., Agrianfanny, Y. N., & Fatimah, S. N. (2022). Intestinal Parasitic Infection and Nutritional Status in Children under Five Years Old: A Systematic Review. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, *7*(11). https://doi.org/10.3390/tropicalmed7110371

Gordon, C. A., & Mcmanus, D. P. (2017). *Soil-Transmitted Helminths in Tropical Australia and Asia*. https://doi.org/10.3390/tropicalmed2040056

Hairani, B. (2016). Keberadaan Telur dan Larva Cacing Tambang pada Tanah di Lingkungan Desa Sepunggur dan Desa Gunung Tinggi Kabupaten Tanah Bumbu Kalimantan Selatan Tahun 2014. *Jurnal Vektor Penyakit*, *9*(1), 15–20. https://doi.org/10.22435/vektorp.v9i1.5040.15-20

Helmalia, F., & Fadhliani. (2019). Pemeriksaan Feses Untuk Penentuan Infeksi Parasit di RSUD Langsa. *Jurnal Biologica Samudra*, *1*(2), 16–21.

Khurana, S., Singh, S., & Mewara, A. (2021). Diagnostic Techniques for Soil-Transmitted Helminths – Recent Advances. *Research and Reports in Tropical Medicine*, *Volume 12*(July), 181–196. https://doi.org/10.2147/rrtm.s278140

Koehler, S., Springer, A., Issel, N., Klinger, S., Wendt, M., Breves, G., & Strube, C. (2021). Ascaris suum nutrient uptake and metabolic release, and modulation of host intestinal nutrient transport by excretory-secretory and cuticle antigens in vitro. *Pathogens*, *10*(11). https://doi.org/10.3390/pathogens10111419

Maulina, F., Sayuti, M., Ilmu Kesehatan Anak, B., Kedokteran, F., Malikussaleh, U., Ilmu Kesehatan Masyarakat, B., & Ilmu Bedah, B. (2020). Hubungan Interpretasi Who (World Health Organization) Antropometri Z-Score Dan Infeksi Kecacingan Pada Anak Usia 36-60 Bulan Di Kota LhokseumawE. In *Jurnal Averrous* (Vol. 6, Issue 2).

Nainggolan, W. R. (2022). Perilaku Buang Air Besar Sembarangan dan Penyakit Kecacingan pada Masyarakat di Daerah Pesisir. *Journal of Social Research*, *1*(8), 902–907. https://doi.org/10.55324/josr.v1i8.183

Regina, M. P., Halleyantoro, R., & Bakri, S. (2018). Perbandingan Pemeriksaan Tinja Antara Metode Sedimentasi Biasa Dan Metode Sedimentasi Formol-Ether Dalam Mendeteksi Soil-Transmitted Helminth. *Diponegoro Medical Journal (Jurnal Kedokteran Diponegoro)*, *7*(2), 527–537.

Sarni, Y., Sudaryati, E., & Nurmaini, N. (2022). The Relation of Deworming with Nutritional Status of Elementary School Students in Sicanang. *Indonesian Journal of Multidisciplinary Science*, *2*(2), 1968–1975.

https://doi.org/10.55324/ijoms.v2i2.288

Schlosser, J., Schlosser-brandenburg, J., Midha, A., Mugo, R. M., Ndombi, E. M., Gachara, G., Njomo, D., Rausch, S., Hartmann, S., & Reynolds, L. A. (2023). *Infection with soil-transmitted helminths and their impact on coinfections*. *June*. https://doi.org/10.3389/fpara.2023.1197956

Siagian, F. E. (2023). Intestinal Parasitic Infection Responsible for Undernourishment and Stunted Growth in Children of School Going Age. *Asian Journal of Research in Infectious Diseases*, *14*(1), 18–25. https://doi.org/10.9734/ajrid/2023/v14i1278

Sohn, W.-M., & Chai, J.-Y. (2024). Practical guide for the diagnosis of helminth ova in stools. *Annals of Clinical Microbiology*, *27*(2), 49–67. https://doi.org/10.5145/acm.2024.27.2.3

EFEKTIVITAS SEDIAAN CAIR ELEKTRIK DARI EKSTRAK DAUN CIPLUKAN (*Physalis angulata* L.) SEBAGAI ANTI NYAMUK *Aedes aegypti*

Weni Mulyani[1*] · Titi Lasmini[1] · Dilia Fitri[1]

[1] **D4 Teknologi Laboratorium Medik, Akademi Kesehatan John Paul II Pekanbaru, Riau, Indonesia**

e-Mail : wenimulyani@akjp2.ac.id
No Tlp WA : 0811755697

Abstract

Dengue Hemorrhagic Fever is an infectious disease caused by the bite of the Aedes aegypti mosquitoes. Mosquito control with chemical insecticides causes adverse reactions so that alternative insecticides from natural ingredients are needed, one of which is morel berry (physalis angulata L.). The purpose of this study was to determine the effectiveness of the electric liquid preparation of morel berry leaf extract against Aedes aegypti mosquitoes. The morel berry leaf extract was macerated and evaporated with a rotary evaporator at a temperature of 45℃ until a thick extract was obtained, then diluted with 2 solvents (distilled water and ethanol). The effectiveness of the extract in each solvent was tested in 5 treatment groups, namely extract concentrations of 4%, 5% and 6%, positive control (HIT) and negative control. The test was observed at 3, 6, 9, and 12 hours after treatment. Extract dissolved with distilled water solvent effectively killed mosquitoes in the 6th hour of treatment, while that with ethanol solvent was effective in the 3rd hour of treatment. The test results showed that the extract dissolved in ethanol was more effective than the distilled water solvent.

Keywords: *Aedes aegypti, Morel Berry, Electric Liquid Preparation*.

Abstrak

Demam Berdarah *Dengue* adalah penyakit infeksi disebabkan oleh gigitan nyamuk *Aedes aegypti*. Pemberantasan nyamuk dengan insektisida berbahan kimia menimbulkan efek samping sehingga diperlukan adanya insektisida alternatif dari bahan alami, salah satunya adalah ciplukan (*physalis angulata* L.). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas sediaan cair elektrik dari ekstrak daun ciplukan terhadap nyamuk *Aedes aegypti*. Ekstrak daun ciplukan dimaserasi dan diuapkan dengan rotary evaporator pada suhu 45℃ hingga diperoleh ekstrak kental, kemudian diencerkan dengan 2 pelarut (akuades dan etanol) Efektivitas ekstrak pada masing-masing pelarut diuji pada 5 kelompok perlakuan yaitu ekstrak konsentrasi 4%, 5% dan 6%, kontrol positif (HIT) dan kontrol negatif. Uji diamati pada jam ke 3, 6, 9, dan 12 setelah perlakuan. Hasil pengujian diketahui bahwa ekstrak yang dilarutkan dengan etanol lebih efektif dari pada pelarut akuades. Ekstrak dengan pelarut akuades efektif menyebabkan kematian pada nyamuk di jam ke 6 perlakuan, sedangkan dengan pelarut etanol efektif di jam ke 3 perlakuan

Kata Kunci: *Aedes aegypti*, Daun Ciplukan, Sediaan Cair Elektrik

PENDAHULUAN

Demam Berdarah Dangue (DBD) merupakan salah satu penyakit menular yang masih menjadi masalah kesehatan di Indonesia. Penyakit ini ditularkan oleh nyamuk *Aedes aegypti* betina sebagai vektor virus dangue (Nurdiansyah & Yunengsih, 2024). Penderita DBD sering mengalami gejala klinis seperti demam tinggi dalam waktu 2-

7 hari, pendarahan, bintik merah pada kulit, muntah darah (hematemesis), hepatomegaly (terjadinya pembesaran hati), nafsu makan hilang, dan syok yang berlebihan hingga menyebabkan kematian (Mahendra *et al*., 2022).

Menurut data Kemenkes (2022) pada periode tahun 2021 total kasus DBD di Indonesia dilaporkan sebanyak 73.518 kasus dengan 705 kasus kematian. Terjadi peningkatan yang signifikan pada tahun 2022 tercatat 143.266 kasus dengan 1.237 kasus kematian. Pada tahun 2023 dilaporkan sebanyak 114.720 kasus dengan 894 kasus kematian (Kemenkes, 2023).

Berdasarkan informasi dari Kemenkes RI (2020), Provinsi Riau memiliki angka kesakitan DBD yaitu 41,4 per 100.000 penduduk dengan proporsi kematian yaitu 1,3%. Tahun 2021 Riau memiliki angka kesakitan DBD yaitu 14,6 per 100.000 penduduk dengan proporsi kematian yaitu 1%. Pada tahun 2022 Riau memiliki angka kesakitan DBD yaitu 33 per 100.000 penduduk dengan angka kematian 0,76%. Informasi ini menunjukan bahwa kasus DBD sampai saat ini masih tinggi di Provinsi Riau, dengan kasus paling banyak terjadi di Kota Pekanbaru di ikuti oleh kota Dumai dan Kuantan Singingi (Dinkes Provinsi Riau, 2022). Tingginya kasus DBD ini menegaskan perlunya pengendalian vektor Aedes aegypti melalui pengendalian fisik, biologi dan kimia (Arinda, 2023)

Selama ini, insektisida berbahan kimia banyak digunakan dalam bentuk semprotan, bakar maupun cair. produk ini dapat menimbulkan dampak negatif seperti bau menyengat, meninggalkan bau, dapat menyebabkan iritasi kulit, resistensi serangga, pencemaran lingkungan, dan meracuni mahluk hidup lainnya (Wardani *et al*., 2020). Salah satu tanaman yang dapat dijadikan sebagai bahan insektisida alami adalah daun ciplukan (*Physalis angulata* L.). Tanaman ini mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder antara lain alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid, dan treponoid Suhartini *et al*. (2024),

Penelitian mengenai efektivitas ekstrak daun ciplukan sebagai larvasida telah banyak diteliti. Namun belum ada penelitian ilmiah yang membuktikan bahwa ekstrak daun ciplukan dapat digunakan sebagai insektisida alami. Berdasarkan uraian diatas maka perlu dilakukan penelitian yang bertujuan untuk membuktikan bahwa ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) dapat digunakan sebagai insektisida alami.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian yang digunakan adalah *true eksperimental* dengan menggunakan desain penelitian yaitu *post test only control grup*. Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu blender, timbangan analitik (*Ohaus*), oven (*Memert UN55*), rotary evaporator, kertas saring, gelas ukur (*Iwaki CTE33*), *beaker glass* (*Pyrex Iwaki*), pengaduk kaca, pisau, corong kaca, kawat jaring, tempat sediaan cair elektrik, mikroskop dan pipet tetes. Bahan yang digunakan aquades, etanol, daun ciplukan serta nyamuk *Aedes Aegypti*.

Penelitian ini dilakukan dengan menempatkan wadah berisi air pada tempat gelap hingga terdapat larva, kemudian dipelihara sampai sampai menjadi nyamuk dewasa. Daun ciplukan sebanyak 1.500 g dicuci, dirajang, dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama 3-5 hari tanpa terkena cahaya matahari langsung untuk menghasilkan simplisia. Simplisia kering dihaluska, kemudian direndam menggunakan etanol 70% selama 5 hari.

Fitrat yang diperoleh disaring dan diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 4045◦C hingga didapatkan ekstrak kental.

Ekstrak daun ciplukan kemudian dibuat dalam tiga konsentrasi (4%, 5%, 6%) dengan pelarut aquades maupun etanol 70%. Uji efektivitas dilakukan dengan menempatkan 10 ekor nyamuk *Aedes aegypti* dewasa kedalam *beaker glass* berisi sediaan cair elektrik. Perlakuan terdiri atas kontrol negatif (*aquades* dan etanol), kontrol positif (produk HIT), serta larutan ekstrak pada berbagai konsentrasi.

HASIL

Dari penelitian yang telah dilakukan menunjukan adanya kematian terhadap nyamuk *Aedes aegypti* pada masing-masing kelompok berikut :

Tabel 1. Jumlah kematian nyamuk *Aedes aegypti* dengan pelarut aquades.

Kelompok	Jumlah sampel			
	Waktu			
	3 jam	6 jam	9 jam	12 jam
Konsentrasi 4%	4	9	10	10
Konsentrasi 5%	6	9	10	10

Konsentrasi 6%	7	10	10	10
Kontrol (+) : HIT	6	10	10	10
Kontrol (-) : Aquades	0	0	0	0

Pada Tabel 1. berdasarkan hasil penelitiaan yang diperoleh didapatkan bahwa ekstrak daun ciplukan dengan pelarut aquades pada konsentrasi 4% efektif membunuh nyamuk dalam waktu 6 jam. Pada konsentrasi 5% dan 6% efektif dalam waktu 3 jam. Kontrol positif efektif dalam waktu 3 jam dan kontrol negatif yang berisi aquades tidak dapat membunuh nyamuk sampai waktu 12 jam.

Tabel 2. Jumlah kematian nyamuk *Aedes aegypti* dengan pelarut etanol.

Kelompok	Jumlah Sampel			
	waktu			
	3 jam	6 jam	9 jam	12 jam
Konsentreasi 4%	6	9	10	10
Konsentrasi 5%	6	10	10	10
Konsentrasi 6%	7	10	10	10
Kontrol (+) : HIT	8	10	10	10
Kontrol (-) : Etanol 70%	0	0	0	3

Pada tabel 2 menunjukan bahwa konsentrasi 4%, 5%, 6% efektif pada waktu 3 jam. Pada kontol positif efektif dalam waktu 3 jam. Pada kontrol negatif yang diisi dengan etanol dalam waktu 12 jam dapat membunuh nyamuk sebanyak 3 ekor.

DISKUSI

Pengujian ekstrak terhadap nyamuk dilakukan menggunakan metode elektrik cair karena praktis, tidak menghasilkan abu, serta bebas dari asap dengan bau yang menyengat. Metode elektrik bekerja dengan menguapkan zat aktif ke seluruh ruangan, sehingga nyamuk yang menghirup uap tersebut akan pingsan dan akhirnya mati (Wardani *et al.*, 2020)

Berdasarkan tabel 1 dan 2 menunjukan bahwa Ekstrak daun ciplukan (*Physali angulata* L.) dengan konsentrasi 4%, 5%, dan 6% efektif membunuh nyamuk *Aedes aegypti,* baik yang menggunakan pelarut aquades maupun pelarut etanol.

Konsentrasi yang paling banyak membunuh nyamuk dalam waktu tercepat adalah konsentrasi 6%. Menurut Rindahayeni & Hayati, (2019) semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) maka senyawa aktif yang diterima oleh nyamuk *Aedes aegypti* akan semakin besar sehingga jumlah kematian yang terjadi pada nyamuk *Aedes aegypti* semakin meningkat.

Menurut Ihsan *et al*. (2017) suatu zat atau senyawa yang dikatakan efektif sebagai insektisida apabila memenuhi LC_{50} (*lethal concentration)*. LC_{50} adalah konsentrasi yang dapat membunuh 50% jumlah hewan uji pada kelompok yang diuji dalam waktu yang singkat.

Efektifitas ekstrak disebabkan oleh kandungan metabolit sekunder seperti alkaloid, flovonoid, saponin, tanin, steroid, dan treponoid. Alkaloid bekerja sebagai racun perut, flavonoid menghambat system pernapasan, saponin merusak saluran pencernaan, tanin mengganggu aktivitas enzim protease, steroid berfungsi sebagai antifedant, sedangkan treponoid dapat menghambat pertumbuhan hingga menyebabkan kematian (Suhartini *et al*., 2024).

Penggunaan dua pelarut aquades dan etanol menunjukkan bahwa etanol lebih efektif sebagai pelarut ekstrak daun ciplukan dalam membunuh nyamuk *Aedes aegypti*. Ekstrak dengan etanol mampu menyebabkan kematian nyamuk dalam waktu 3 jam, sedangkan etanol murni juga menyebabkan kematian pada 3 ekor nyamuk dalam waktu paparan 12 jam karena bekerja melalui kontak langsung, cepat menguap, dan tidak efektif dalam jangka panjang. Hal ini menegaskan bahwa efek insektisida lebih dominan berasal dari senyawa aktif daun ciplukan yang terhirup nyamuk melalui system pernapasan dan menyebabkan kematian dalam jangka waktu tertentu.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan bahwa ekstrak daun ciplukan memiliki potensi sebagai insektisida alami. Penggunaan insektisida alami diperlukan sebagai salah satu cara yang aman terhadap lingkungan dalam upaya memutuskan rantai siklus hidup nyamuk *Aedes aegypti* dalam pengendalian DBD. Keunggulan insektisida alami yaitu mudah terurai di alam, tidak menimbulkan resiko residu yang signifikan dan tentunya aman bagi mahluk hidup dan lingkungan sekitarnya (Wardani *et al*., 2020)

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa Sediaan cair elektrik dari ekstrak daun ciplukan (*Pysalis angulata* L.) memiliki efektivitas sebagai anti nyamuk *Aedes aegypti*. Ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) menggunakan pelarut etanol lebih efektif dalam membunuh nyamuk *Aedes aegypti,* dan Konsentrasi ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) yang paling cepat membunuh nyamuk *Aedes aegypti* adalah konsentrasi 6%.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini dapat terlaksanakan dengan baik atas bantuan berbagai pihak terutama, kepada kampus Akademi Kesehatan John Paul II Pekanbaru.

REFRENSI

Arinda, M. P. (2023). Potensi Infusa Daun Ginseng Jawa (Talinum paniculatum (Jacq .) Gaertn) Sebagai Bioinsektisida Terhadap Kematian Nyamuk Aedes aegypti Dengan Metode Vaporasi. *Jurusan Kesehatan Lingkungan*, *1 (19):*, 18-26.

Dinkes Provinsi Riau. (2021). *Profil Kesehatan Provinsi Riau*. Dinas Kesehatan Provinsi Riau, Pekanbaru.

Dinkes Provinsi Riau. (2022). *Profil Kesehatan Provinsi Riau*. Dinas Kesehatan Provinsi Riau, Pekanbaru.

Ihsan, T., Edwin, T., & Vitri, R. Y. (2017). Analisis Lc50 Logam Pb, Co Dan Cr Terhadap Ikan Mas (Cyprinus Carpio. L) Pada Limbah Cair Industri Percetakan Kota Padang. *Jurnal Dampak*, *14*(2), 98.

Kemenkes. (2022). *Lampiran Profil Kesehatan Indonesia*. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.

Kemenkes. (2023). *Profil Kesehatan Indonesia*. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.

Kemenkes RI. (2020). *Profil Kesehatan Indonesia*. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.

Mahendra, Y. I., Syaniah, A. E., Astari, R., Sy, T. Z. M., & Aulia, W. (2022). Analisis Penyebab Demam Berdarah Dengue (DBD) Desa Bandar Klippa Kecamatan Percut Sei Tuan. *Jurnal Ilmiah Universitas Batanghari Jambi, (22):*(3.),1732–1736.

Rindahayeni, & Hayati, I. (2019). Uji Efektifitas Ekstrak Daun Ciplukan (Physalis angulata L.) Terhadap Nyamuk Aedes aegypti. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, *(6):*(1), 94– 104.

Suhartini, Y., Zubaidah, T., & Pahruddin, M. (2024). Potensi Daun Ciplukan (Physalis angulata L.): Solusi Alami Untuk Pengendalian Larva Nyamuk Aedes aegypti. *Medic Nutricia, Jurnal Ilmu Kesehatan, (8):*(1), 1-6.

Wardani, I. G. A. A. K., Megawati, F., Santoso, P., & Suwantara, I. P. T. (2020). Efektivitas Sediaan Cair Elektrik Dari Ekstrak Bunga Gumitir (Tagetes erecta L.) Sebagai Antinyamuk Aedes aegypti. *Jurnal Ilmiah Medicamento, (5):*(1), 1-5.

PENGARUH LOKASI PENGAMBILAN SAMPEL SEL SCHWANN TERHADAP INDEKS BAKTERIOLOGIS DAN INDEKS MORFOLOGI BTA (*M. leprae*) PADA PASIEN KUSTA TIPE LEPROMATOSA

Zuvi Fridhoriansyah[1]* · Isnin Aulia Ulfah Muawwanah[1] · Aisyah Ramadhani Fawzan[1]

[1]D-IV Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta, DI.Yogyakarta, Indonesia.

e-Mail : zuvifridhoriansyahwork@gmail.com
No Tlp WA: +62 821-7586-9535

Abstract

Leprosy is a chronic infectious disease caused by Mycobacterium leprae, primarily affecting the skin and peripheral nerves, particularly Schwann cells. It remains a major global health concern, with over 200,000 new cases reported annually, including 14,371 cases in Indonesia in 2023. This study aimed to analyze variations in the Bacteriological Index (BI) and Morphological Index (MI) based on sampling site locations in patients with lepromatous leprosy. A cross-sectional observational analytical design was conducted at the Clinical Laboratory of RSI Siti Aisyiyah Madiun from February to April 2025. Slit skin smear preparations from multiple body sites (right arm lesion, left arm lesion, ear lobes, forehead, and chin) were stained using the Ziehl–Neelsen method. BI and MI values were determined according to the Ridley scale and statistically analyzed using Repeated Measures ANOVA followed by Bonferroni post hoc test ($p < 0.05$). The results showed significant variation among sampling sites, with the highest BI observed in right arm lesions (4.0 ± 0.3; 515 ± 120 AFB/field) and the lowest in ear lobes and chin (1.0–2.0; 1.4–5.3 AFB/field). MI values ranged from 66–71.4%. In conclusion, sampling from active lesions significantly improves the sensitivity of M. leprae detection.
***Keywords**: lepromatous leprosy; Mycobacterium leprae; Schwann cells*

Abstrak

Kusta merupakan penyakit infeksi kronis yang disebabkan oleh *Mycobacterium leprae*, yang terutama menyerang kulit dan saraf tepi, khususnya sel Schwann. Penyakit ini masih menjadi masalah kesehatan global dengan lebih dari 200.000 kasus baru setiap tahun, termasuk 14.371 kasus di Indonesia pada tahun 2023. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis variasi Indeks Bakteriologis (BI) dan Indeks Morfologi (MI) berdasarkan lokasi pengambilan sampel pada pasien kusta tipe Lepromatosa. Penelitian dilakukan secara cross-sectional observasional analitik di Laboratorium Klinik RSI Siti Aisyiyah Madiun pada Februari–April 2025, menggunakan preparat slit skin smear dari beberapa lokasi tubuh (lesi lengan kanan, lengan kiri, cuping telinga, dahi, dan dagu) yang diwarnai dengan metode Ziehl–Neelsen. Nilai BI dan MI dihitung berdasarkan skala Ridley dan dianalisis menggunakan Repeated Measures ANOVA dengan uji lanjut Bonferroni ($p < 0,05$). Hasil menunjukkan adanya variasi signifikan antar lokasi pengambilan sampel, dengan BI tertinggi pada lesi lengan kanan (4.0 ± 0.3; 515 ± 120 AFB/field) dan terendah pada cuping telinga serta dagu (1.0–2.0; 1.4–5.3 AFB/field). Nilai MI berkisar antara 66–71.4%. Kesimpulannya, pengambilan sampel dari lesi aktif secara signifikan meningkatkan sensitivitas deteksi M. Leprae.
Kata Kunci : *Kusta lepromatosa; Mycobacterium leprae; Sel Schwann*

PENDAHULUAN

Kusta merupakan penyakit infeksi kronis yang disebabkan oleh *Mycobacterium leprae*, yang terutama menyerang kulit dan saraf tepi, khususnya sel Schwann. Penyakit ini pertama kali diidentifikasi oleh dokter asal Norwegia, Gerhard Armauer Hansen pada tahun 1873, melalui observasi mikroskopis sehingga dikenal pula sebagai Hansen's disease (Lu et al., 2025). Secara global, kusta masih menjadi masalah kesehatan masyarakat, dengan lebih dari 200.000 kasus baru setiap tahun. Tahun 2023 tercatat 182.815 kasus baru dengan angka deteksi 22,7 per satu juta penduduk, meningkat 5% dibanding tahun sebelumnya. Sebagian besar (95,7%) kasus berasal dari 23 negara prioritas, termasuk Indonesia, yang melaporkan 14.371 kasus baru pada tahun yang sama. Di Indonesia, prevalensi mencapai 0,55–0,71 per 10.000 penduduk, dengan kasus tertinggi berada di Jawa Timur, Jawa Barat, Jawa Tengah, dan Sulawesi Selatan (Sebong et al., 2025; World Health Organization (WHO), 2025). Penyakit ini memiliki dampak sosial ekonomi yang besar akibat stigma dan kecacatan permanen yang dapat menurunkan kualitas hidup penderita (Singh et al., 2025).

Infeksi ini dapat disebabkan oleh dua spesies utama, yakni *M. leprae* dan M. lepromatosis, yang keduanya bersifat parasit intraseluler obligat dan berkembang biak di dalam sel Schwann, makrofag, dan endotel. Mekanisme tersebut menyebabkan kerusakan saraf tepi yang berujung pada gangguan motorik maupun sensorik, hingga deformitas seperti claw hand dan foot drop (Ploemacher et al., 2020). Secara patofisiologis, *M. leprae* memiliki waktu generasi yang sangat lambat dan tidak dapat ditumbuhkan pada media buatan. Bakteri ini tumbuh optimal pada suhu 27–33°C, hal ini menyebabkan lesi sering muncul di area bersuhu rendah seperti telinga, hidung, tangan, dan kaki (Huang et al., 2024; Maymone et al., 2020). Penularannya terutama terjadi melalui droplet pernapasan dari penderita yang belum diobati, meskipun kontak kulit langsung dan transmisi vertikal masih dianggap mungkin

(Gilmore et al., 2023).

Menurut klasifikasi *Ridley-Jopling*, variasi respon imun inang terhadap infeksi menghasilkan spektrum klinis dari tipe tuberkuloid (TT) hingga lepromatous (LL) dengan berbagai bentuk peralihan (Alemu Belachew & Naafs, 2019). Pada tipe tuberkuloid, lesi biasanya sedikit, granuloma terbentuk jelas, dan jumlah bakteri rendah, sedangkan tipe lepromatous menunjukkan akumulasi bakteri masif dengan granuloma melaui pemeriksaan Basil Tahan Asam (BTA) melalui *Slit Skin Smear* (SSS) menjadi metode penting dalam menilai Indeks Bakteriologis (BI) dan Indeks Morfologi (MI) untuk menentukan tingkat infeksi dan aktivitas penyakit (Lockwood et al., 2022). Namun, hasil pemeriksaan ini sangat dipengaruhi oleh lokasi pengambilan sampel, karena distribusi *M. leprae* tidak merata pada kulit dan saraf penderita kusta tipe Lepromatosa.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini menggunakan pendekatan cross-sectional dengan metode observasional analitik. Penelitian dilakukan di Laboratorium Klinik Rumah Sakit Islam Siti Aisyah Madiun, selama periode Februari hingga April 2025. Data yang dianalisis berasal dari preparat BTA pasien kusta tipe lepromatosa yang telah diperiksa sebelumnya dan tersimpan di arsip laboratorium rumah sakit.

Spesimen berupa cairan bening hasil dari *slit skin smear* dari pasien kusta tipe lepromatosa yang diambil dari berbagai lokasi tubuh, meliputi lesi lengan kanan, lengan kiri, cuping telinga kanan, cuping telinga kiri, dahi, dan dagu. Bakteri diidentifikasi melalui preparat jaringan yang telah diwarnai menggunakan metode Ziehl–Neelsen staining untuk mendeteksi basil tahan asam (BTA). Reagen utama meliputi carbol fuchsin, asam alkohol 1%, dan metilen biru sebagai pewarna kontras.

Setiap preparat dibaca ulang dengan mikroskop cahaya pembesaran 1000× menggunakan minyak imersi. Pemeriksaan dilakukan untuk menentukan Indeks Bakteriologis (BI) berdasarkan skala Ridley–Jopling dan Indeks Morfologi

(MI) untuk menilai viabilitas *M. leprae* (proporsi bakteri solid, granular, dan fragmented). Nilai BI dan MI dihitung dari rata-rata 25 lapang pandang untuk setiap lokasi pengambilan sampel.

Data dianalisis secara statistik menggunakan Repeated Measures ANOVA untuk menguji pengaruh lokasi pengambilan sampel terhadap BI dan MI, dengan uji lanjut Bonferroni untuk perbandingan antar-lokasi (pairwise comparison). Nilai signifikansi ditetapkan pada $p < 0.05$. Analisis statistik dilakukan menggunakan SPSS versi 26.0.

HASIL

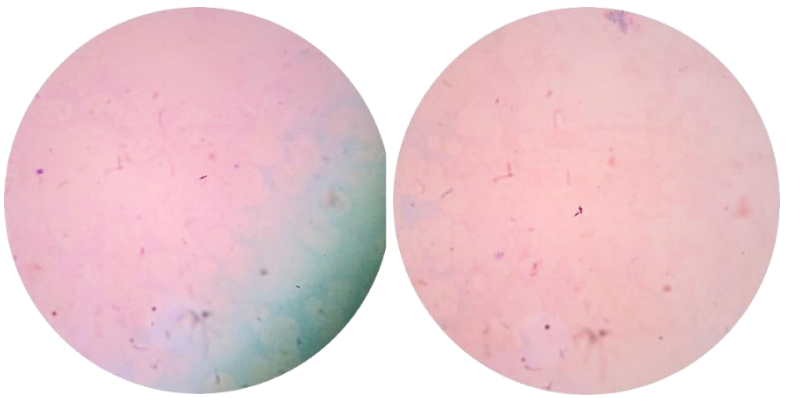
Hasil penelitian ini menunjukkan adanya variasi nilai Indeks Bakteriologis *(BI) dan* Indeks Morfologis *(MI) Mycobacterium leprae* pada pasien kusta tipe lepromatosa berdasarkan perbedaan lokasi pengambilan sampel sel *Schwann*. Pemeriksaan dilakukan terhadap 100 lapang pandang menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 1000x dan pewarnaan *Ziehl-Neelsen*. Nilai rata-rata BI dan MI dihitung untuk setiap lokasi pengambilan sampel, baik pada area lesi maupun non-lesi, guna menilai distribusi dan morfologi basil tahan asam. Hasil pengukuran serta distribusi morfologi *Mycobacterium leprae* disajikan pada Tabel 1 berikut.

Tabel 1. Nilai BI dan distribusi morfologi *Mycobacterium leprae* pada berbagai lokasi pengambilan sampel

Lokasi Sample	BI Ridley (Mean ±SD)	Jumlah Bakteri Total (*Mean ± SD*)	MI (*Mean% ± SD*)	Jumlah Solid (*Mean ± SD*)	Jumlah Granular (*Mean ± SD*)	Jumlah Fragmented (*Mean ± SD*)
Lesi Lengan Kanan	4.0 ± 0.3	515 ± 120	69,9 ± 1.2	360 ± 80	90 ± 20	65 ± 20
Lesi Lengan Kiri	3.0 ± 0.08	53 ± 12	66 ± 1.3	35 ± 8	9 ± 2	8 ± 2
Cuping Telinga Kanan	2.0 ± 0.05	5.2 ± 1.2	71.4 ± 1.1	3.5 ± 0.8	0.9 ± 0.2	0.5 ± 0.2

Lokasi Sample	BI Ridley (Mean ±SD)	Jumlah Bakteri Total (*Mean ± SD*)	MI (*Mean% ± SD*)	Jumlah Solid (*Mean ± SD*)	Jumlah Granular (*Mean ± SD*)	Jumlah Fragmented (*Mean ± SD*)
Cuping Telinga Kiri	2.0 ± 0.02	5.0 ± 1.1	66 ± 1.0	3.3 ± 0.7	0.8 ± 0.2	0.9 ± 0.2
Dahi	2.0 ± 0.61	5.3 ± 1.3	67.3 ± 1.2	3.5 ± 0.8	0.9 ± 0.2	0.8 ± 0.2
Dagu	1.0 ± 0.02	1.4 ± 0.2	66 ± 1.4	3.3 ± 0.15	0.8 ± 0.04	0.9 ± 0.04

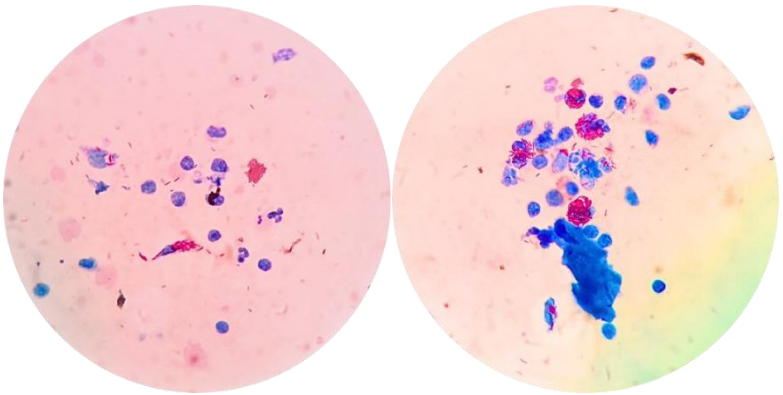
Hasil menunjukkan bahwa lokasi pengambilan sampel memengaruhi secara signifikan nilai BI dan MI. Lokasi lesi perifer (lengan kanan dan kiri) menunjukkan nilai BI tertinggi dibandingkan lokasi non-lesi seperti cuping telinga, dahi, dan dagu. Nilai BI tertinggi terdapat pada lesi lengan kanan (4.0 ± 0.3), diikuti lesi lengan kiri (3.0 ± 0.08), sedangkan nilai terendah terdapat pada dagu (1.0 ± 0.02). Pola ini mengindikasikan distribusi *Mycobacterium leprae* yang lebih padat pada area lesi aktif Sel *Schwann*.



Gambar 1 dan 2. Gambaran Mikroskopis dari BTA Kusta dari sample *Slit Skin Smear* pada Cuping Telinga kanan (Kanan) dan Cuping Telinga Kiri (Kiri)

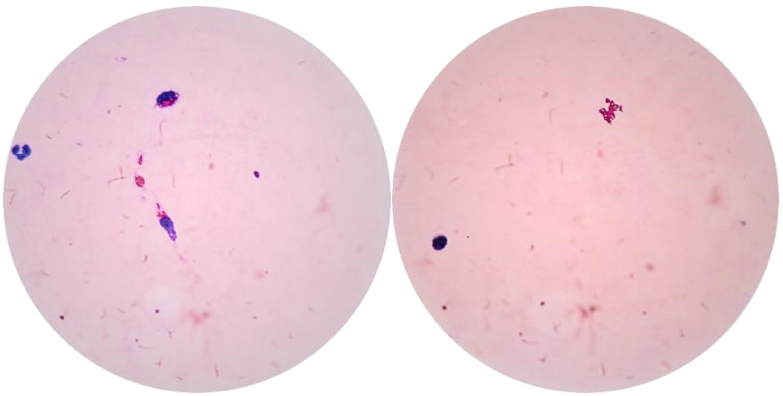
Analisis statistik dengan Repeated Measures ANOVA menunjukkan pengaruh signifikan lokasi pengambilan sampel terhadap BI ($F = 456.2$, $p < 0.001$; $\eta^2 = 0.65$). Uji post-hoc Bonferroni memperlihatkan perbedaan bermakna antara lokasi lesi dan non-lesi ($p < 0.001$). Nilai MI menunjukkan viabilitas sedang (66–71.4%), dengan rerata keseluruhan 68.3 ± 1.2%.

Proporsi *solid bacilli* tertinggi ditemukan pada lesi lengan kanan (360 ± 80), yang menandakan aktivitas infeksi yang masih berlangsung. Sebaliknya, pada area non-lesi, jumlah bakteri relatif rendah namun proporsi bakteri solid tetap dominan (~66–70%), menunjukkan adanya bentuk persisten subklinis.



Gambar 3 dan 4. Gambaran Mikroskopis dari BTA Kusta dari sample *Slit Skin Smear* pada Lesi Lengan kanan (Kanan) dan Lesi Lengan Kiri (Kiri)

Distribusi nilai Indeks Bakteriologis (BI) pada beberapa lokasi pengambilan sampel, yang memperlihatkan variasi tingkat kepadatan *Mycobacterium leprae* di area lesi dan non-lesi. Pola tersebut mengindikasikan bahwa penyebaran basil tidak merata pada jaringan saraf dan kulit, dengan kecenderungan nilai BI lebih tinggi pada area lesi aktif.



Gambar 5 dan 6. Gambaran Mikroskopis dari BTA Kusta dari sample *Slit Skin Smear* pada Dahi (Kanan) dan Dagu (Kiri)

DISKUSI

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya variasi signifikan nilai Indeks Bakteriologis (BI) dan Indeks Morfologi (MI) antar lokasi pengambilan sampel sel Schwann pada pasien kusta tipe Lepromatosa. Lesi pada lengan kanan memperlihatkan nilai BI tertinggi (4.0 ± 0.3) dengan jumlah bakteri total 515 ± 120 AFB/field, diikuti oleh lesi lengan kiri (BI 3.0 ± 0.08; 53 ± 12 AFB/field). Sebaliknya, lokasi non-lesi seperti cuping telinga, dahi, dan dagu menunjukkan BI lebih rendah (1.0–2.0) dengan beban bakteri minimal (1.4–5.3 AFB/field). Pola gradien ini menunjukkan bahwa pengambilan sampel dari lesi aktif secara signifikan meningkatkan probabilitas deteksi *M. leprae* dibandingkan pengambilan hanya dari cuping telinga, dagu dan dahi. Pengambilan sampel minimal invasif dari area lesi aktif dikombinasikan dengan area telinga memberikan sensitivitas deteksi optimal pada pasien paucibacillary (PB) maupun borderline (Braet et al., 2021).

Variasi distribusi bakteri terutama disebabkan oleh infiltrasi *M. leprae* ke sel Schwann di area lesi perifer. Respons imun lokal yang tidak seragam memungkinkan akumulasi bakteri lebih tinggi pada lokasi tersebut. Sebaliknya, di area kulit “dingin” seperti cuping telinga dan dahi, aktivitas fagositosis imun seluler menyebabkan penurunan beban bakteri. Distribusi *M. leprae* pada ekstremitas pasien tuberkuloid 5–10 kali lebih tinggi dibandingkan wajah, terkait tropisme bakteri terhadap jaringan saraf perifer (Figueiredo et al., 2022). Selain itu, faktor vaskularisasi rendah pada lengan turut berperan dalam persistensi bakteri dengan nilai BI 3.5–4.5 pada lesi aktif (Lee et al., 2021). Polimorfisme genetik, khususnya pada gen IL-10, dapat memengaruhi variasi BI antarlesi, dengan nilai tertinggi ditemukan pada ekstremitas pasien dengan predisposisi genetik tertentu (Alvarado-Arnez et al., 2015).

Pola distribusi ini mendukung teori klasik Ridley–Jopling (1967), yang mengklasifikasikan tipe lepromatosa sebagai bentuk dengan BI rendah dan lesi terlokalisasi akibat dominasi respons imun Th1 yang dimediasi IFN-γ. Hal ini membatasi proliferasi bakteri di luar area sel Schwann yang terinfeksi. Selain

itu, afinitas bakteri terhadap reseptor laminin-2 pada sel Schwann, yang memfasilitasi invasi di jaringan saraf kulit dan menghasilkan gradien distribusi tinggi pada ekstremitas (seperti lengan) serta rendah pada area wajah inferior (dagu) karena aktivitas imun lokal yang lebih kuat (Andrade et al., 2025).

Oleh karena itu, pendekatan *multiple-site sampling* dengan prioritas pada lesi aktif direkomendasikan untuk meningkatkan akurasi klasifikasi kusta serta efektivitas pemantauan terapi. Selain pemeriksaan mikroskopis BI dan MI, penggunaan metode molekuler seperti *quantitative PCR* dan uji viabilitas menjadi penting untuk memvalidasi kasus dengan BI rendah atau hasil smear ambigu. MI (66–71.4%) tetap menjadi indikator berguna bagi penilaian respons terapi dan viabilitas bakteri, terutama bila dikombinasikan dengan pemetaan spasial berbasis GIS yang menunjukkan sensitivitas lebih dari 85% dalam mendeteksi lesi perifer aktif (Bertão-Santos et al., 2024; Oliveira et al., 2025).

Keterbatasan penelitian ini meliputi sifat retrospektif preparat, kemungkinan variasi antar-pembaca mikroskop, dan ukuran sampel yang terbatas. Oleh karena itu, diperlukan penelitian prospektif untuk menggeneralisasi rekomendasi pengambilan sampel secara luas. Hasil ini memberikan kontribusi penting terhadap pengembangan strategi diagnostik yang lebih presisi, khususnya pada wilayah endemik, untuk mengurangi risiko misdiagnosis pada tipe kusta

KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan adanya variasi signifikan nilai Indeks Bakteriologis (BI) dan Indeks Morfologi (MI) antar lokasi pengambilan sampel sel Schwann pada pasien kusta tipe Lepromatosa. Lesi pada lengan kanan memiliki nilai BI tertinggi yaitu 4.0 ± 0.3 dengan jumlah bakteri 515 ± 120 AFB/field, diikuti lesi lengan kiri dengan BI 3.0 ± 0.08 dan 53 ± 12 AFB/field. Sebaliknya, lokasi non-lesi seperti cuping telinga, dahi, dan dagu menunjukkan BI rendah (1.0–2.0) dengan beban bakteri minimal (1.4–5.3 AFB/field). Nilai MI berkisar antara 66–71.4%, mencerminkan tingkat viabilitas bakteri yang masih tinggi pada area lesi aktif.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Universitas ‘Aisyiyah Yogyakarta atas dukungan akademik dan fasilitas yang diberikan selama proses penelitian ini. Ucapan terima kasih juga penulis tujukan kepada Kepala Ruangan dan seluruh staf Laboratorium Klinik RSI Siti Aisyiyah Madiun atas bantuan, kerja sama, dan dukungan dalam pelaksanaan penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

REFRENSI

Alemu Belachew, W., & Naafs, B. (2019). Position statement: LEPROSY: Diagnosis, treatment and follow-up. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV*, *33*(7), 1205–1213. https://doi.org/10.1111/jdv.15569

Alvarado-Arnez, L. E., Amaral, E. P., Sales-Marques, C., M. B. Durães, S., C. Cardoso, C., Nunes Sarno, E., G. Pacheco, A., C. F. Lana, F., & Ozório Moraes, M. (2015). Association of IL10 Polymorphisms and Leprosy: A Meta-Analysis. *PLOS ONE*, *10*(9), 1–13. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0136282

Andrade, P. R., Pellegrini, M., Modlin, R. L., Andrade, P. R., Ma, F., Lu, J., Anda, J. De, Lee, E. Y., Agak, G. W., Dobry, C. J., Silva, B. J. D. A., Teles, R. M. B., Mansky, L. A., Perrie, J., Montoya, D. J., Bryson, B. D., Gudjonsson, J. E., Wong, G. C. L., Sarno, E. N., … Modlin, R. L. (2025). *leprosy skin lesions Dynamics of Th1 / Th17 responses and antimicrobial pathways in leprosy skin lesions*. *135*(17).

Bertão-Santos, A., Dias, L. da S., Ribeiro-Alves, M., Pinheiro, R. O., Moraes, M. O., Manta, F. S. de N., & Costa, A. D. T. (2024). Validation of the performance of a point of care molecular test for leprosy: From a simplified DNA extraction protocol to a portable qPCR. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, *18*(10), 1–19. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0012032

Braet, S. M., van Hooij, A., Hasker, E., Fransen, E., Wirdane, A., Baco, A., Grillone, S., Ortuno-Gutierrez, N., Assoumani, Y., Mzembaba, A.,

Corstjens, P., Rigouts, L., Geluk, A., & de Jong, B. C. (2021). Minimally invasive sampling to identify leprosy patients with a high bacterial burden in the Union of the Comoros. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, *15*(11), e0009924. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009924

Figueiredo, V. De, Gandini, M., Cristina, M., & Pessolani, V. (2022). *Modulation of the Response to Mycobacterium leprae and Pathogenesis of Leprosy*. *13*(June). https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.918009

Gilmore, A., Roller, J., & Dyer, J. A. (2023). Leprosy (Hansen's disease): An Update and Review. *Missouri Medicine*, *120*(1), 39–44.

Huang, C.-Y., Su, S.-B., & Chen, K.-T. (2024). An update of the diagnosis, treatment, and prevention of leprosy: A narrative review. *Medicine*, *103*(34), e39006. https://doi.org/10.1097/MD.0000000000039006

Lee, S., Ahn, D., Kim, J., Park, C., Kim, K., Kim, A., Kim, C. E., Shin, J., Cho, T., Jo, J., Park, D., Kim, T. Y., & Chung, P. S. (2021). *Human Rights and Social Stigma Review for Leprosy Patients in Korea*. 73–83. https://doi.org/10.4236/aid.2021.111009

Lockwood, D. N., McIntosh, A., Armstrong, M., Checkley, A. M., Walker, S. L., & McBride, A. (2022). Diagnosing and treating leprosy in a non-endemic setting in a national centre, London, United Kingdom 1995–2018. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, *16*(10), 1–13. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0010799

Lu, L., Wang, L., Wei, K., Wei, X.-W., & Hua, Y.-J. (2025). Case Report: A case of borderline lepromatous leprosy and literature review-key clues to expand clinical diagnostic thinking. *Frontiers in Medicine*, *12*, 1636112. https://doi.org/10.3389/fmed.2025.1636112

Maymone, M. B. C., Laughter, M., Venkatesh, S., Dacso, M. M., Rao, P. N., Stryjewska, B. M., Hugh, J., Dellavalle, R. P., & Dunnick, C. A. (2020). Leprosy: Clinical aspects and diagnostic techniques. *Journal of the American Academy of Dermatology*, *83*(1), 1–14. https://doi.org/10.1016/j.jaad.2019.12.080

Oliveira, B., Cândida, A., Silveira, D., Júnior, T., Miranda, S. S., Antônio, M., Xavier, P., & Cury, G. C. (2025). *Accuracy of the qPCR method in intradermal scraping samples from individuals with suspected leprosy in a Brazilian macroregion*. 1–10.

Ploemacher, T., Faber, W. R., Menke, H., Rutten, V., & Pieters, T. (2020). Reservoirs and transmission routes of leprosy; A systematic review. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, *14*(4), 1–27. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008276

Sebong, P. H., Ferdiana, A., Tegu, F. A. R., Harbianto, D., Soviandhi, R., Sinaga, A., Budiawan, T., Risnanto, A. J. A. Y., Sidjabat, R. T., Yudopuspito, T., Mawardi, R., Setyawati, E., & Utarini, A. (2025). Participatory development of Indonesia's national action plan for zero leprosy: strategies and interventions. *Frontiers in Public Health, Volume 13-2025*. https://doi.org/10.3389/fpubh.2025.1453470

Singh, S., Narang, T., & Dogra, S. (2025). Beating leprosy: Unmasking challenges, ending stigma, & prioritizing mental well-being. In *The Indian journal of medical research* (Vol. 161, Issue 1, pp. 1–4). https://doi.org/10.25259/IJMR_2212_2024

World Health Organization (WHO). (2025). *Leprosy (Hansen disease)*. World Health Organization. https://www.who.int/data/gho/data/themes/topics/le

PERBANDINGAN NILAI PROTHROMBIN TIME SAMPEL LIPEMIK METODE MEKANIK DAN OPTIK SESUDAH SENTRIFUGASI KECEPATAN TINGGI

Dinda Ihwanti · Valinka Turnip · Dewi Astuti · Adrian Gunawan

[1]Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Jakarta III
[2]RS. Jantung dan Pembuluh Darah Harapan Kita

e-Mail: Valinkaturnip0405@gmail.com
No Tlp WA : 0895619902173

Abstract

Prothrombin Time (PT) is a coagulation test that is often performed to test blood clotting through extrinsic and co-pathways. PT examination can be performed by optical and mechanical methods. Optical methods are affected by lipemic or turbid samples. High speed centrifugation is one way that can be used for handling lipemic samples. This study aims to determine whether there is a significant difference between the mean prothrombin time values of lipemic plasma in optical and mechanical methods after high-speed centrifugation. This study used a comparative analytical design, comparing the prothrombin time value of lipemic plasma of optical and mechanical methods after high-speed centrifugation in 10 lipemic samples. The results of the study were tested for data normality, obtained abnormal data distribution and continued the comparison test of the mean values using the Mann-Whitney test. Analysis of significance using the Mann-Whitney test obtained a p value of 0.151 (p>0.05) indicating that there is no significant difference between the mean prothrombin time values of lipemic samples of optical and mechanical methods after high-speed centrifugation at Harapan Kita Heart and Vascular Hospital. The conclusion of this study is that there is no significant difference between the mean prothrombin time values of lipemic samples of optical and mechanical methods after high-speed centrifugation at the Heart and Vascular Hospital of Harapan Kita.

***Keyword**: Prothrombin Time, Lipemic Plasma, Optical vs Mechanical Methods, High-Speed Centrifugation*

Abstrak

Prothrombin Time (PT) merupakan pemeriksaan koagulasi yang sering dilakukan untuk menguji pembekuan darah melalui jalur ekstrinsik dan jalur bersama. Pemeriksaan PT dapat dilakukan dengan metode optik dan mekanik. Metode optik dipengaruhi oleh sampel lipemik atau keruh. Sentrifugasi kecepatan tinggi salah satu cara yang dapat digunakan untuk penanganan sampel lipemik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang bermakna antara rerata nilai *prothrombin time* plasma lipemik metode mekanik dan optik sesudah sentrifugasi kecepatan tinggi. Penelitian ini menggunakan desain analitik komparatif yaitu membandingkan nilai *prothrombin time* plasma lipemik metode mekanik dan optik setelah sentrifugasi kecepatan tinggi pada 10 sampel lipemik. Hasil penelitian dilakukan uji normalitas data, didapatkan distribusi data tidak normal dan dilanjutkan uji perbandingan rerata nilai menggunakan uji *Mann Whitney*. Analisis kemaknaan menggunakan uji *Mann -Whitney* didapat nilai p yaitu 0,151 (p>0,05) menunjukan tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara rerata nilai prothrombin time sampel lipemik metode mekanik dan optik sesudah sentrifugasi kecepatan tinggi. Simpulan penelitian ini adalah tidak terdapat perbedaan bermakna antara rerata nilai *prothrombin time* sampel lipemik metode mekanik dan optik sesudah sentrifugasi kecepatan tinggi

Kata kunci: Waktu Protrombin, Plasma Lipemik, Metode Optik dan Mekanik, Sentrifugasi Kecepatan Tinggi

PENDAHULUAN

Sampel plasma lipemik menghadirkan tantangan bagi laboratorium klinis yang menggunakan alat koagulasi dengan metode optik karena penyebaran dan penyerapan cahaya dapat meningkat sehingga mengurangi transmisi cahaya. Hal ini dapat mengakibatkan tanda kesalahan instrumen, perlunya pengamatan visual terhadap kurva koagulasi atau, jika terdapat lipemia berat, instrumen tidak dapat mengeluarkan hasil koagulasi (Gardiner et al., 2020).

Dalam hal ini, ada beberapa alternatif yang salah satunya adalah pengujian ulang dengan alat hemostasis mekanik. Namun hal ini tentu akan menyebabkan keterlambatan dalam memperoleh hasil, sehingga dapat menunda waktu tunggu hasil, dan menunda diagnosis atau pengobatan. Alternatif lainnya untuk menangani sampel lipemik, yaitu : ultrasentrifugasi, pengenceran sampel, dan flokulasi lipoprotein (Handriani et al., 2022).

Ultrasentrifugasi sampel (100.000–2.000.000× g) dapat memisahkan lipid secara efektif dan memfasilitasi penentuan analit. Ultrasentrifugasi memerlukan penggunaan peralatan yang tidak tersedia di sebagian besar laboratorium. Sentrifugasi kecepatan tinggi adalah salah satu metode pilihan untuk menghilangkan lipemia sebagai alternatif pengganti ultrasentrifugasi. Lipoprotein besar (kilomikron) dapat dipisahkan dalam serum/plasma dengan sentrifugasi kecepatan tinggi (10.000–15.000× g)(Fernández Prendes et al., 2023).

Penelitian Aggarwal et al., (2014) menginformasikan terdapat perbedaan dalam pengukuran PT dan APTT menggunakan metode optik dan mekanik dengan menggunakan sampel keruh(7). Penelitian Castro-Castro et al., (2018) menginformasikan sentrifugasi kecepatan tinggi dengan kecepatan 10.000 x g selama 15 menit efektif untuk menjernihkan serum atau plasma lipemik yang dapat mengganggu hasil pemeriksaan laboratorium sebagai pengganti ultrasentrifugasi(Fernández Prendes et al., 2023).

Penelitian Gardiner et al., (2020) menginformasikan sentrifugasi kecepatan tinggi dengan kecepatan 10.000 g selama 10 menit efektif untuk mengurangi lipemia sehingga memungkinkan pengujian pada penganalisis koagulasi optik tanpa menimbulkan perbedaan nilai aktivitas PT, APTT,

fibrinogen, D-dimer, atau vWF yang signifikan secara klinis(Gardiner et al., 2020).

Dikarenakan harganya yang mahal, tidak semua laboratorium memiliki alat sentrifugasi kecepatan tinggi untuk penanganan pemeriksaan serum lipemik. Berdasarkan latar belakang di atas, maka penulis ingin menganalisis perbedaan nilai prothrombin time plasma lipemik metode mekanik dan optik sesudah sentrifugasi kecepatan tinggi, yang nantinya dapat bermanfaat untuk mempersingkat *Turn Around Time* (TAT) pemeriksaan plasma lipemik di laboratorium dan memberikan hasil yang tepat terhadap pemeriksaan prothrombin time dengan sampel lipemik.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini menggunakan spesimen darah vena yang diambil dengan tabung biru berisi antikoagulan Na sitrat. Reagen yang disiapkan adalah *sampel cleaner* 1 dan 2 untuk membersihkan sistem alur cairan yaitu *prube* dan *cuvette* dari sisa reagen atau plasma sebelumnya dan reagen PT yaitu Dade innovin untuk memicu proses koagulasi pada plasma. Populasi dan sampel yang dipilih adalah sampel plasma sitrat lipemik pasien rawat jalan yang melakukan pemeriksaan prothrombin time di Rumah Sakit Jantung dan Pembuluh Darah Harapan Kita pada bulan April-Juli 2024. Sampel dipilih secara *non-probability sampling* dengan pengambilan sampel yang memenuhi syarat keterwakilan atas populasinya.

Jumlah sampel untuk pemeriksaan ditentukan dengan menghitung selisih rerata dan simpangan baku yang diambil dari kepustakaan penelitian sebelumnya (15). Berdasarkan perhitungan melalui standar deviat baku a=1,96 dan B= 1,282, didapatkan jumlah sampel minimal yang diperlukan sebanyak 8. Lalu untuk mencegah kehilangan sampel, ditambahkan lagi 20% sehingga total akhir yang diperlukan untuk penelitian ini adalah minimal 10 sampel.

Kriteria inklusi pada penelitian ini meliputi sampel plasma yang menunjukkan lipemia , sedangkan untuk kriteria eksklusi nya adalah sampel plasma hemolisis atau ikterik

1. Tahapan dan prosedur penelitian

Penelitian ini menggunakan data hasil pemeriksaan laboratorium yang sudah memperoleh izin etik untuk melindungi subyek penelitian dan memberikan jaminan bahwa penelitian telah memperhatikan aspek etika, hukum, sosial dan nonklinis. Penelitian ini adalah penelitian analitik komparatif yaitu membandingkan nilai Prothrombin Time pada sampel lipemik dengan metode optik dan mekanik. Sepuluhsampel disentrifugasi dalam satu waktu bersamaan dan dilakukan pengamatan serta penanganan pada sampel yang menunjukkan lipemik.

Sampel yang berasal dari spesimen darah vena di tabung biru dengan antikoagulan disentrifus menggunakan Rotofix 32 A di kecepatan 3600 x g selama 10 menit. Kemudian dilakukan pengamatan pada plasma untuk melihat lipemik dan disentrifugasi lagi dengan eppendorf 5430R dengan kecepatan 10000 x g selama 15 menit menggunakan microtube eppendorf. Setelah itu, lapisan plasma yang jernih di bagian bawah dipipet dan siap untuk dilakukan pemeriksaan nilai prothrombin time metode optik.

Pemeriksaan metode optik dilakukan setelah *daily maintenance*, persiapan reagen, kalibrator, kontrol reagen dan kalibrasi telah memenuhi standar.

2. Metode pengukuran

Pengukuran dilakukan terhadap waktu prothrombin Time dalam satuan detik menggunakan metode optik dan mekanik. Hasil pengukuran data dianalisis dan dibandingkan secara statistik untuk menentukan apakah ada perbedaan klinis yang bermakna. Pemeriksaan Prothrombin Time menggunakan nilai rujukan normal selama 9,9 – 11,8 detik.

3. Metode Pemeriksaan

Prinsip PT pada pemeriksaan ini adalah mengukur waktu ketika fibrinogen berubah menjadi fibrin setelah ditambahkan faktor jaringan yaitu tromboplastin (ekstrak otak) dan ion kalsium pada plasma sitrat.

Pada pemeriksaan metode optik dilakukan sentrifugasi kedua dengan kecepatan tinggi lalu diperiksa di alat *coagulation analyzer*. Prinsip deteksi optik pada campuran plasma dan reagen dipaparkan dengan cahaya dan panjang

gelombang 660 nm. Kekeruhan darah selama proses koagulasi dideteksi sebagai perubahan intensitas cahaya yang terhambur dan digambarkan dengan kurva koagulasi hingga waktu koagulasi dapat ditemukan. lalu cahaya yang terhambur ditangkap oleh photodioda dan mengkonversi cahaya tersebut menjadi sinyal elektrik. Sinyal disimpan dan dihitung menggunakan komputer mikro sebagai waktu koagulasi.

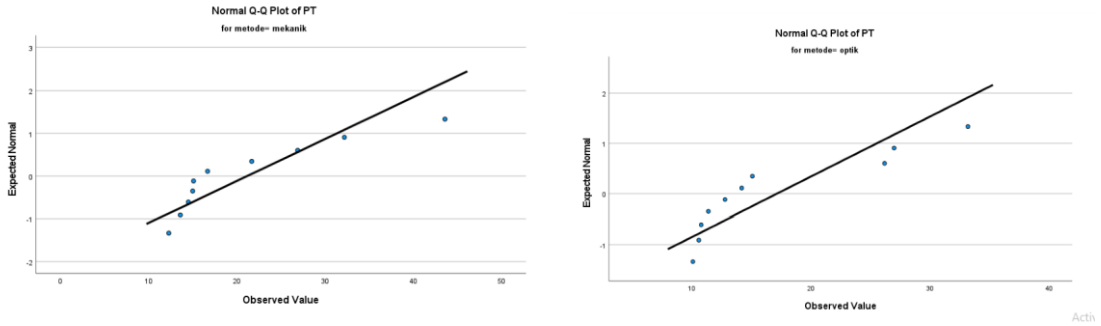
Kelebihan metode ini dapat digunakan berulang kali karena tidak ada kontak langsung sampel dengan sumber dan sensor cahaya namun kekurangannya adalah gangguan dari sampel yang hemolisis, lipemik dan ikterik dapat mengganggu deteksi optik untuk mendeteksi perubahan kecil dari cahaya saat pembekuan darah berlangsung dan dapat menyebabkan kesalahan pada interpretasi hasil.

Pada pemeriksaan mekanik, bekuan mekanis melibatkan pemantauan pergerakan bola baja di dalam larutan uji yang menggunakan sensor magnetik. Saat pembekuan terjadi, untaian fibrin yang terbentuk mengubah pergerakan bola dan terdeteksi oleh sensor. Lalu, waktu yang dibutuhkan untuk titik akhir koagulasi dihitung dalam hitungan detik. Kelebihan metode ini adalah tidak terpengaruhi oleh turbiditas sampel karena sistemnya menggunakan perubahan fisik atau konduktivitas sehingga bisa digunakan sebagai pembanding terhadap hasil pemeriksaan prothrombin time dengan metode optik.

4. Metode Analisis data

Data hasil pemeriksaan prothrombin time (PT) pada 10 sampel dengan metode optik dan 10 sampel dengan metode mekanik dianalisis secara statistik untuk mengetahui apakah ada perbedaan bermakna klinis antara kedua metode tersebut. Analisis data dilakukan melalui dua tahap yaitu, pengujian normalitas data dan uji perbedaan rata-rata. Jika distribusi data normal maka digunakan uji T Independen, sedangkan jika distribusi data tidak normal maka digunakan uji Mann Whitney. nilai $p<0.05$ dianggap bermakna secara statistik.

HASIL



Gambar 1 Distribusi frekuensi nilai prothrombin time metode optik dan mekanik

Tabel 1 Deskripsi Statistik Nilai Prothrombin Time Metode Optik dan Mekanik

	N	*Minimum*	*Maximum*	*Mean*
Metode Optik	10	10.1	33.2	17.14
Metode Mekanik	10	12.3	43.6	21.16

Dapat dilihat pada tabel 1 di deskripsi statistik menghasilkan Nilai Prothrombin Time metode optik nilai minimal didapat 10,1 detik, nilai maksimal didapat 33,2 detik, dengan rata-rata 17,14 detik. Pada metode mekanik didapat nilai minimal 12,3 detik, nilai maksimal didapat 43,6 detik, dengan rata-rata 21,16 detik.

Tabel 2 Tes normalitas data statistik Nilai Prothrombin Time metode optik dan mekanik

	Metode Pemeriksaan	***Shapiro-Wilk***		
		Statistic	*df*	*Sig.*
Nilai *Prothrombin Time*	Optik	.794	10	.012
	Mekanik	.817	10	.024

Hasil penelitian dilakukan uji normalitas data, didapatkan nilai signifikansi rerata Nilai Prothrombin Time metode optik sebesar p = 0,012 (p<0,05) dan nilai signifikansi rerata Nilai pada metode mekanik sebesar p = 0,024 (p<0,05). Data tersebut menunjukkan nilai p < 0.05 sehingga disimpulkan data pada rerata Nilai Prothrombin Time metode optik dan mekanik tidak terdistribusi normal. Uji hipotesis yang digunakan pada penelitian ini adalah uji non parametrik (uji Mann-Whitney).

Tabel 3 Analisis statistik Mann-Whitney, perbandingan Nilai Prothrombin Time metode optik dan mekanik

	Nilai *Prothrombin Time*
Mann-Whitney U	31.000
Wilcoxon W	86.000
Z	-1.437
Asymp. Sig. (2-tailed)	.151

Berdasarkan tabel hasil uji Mann-Whitney pada perbandingan rerata nilai prothrombin time metode optik dengan metode mekanik dengan α = 0.05 didapatkan p Value Asymp. Sig. (2-tailed) 0,151 yang berarti p > α (0.05), sehingga H0 diterima artinya tidak ada perbedaan rerata nilai prothrombin time plasma lipemik metode mekanik dan optik sesudah sentrifugasi kecepatan tinggi.

Maka berdasarkan pengolahan data secara statistik antara kedua metode tidak terdapat perbedaan bermakna, sehingga metode optik dapat digunakan pada sampel lipemik setelah diproses dengan sentrifugasi kecepatan tinggi.

DISKUSI

Berdasarkan tabel 1 pada metode optik didapatkan bahwa rerata nilai prothrombin time 17,14 detik, dengan nilai prothrombin time terendah 10,1 detik dan nilai prothrombin time tertinggi 33,2 detik. Pada metode mekanik rerata nilai prothrombin time 21,16 detik, dengan nilai prothrombin time terendah 12,3 detik dan nilai prothrombin time tertinggi 43,6 detik. Berdasarkan buku manual reagen (2021), rentang nilai normal nilai prothrombin time metode optik yaitu 9,11 – 11,8 detik (Healthineers Siemens, 2021). Berdasarkan buku manual reagen (2019) rentang nilai normal nilai prothrombin time metode mekanik adalah 11,7 – 15,1 detik (Stago Diagnostica S.A.S., 2019), sehingga disimpulkan rata-rata nilai prothrombin time pada penelitian ini, baik pada metode optik dan mekanik diatas nilai normal. Data penelitian didapatkan nilai prothrombin time dalam batas normal dan diatas normal. Pada penelitian ini didapatkan hasil pada metode optik lebih rendah dibandingkan dengan metode mekanik, hal ini dikarenakan perbedaan nilai normal dari kedua

metode, namun secara klinis tidak ada perbedaan hasil antara kedua metode tersebut(Healthineers Siemens, 2021; Stago Diagnostica S.A.S., 2019).

Berdasarkan tabel 2 didapatkan hasil uji normalitas dengan menggunakan uji Shapiro-Wilk didapatkan nilai sig atau p value rerata Nilai Prothrombin Time metode optik adalah 0,012 ($p<0,05$) dan Nilai Prothrombin Time metode mekanik 47 sebesar $p = 0,024$ ($p<0,05$) yang berarti data terdistribusi tidak normal. Uji normalitas ini menggunakan Shapiro-Wilk karena sampel yang digunakan <50 sampel. Berdasarkan hasil uji normalitas, didapatkan bahwa data terdistribusi tidak normal sehingga dilanjutkan dengan uji non parametrik (uji Mann-Whitney). Berdasarkan tabel 4.3 hasil uji Mann-Whitney dengan α 0,50 didapatkan nilai p value 0,151 ($p>0,05$) sehingga dapat diputuskan bahwa Ho diterima, artinya pada tingkat kepercayaan 95% menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna antara rerata nilai prothrombin time plasma lipemik metode mekanik dan optik sesudah sentrifugasi kecepatan tinggi. Hal ini tidak sejalan dengan hasil penelitian sebelumnya, yang dilakukan oleh Aggarwal et al., (2014) yang menyebutkan terdapat perbedaan dalam pengukuran PT dan APTT menggunakan metode optik dan mekanik pada alat analisis koagulasi dengan mengacu pada sampel lipemik(Aggarwal et al., 2014).Perbedaan hasil penelitian dapat disebabkan karena pada penelitian Aggarwal et al., (2014) tidak dilakukan sentrifugasi sampel sebelum pemeriksaan PT, sehingga sampel yang digunakan pada metode optik merupakan sampel lipemik yang keruh. Pada penelitian ini dilakukan sentrifugasi kecepatan tinggi terlebih dahulu pada sampel lipemik(Aggarwal et al., 2014).

Sampel lipemik disebabkan oleh akumulasi lipoprotein, terutama lipoprotein densitas sangat rendah (VLDL) dan kilomikron. Kilomikron merupakan partikel lipoprotein terbesar (70-1000 nm) dan menyebabkan kekeruhan paling besar pada sampel. Penelitian Castro-Castro et al., (2018), menginformasikan sentrifugasi kecepatan tinggi dapat digunakan sebagai pengganti ultrasentrifugasi. Sentrifugasi kecepatan tinggi dilakukan pada kecepatan 48 10000 x g selama 15 menit, efektif untuk menjernihkan serum atau plasma lipemik yang dapat mengganggu hasil pemeriksaan laboratorium. Setelah sentrifugasi kecepatan tinggi, kilomikron dan VLDL akan berada di

bagian atas tabung karena kepadatannya yang rendah, sedangkan komponen lainnya akan didistribusikan tergantung pada polaritasnya. Komponen hidrofobik terdistribusi dalam fase lipid (bagian atas tabung) sedangkan komponen hidrofilik terdistribusi dalam fase air (bagian bawah tabung), sehingga pada bagian infranatan akan dipisahkan untuk dilakukan pemeriksaan PT pada metode optik(Castro-Castro et al., 2018).

Metode optik pada alat otomatis dapat melakukan pendeteksian terhadap kekeruhan plasma yang berubah pada saat tahapan koagulasi menjadi intensitas cahaya yang berubah diperoleh dari fotodioda. Kelebihan metode optik adalah, apabila digunakan alat otomatisasi, maka prosedur pengerjaan lebih ringkas, sehingga hasil yang diperoleh lebih teliti, tepat dan cepat. Kekurangan dari metode optik adalah variasi hasil yang cukup besar dapat terjadi pada sampel hemolisis dan dapat mempercepat proses koagulasi dikarenakan pengaktifan faktor-faktor jaringan. Waktu koagulasi dapat memanjang apabila terjadi kesalahan pada reagensia, seperti waktu dan suhu penyimpanan serta prosedur penggunaannya. Sampel lipemik memperpanjang proses koagulasi dikarenakan adanya kekeruhan (Ramadhani,2021). Metode mekanik pada penelitian ini menggunakan alat STA R MAX 2 yang memiliki sistem pendeteksi bekuan mekanik, dengan cara pemantauan pergerakan bola baja didalam larutan uji menggunakan sensor magnetik. Kelebihan dari metode mekanik adalah tidak dipengaruhi oleh keadaan sampel ikterik dan lipemik(Ramadhani,2021). Hal ini dapat dijadikan sebagai saran untuk laboratorium klinik dalam pemilihan alat koagulasi. Pada penelitian didapat hasil rata-rata nilai prothrombin time pada plasma lipemik setelah sentrifugasi kecepatan tinggi dengan metode optik 17,14 detik dan pada metode mekanik 21,16 detik. Berdasarkan uji normalitas dan uji hipotesis yang telah dilakukan maka dapat diketahui bahwa tidak ada perbedaan rerata nilai prothrombin time sampel lipemik metode optik dan mekanik sesudah sentrifugasi kecepatan tinggi.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antara nilai prothrombin time metode optik dan mekanik pada sampel lipemik

setelah dilakukan sentrifugasi kecepatan tinggi. Pemeriksaan metode optik tetap menunjukkan reliabilitas yang baik apabila proses pra-analitik dilakukan dengan benar, sehingga metode ini dapat tetap digunakan pada laboratorium yang memiliki keterbatasan alat mekanik. Penelitian selanjutnya disarankan untuk membandingkan kedua metode pada jenis sampel abnormal lainnya, seperti sampel ikterik, untuk memperluas verifikasi hasil.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Civitas akademika Poltekkes Kemenkes Jakarta 3 yang telah mendukung penulis dalam melakukan penelitian ini, serta kepada pihak Rumah Sakit Jantung dan Pembuluh Darah Harapan Kita yang telah memberikan kesempatan kepada peneliti untuk melaksanakan penelitian di wilayah kerja Rumah Sakit Jantung dan Pembuluh Darah Harapan Kita.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan bahwa baik dalam proses penelitian dan penyusunan naskah ini tidak ada konflik kepentingan. Penelitian ini dilakukan secara independen tanpa intervensi faktor finansial maupun non-finansial

REFRENSI

Handriani, R., Nurfitriani, Y. , & Mahmud, D. (2022). Pengaruh Penambahan Alfa Siklodekstrin Terhadap Plasma Lipemik Pada Pemeriksaan Prothrombin Time (PT) Dengan Metoda Manual. (*Karya Tulis Ilmiah*). Sekolah Tinggi Analis Bakti Asih, Bandung.

Sari, M. (2020). Pengaruh Lama Penyimpanan Darah Sitrat terhadap Nilai Plasma Prothrombin Time. (*Karya Tulis Ilmiah*). Poltekkes Kemenkes Yogyakarta, Yogyakarta.

Yufani, H., Rofinda, Z. D. (2021). Interferensi Hematokrit Tinggi Terhadap Pemeriksaan Prothrombin Time dan Activated Partial Thromboplastin Time. (*Tesis*). Universitas Andalas, Padang.

Hendra Kartika, C., & Sukeksi, A. (2021). Pengaruh pemberian ekstrak etanol 96% daun kelor *(Moringa oleifera L.)* terhadap pemeriksaan prothrombin time *(*PT). (*Skripsi*). Universitas Muhammadiyah Semarang. Semarang.

Gardiner, C., Lane, P., Tailor, H., & Mackie I. J. (2020). A practical method for reducing the interference due to lipaemia in coagulation tests. *International Journal of Laboratory Hematology*, Vol 42(2)2, 140–144.

Fernández Prendes C., Castro Castro, M.J., Sánchez Navarro, L., Rapún Mas, L., Morales Indiano, C., & Arrobas Velilla, T. (2023). Handling of lipemic samples in the clinical laboratory. *Advances in Laboratory Medicine*, 4(1), 5–15.

Aggarwal, S., Nayak, D.M., & Manohar, C. (2014). Discrepancy in Optical & Mechanical Method in Coagulation Tests in a Turbid Sample. *Indian J Hematol Blood Transfus, 30,* 402–404.

Maharani, E.A., Kurniawan, B., Prakoso B. J.,& Astuti, D. 2022. Efek Koreksi Antikoagulan Natrium Sitrat Pada Pemeriksaan Pt, a-Ptt Dengan Nilai Hematokrit Lebih Dari 55%. (*Skripsi)* . Poltekkes Kemenkes Jakarta III. Jakarta.

Umar, I., & Sujud, R. W. (2020). Hemostasis and disseminated tinjauan pustaka. *Journal of Anaesthesia and Pain*, 1(2), 19–32.

Yulianti, I. (2018). Pengaruh penundaan plasma pada suhu kamar terhadap hasil pemeriksaan PT (*Prothrombin Time*). (*Tesis Diploma*). Universitas Muhammadiyah Surabaya, Surabaya.

Riswanto. (2013). *Pemeriksaan laboratorium hematologi*. Kanal Medika, Yogyakarta.

Mengko, R. (2013). Instrumentasi *laboratorium klinik*. Penerbit ITB, Bandung.

Utamy, M. (2021). Perbedaan kadar natrium serum lipemik. (*Skripsi*). Poltekkes Kemenkes Jakarta III, Jakarta.

Eppendorf SE. (2022). *Centrifuge 5430/5430 R original operating instructions.* Hamburg: Eppendorf SE.

Ramadhani, B. (2021). Differences value of PT and APTT in examination of electromechanical and photo-optical method. *Journal of Vocational Health Studie*s, 5(1), 17.

Healthineers Siemens. (2021). *Dade Innovin*. United States of America: Siemens.

Stago Diagnostica S.A.S. (2019). *NeoPTimal*. France: Diagnostica Stago S.A.S.

Castro-Castro, M. J., Candás-Estébanez, B., Esteban-Salán, M., Calmarza, P., Arrobas-Velilla, T., Romero-Román, C., et al. (2018). Removing lipemia in serum/plasma samples: A multicenter study. *Annals of Laboratory Medicine*, 38(6), 518–523.

TRANSFORMASI LAYANAN KESEHATAN HIV DAN INFEKSI MENULAR SEKSUAL LAINNYA MELALUI APLIKASI DIGITAL : STUDI KASUS APLIKASI Halo ODHA!

Asryadin[1]*

[1]Program Studi Diploma IV Teknogi Laboratorium Medik, STIKes Bina Cipta Husada Purwokerto, Jawa Tengah, Indonesia)
e-Mail : Asryadin@stikesbch.ac.id
No Tlp WA : 085338179323

Abstract

The discovery of HIV and STD cases in Indonesia is increasing. The use of digital platforms for health consultations allows individuals to consult and obtain health information personally. The goal is to increase access to disease services as early as possible, and support disease control programs. The study used the Research and Development method. Research procedures: (1) Secondary data collection; (2) Creation of the Halo ODHA! application, (3) application trials on users. Of the 50 respondents tested, 10 PLHIV respondents consulted, and 6 respondents requested laboratory tests, while 10 health worker respondents used the application for consultations on HIV and STD examination service management. Of the 30 high-risk group respondents, 7 MSM respondents consulted and 6 respondents requested laboratory tests, 3 FSW respondents consulted without requesting laboratory tests, 1 TB patient respondent consulted and requested laboratory tests, while 2 prospective bride and groom respondents also consulted and requested laboratory tests. Two pregnant women conduct a consultations, while 15 respondents using FSW provided consultations, and 12 also requested laboratory tests. The use of the Halo ODHA! app is one such platform that could be an alternative for developing a viable HIV control program and be adopted in national health services.
***Keywords** : HIV, Sexually Transmitted Infections, Halo ODHA! app*

Abstrak

Temuan kasus HIV dan PIMS di Indonesia meningkat setiap tahunnya. Pemanfaatan platform digital untuk konsultasi kesehatan memungkinkan seseorang untuk melakukan konsultasi dan memperoleh informasi kesehatan secara pribadi. Tujuannya adalah untuk meningkatkan akses pada pelayanan penyakit sedini mungkin, dan mendukung program pengendalian penyakit secara nasional maupun global. Penelitian menggunakan metode Research and Development. Prosedur penelitian : (1) Pengumpulan data sekunder; (2) Pembuatan aplikasi Halo ODHA!, (3) uji coba aplikasi pada pengguna. Pada 50 responden yang diujicobakan, 10 responden ODHIV melakukan konsultasi, dan 6 respondenmelakukan permintaan pemeriksaan laboratorium, sedangkan pada 10 responden tenaga kesehatan, menggunakan aplikasi untuk konsultasi tatalaksana pelayanan pemeriksaan HIV dan PIMS. Pada 30 responden kelompok beresiko tinggi , 7 responden LSL melakukan konsultasi dan 6 responden melakukan permintaan pemeriksaan laboratorium, 3 responden WPS melakukan konsultasi tanpa melakukan permintaan pemeriksaan laboratorium, 1 responden penderita Tb melakukan konsultasi dan permintaan pemeriksaan laboratorium, sementara 2 responden catin juga melakukan konsultasi dan permintaan pemeriksaan laboratorium. 2 orang bumil hanya menggunakan aplikasi untuk konsultasi sedangkan 15 responden pengguna PS melakukan konsultasi dan 12 responden juga melakukan permintaan pemeriksaan laboratorium. Penggunaan aplikasi Halo ODHA! Menjadi salah satu platform ini yang dapat menjadi alternatif pengembangan program pengendalian HIV yang layak dan diadopsi dalam pelayanan kesehatan nasional.
Kata Kunci :HIV, Infeksi Menular Seksual, Halo ODHA!

PENDAHULUAN

Human Immunodeficiency Virus (HIV) adalah virus dengan materi genetik RNA yang menyerang sistem kekebalan tubuh. HIV merupakan agen penyebab utama terjadinya *Acquired Immuno Deficiency Syndrome* (AIDS) setelah 5 hingga 10 tahun atau lebih terinfeksi HIV. HIV dapat dibedakan atas tipe 1 dan tipe 2. Material genetik HIV-1 berupa dua buah positif *single-strand* RNA pengkode 3 poliprotein utama yaitu Gag (antigen spesifik kelompok), Pol (polymerase) dan Env (envelope), dua protein pengatur Tat (transaktivator transkripsi) dan Rev (pengatur ekspresi virion) serta empat protein tambahan yaitu Vif (faktor infektivitas virion), Vpu (protein virus u), Vpr (protein virus r) dan Nef (faktor regulasi negatif). Gag berperan penting dalam replikasi HIV-1, terutama selama perakitan dan pelepasan partikel infektif (Marie and Gordon, 2022).

Kasus HIV-1 banyak ditemukan di seluruh dunia, sedangkan HIV-2 lebih umum ditemukan di daerah endemis Afrika Barat. HIV-1 memiliki 9 subtipe, yaitu subtipe A, B, C, D, F, G, H, J, K. Dalam kasus tertentu, 2 virus dengan subtype berbeda dapat ditemukan di sel tubuh orang yang terinfeksi dan kedua material genetik tersebut akan bercampur membentuk virus hibrida baru (Wibowo, Setiawaty and Salwati, 2011). Penegakan diagnosa yang tepat serta pemberian terapi pengobatan yang adekuat pada pasien terinfeksi sangat penting dilakukan (UNAIDS WHO, 2003; Kementerian Kesehatan, 2016).

HIV AIDS merupakan salah satu penyakit STIGMA dengan estimasi peningkatan kasus yang sangat tinggi di Indonesia. Selain itu, HIV AIDS merupakan penyakit dengan resiko diskriminasi dan kecenderungan bunuh diri bagi penderita yang terinfeksi dan merupakan salah satu parameter wajib yang harus dikendalikan karena termasuk dalam Standar Pelayanan Minimal (SPM) kesehatan. Program pengendalian HIV dan infeksi menular seksual harus diberikan kepada bagi masyarakat umum serta masyarakat yang telah terdiagnosa HIV/AIDS serta pada kelompok resiko tinggi yaitu : LSL, pekerja seks

(PS), pengguna PS, waria, pemakai narkoba suntik, ibu hamil, calon pengantin dan warga binaan pemasyarakatan (PUSDATIN HIV, 2025).

Temuan kasus HIV dan PIMS di Indonesia tergolong cukup tinggi dan meningkat setiap tahunnya. Pada akhir Tahun 2024, dari 6.986.402 orang yang dilakukan pemeriksaan HIV dan PIMS, sebanyak 63.707 terinfeksi, dimana mayoritas kejadian (62%) terjadi pada kelompok umur 25-49 tahun yang termasuk dalam usia produktif. Kelompok resiko tinggi dengan dominasi kejadian (terinfeksi HIV dan PIMS) terutama terjadi pada kelompok Lelaki Seks dengan lelaki (LSL) sebanyak 30,6% (PUSDATIN HIV, 2025).

Pemberian Komunikasi, Informasi dan Edukasi (KIE) melalui berbagai media sangat penting dalam program pengendalian penyakit infeksi menular seksual. Digitalisasi informasi dengan prinsip konfidensial, memungkinan pemberian informasi dan konsultasi pada penyakit dengan resiko diskriminasi dan rentan stigma. Aplikasi berbasis komputer yang digunakan untuk konsultasi, permintaan pemeriksaan penyakit infeksi, dll terutama bagi kelompok resiko tinggi yang masih malu untuk memeriksakan diri ke fasilitas pelayanan kesehatan. Layanan konsultasi berbasis digital juga sejalan dengan program Badan Kesehatan Dunia WHO maupun Kementerian Kesehatan mengenai program konseling dan deteksi dini.

Pemanfaatan platform digital untuk konsultasi kesehatan memungkinkan seseorang untuk melakukan konsultasi, memperoleh informasi kesehatan secara pribadi. Tujuannya adalah untuk meningkatkan akses pada pelayanan pengendalian infeksi HIV dan peyakit infeksi menular seksual lainnya, memudahkan orang untuk mengetahui status HIV mereka sedini mungkin, dan mendukung program pengendalian penyakit secara nasional maupun global (CDC WHO, 2025) Paddock, Catharine (2014)

Penelitian terkait identifikasi HIV dan infeksi menular seksual lainnya yang dilengkapi dengan aplikasi Halo ODHA! Belum pernah ada sebelumnya sehingga pemanfaatan platform komunikasi online seperti aplikasi Halo ODHA! Juga harus mengupayakan pelayanan maksimal, mudah dijangkau, merata dan dapat diakses oleh seluruh masyarakat dengan pelayanan yang cepat, memadai serta

bermutu sehingga dapat mengimplementasikan program pemerintah dalam penanggulangan AIDS dan infeksi menular seksual lainnya yang tertuang dalam Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 23 Tahun 2022 secara lebih dekat, adekuat dan berkesinambungan.

Tujuan penelitian adalah : (1) Untuk mengetahui *trend* kejadian kasus HIV sebagai penyakit infeksi menular seksual; (2) Untuk mengetahui peluang Aplikasi Halo ODHA! sebagai salah satu transformasi layanan kesehatan HIV dan infeksi menular seksual lainnya berbasis digital.

BAHAN DAN METODE

Bahan penelitian berupa data sekunder kejadian HIV dan Penyakit Infeksi Menular Seksual lainnya untuk mengetahui angka kejadian kasus. Selain itu sarana prasarana yang dibutuhkan dalam pembuatan aplikasi yaitu : Komputer atau Laptop, Software Tools, Visual Studio Code, Flutter, dan Manajemen Basis Data.

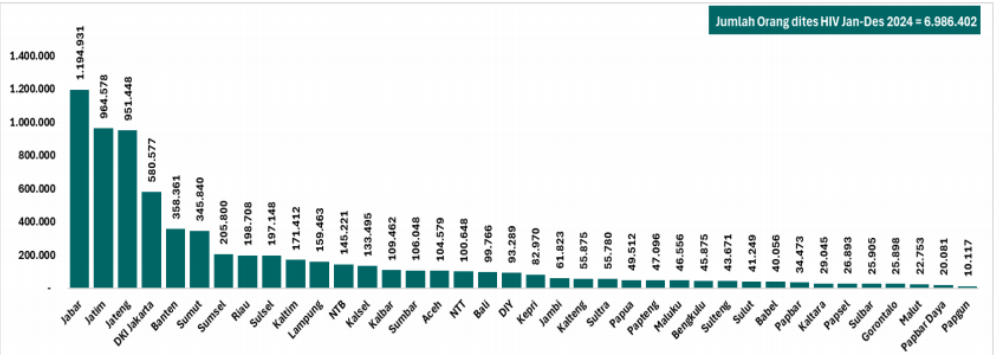
Populasi dalam penelitian adalah : (1) Orang dengan HIV/AIDS (ODHA), (2) Kelompok berisiko tinggi tertular HIV (wanita pekerja seks, pengguna narkoba suntik, laki-laki seks dengan laki-laki, Ibu Hamil, Penderita Tb), (3) Petugas kesehatan yang memberikan layanan HIV dan PIMS dan (4) Data sekunder kejadian HIV dan PIMS. Sedangkan sampel dalam penelitian diambil secara *non random purpossive sampling* yaitu : (1) 10 orang ODHIV/ODHA yang menggunakan aplikasi Halo ODHA untuk konsultasi; (2) 10 orang petugas kesehatan (dokter/perawat/konselor HIV) yang terlibat dalam layanan konsultasi melalui aplikasi; (3) 30 orang pengguna potensial aplikasi (kelompok resiko tinggi, remaja, mahasiswa) yang digunakan untuk uji coba usability dan kebermanfaatan aplikasi.

Metode penelitian yang digunakan adalah Metode Penelitian *Research and Development* (R&D) dengan pendekatan kualitatif. Prosedur penelitian : (1) Pengumpulan data sekunder berupa data kejadian HIV dan PIMS di Indonesia melalui pusat data nasional (PISN); (2) Pembuatan aplikasi Halo ODHA! : (a)

Menentukan tujuan dan batasan penggunaan aplikasi; (b) Menentukan fitur-fitur utama yang akan diimplementasikan; (c) Merancang alur kerja dan antarmuka; (d) Memilih arsitektur dan teknologi; (e) Mengimplementasikan ke dalam kode; (f) Melakukan pengujian aplikasi; dan (g) Merilis aplikasi kepada pengguna serta (h) Melakukan evaluasi penggunaan aplikasi. Data hasil penelitian selanjutnya dianalisis secara deskriptif.

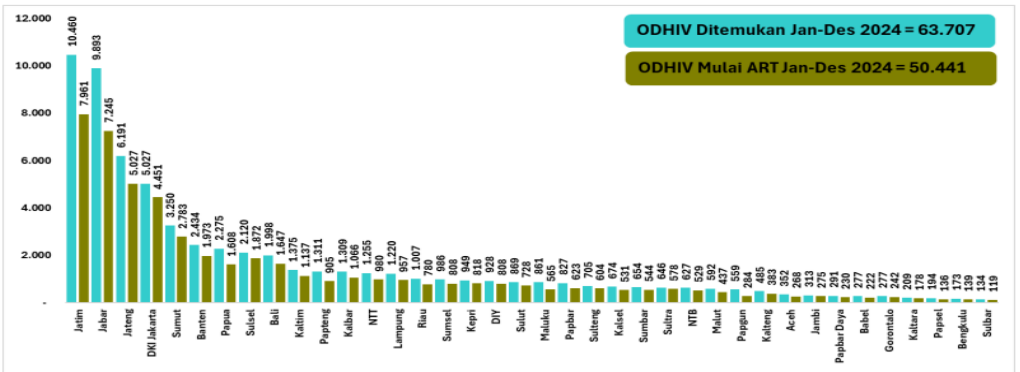
HASIL

Pemeriksaan HIV di Indonesia pada periode Januari-Desember 2024 sejumlah 6.986.402 (91%) orang dari target 7.685.169 orang dapat dilihat pada gambar dibawah ini :



Gambar 1. Jumlah Orang yang dilakukan Pemeriksaan HIV dan PIMS di Indonesia Tahun 2024

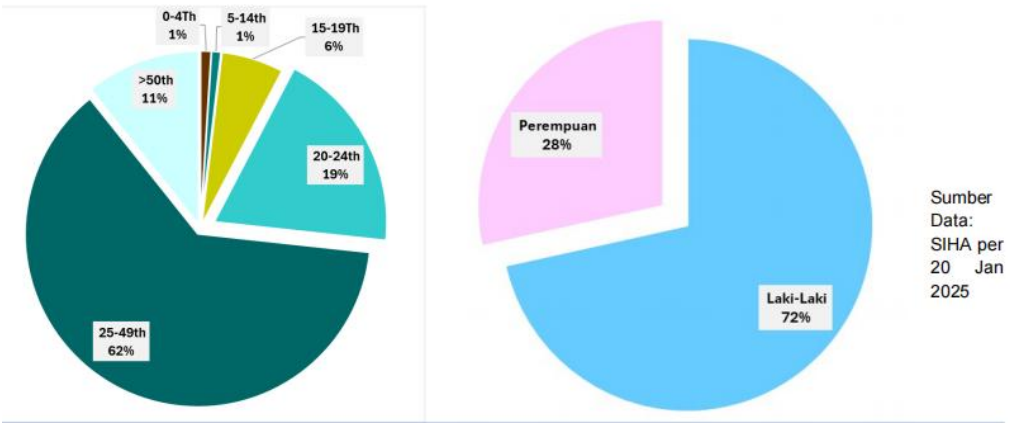
Dari 6.986.402 orang yang dites HIV tersebut, 63.707 ODHIV ditemukan dan 50.441 (79,2%) diantaranya mendapatkan pengobatan ARV.



Gambar 2. Jumlah ODHIV yang ditemukan dan Memperoleh ARV Tahun 2024

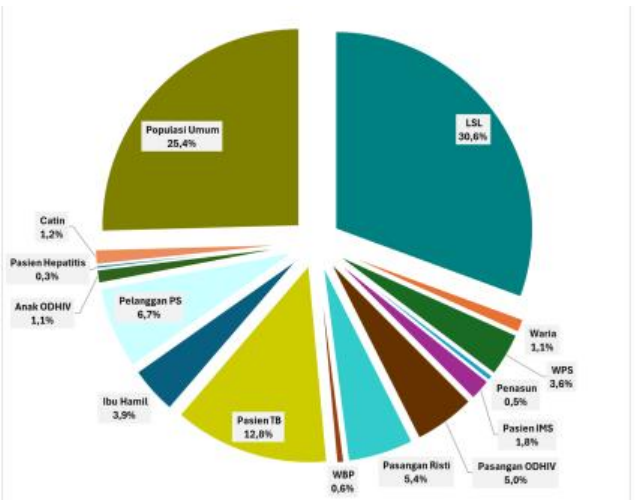
Persentase ODHIV yang ditemukan periode Januari-Desember 2024 berdasarkan

kelompok umur yang tertinggi terdapat pada kelompok umur 25-49 tahun (62%), diikuti kelompok umur 20-24 tahun (19%), dan kelompok umur ≥50 tahun (11%). sedangkan berdasarkan jenis kelamin, persentase ODHIV yang ditemukan pada laki-laki sebesar 72% dan perempuan sebesar 28%



Gambar 3. Porsentase ODHIV berdasarkan Kelompok Umur dan Jenis Kelamin Tahun 2024

Berdasarkan ODHIV yang ditemukan Januari-Desember 2024, sebanyak 30,6% dari kelompok LSL; populasi Umum 25,4%; pasien TB 12,8%; pelanggan PS 6,7%; pasangan Risti 5,4%; ibu hamil 3,9%; pasangan ODHIV 5,0%; WPS 3,6%; pasien IMS 1,8%; Catin 1,2%; Waria 1,1%; WBP 0,6%, dan Penasun 0,5%.



Gambar 4. Porsentase ODHIV berdasarkan Kelompok Resiko Tinggi Tahun 2024

Pembuatan Aplikasi Halo ODHA! Berbasis digitalisasi komputer dengan

tampilan pada gambar berikut:



Gambar 5. Tampilan Aplikasi Halo ODHA! Yang diinstal melalui https://haloodha.bimakota.go.id/

Aplikasi Halo ODHA! dapat diakses melalui HP (*mobile friendly*) maupun komputer. Konsultasi bersifat personal dengan masing-masing konsultan melalui *platform* WhatsApp. Aplikasi memiliki beberapa fitur, yaitu : (1) Fitur konsultasi dengan para konsultan program Halo ODHA! bersertifikasi, (2) Fitur video edukasi yang berisi video-video terkait dengan program Halo ODHA maupun HIV/AIDS secara umum, (3) Fitur informasi penyakit yang mencakup artikel dan *frequently asked questions* (FAQ)/tanya jawab seputar HIV/AIDS, dan (4) Fitur informasi kegiatan yang berkaitan dengan program Halo ODHA!. Cara kerja penggunaan aplikasi : (1) Pengguna membuka situs aplikasi Halo ODHA! melalui https://haloodha.bimakota.go.id/, (2) Pengguna memilih salah satu menu, misalnya Konsultasi, (3) Pengguna memilih salah satu konsultan yang diinginkan, (4) Pengguna akan diarahkan ke aplikasi WhatsApp dengan pesan *default* “Halo ODHA!, saya ingin berkonsultasi” sehingga konsultan mengetahui bahwa pesan tersebut berasal dari aplikasi.

Selanjutnya untuk mengetahui kebermanfaatan program aplikasi bagi *user*,

aplikasi dirilis dan dilakukan pengujian aplikasi kepada *user* yang digunakan sebagai sampel/responden penelitian untuk melihat kebermanfaatan dan evaluasi penggunaan aplikasi dengan hasil yang dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 1. Uji Coba Penggunaan Aplikasi Halo ODHA! Pada Sampel/Responden (*user*)

No.	Kode Nama	Kategori Pengguna	Alamat	Fitur yang digunakan		Tindak Lanjut
				Konsultasi dan Inofromasi	Permintaan Pemeriksaan Laboratorium	
1	RIOF	Nakes	Jawa Timur	√		Terlayani
2	CICI	Nakes	Kota Mataram	√		Terlayani
3	LUTF	Nakes	Kota Bima	√		Terlayani
4	ERNA	Nakes	Kab. Dompu	√		Terlayani
5	AGUS	Nakes	Kota Bima	√		Terlayani
6	ARIA	Nakes	Kota Bima	√		Terlayani
7	PARM	Nakes	Kota Bima	√		Terlayani
8	LILA	Nakes	Kota Bima	√		Terlayani
9	SIDI	Nakes	Kab. Dompu	√		Terlayani
10	SATR	Nakes	Sumsel	√		Terlayani
11	IRAS	ODHIV	Jakarta	√		Terlayani
12	JOHA	ODHIV	Kota Bima	√	√	Terlayani
13	FATH	ODHIV	Kota Bima	√	√	Terlayani
14	FAHR	ODHIV	Kab. Bima	√	√	Terlayani
15	DAFI	ODHIV	Kota Bima	√	√	Terlayani
16	ZULK	ODHIV	Kota Bima	√	√	Terlayani
17	ABDU	ODHIV	Kota Bima	√	√	Terlayani
18	KRIS	ODHIV	Jakarta	√		Terlayani
19	RIDW	ODHIV	Kab. Lobar	√		Terlayani
20	NAVI	ODHIV	NTT	√		Terlayani
21	ANGG	Pengguna PS	Kota Bima	√	√	Terlayani
22	HUSN	Pengguna PS	Kota Bima	√	√	Terlayani
23	ZAEN	LSL	Kota Bima	√	√	Terlayani
24	AHMA	LSL	Kota Bima	√	√	Terlayani
25	WAHI	Penderita Tb	Kota Bima	√	√	Terlayani
26	ERWI	LSL	Kota Bima	√	√	Terlayani
27	MUSL	Pengguna PS	Kota Bima	√		Terlayani
28	ANSA	Pengguna PS	Kota Bima	√	√	Terlayani
29	RONY	Pengguna PS	Kota Bima	√	√	Terlayani
30	ECAS	Pengguna PS	Kota Bima	√	√	Terlayani

No.	Kode Nama	Kategori Pengguna	Alamat	Fitur yang digunakan		Tindak Lanjut
				Konsultasi dan Inofromasi	Permintaan Pemeriksaan Laboratorium	
31	RIDW	Pengguna PS	Kota Bima	√	√	Terlayani
32	IKBA	Pengguna PS	Kota Bima	√	√	Terlayani
33	NURU	Bumil	Kota Bima	√		Terlayani
34	SUCI	WPS	Kota Mataram	√		Terlayani
35	SUSA	Catin	Kota Bima	√	√	Terlayani
36	ANH	WPS	Makassar	√		Terlayani
37	TASY	WPS	Surabaya	√		Terlayani
38	ARSI	Bumil	Jakarta	√		Terlayani
39	FADL	Pengguna PS	Kota Bima	√	√	Terlayani
40	AINU	Pengguna PS	Makassar	√		Terlayani
41	NENI	Catin	Kota Bima	√	√	Terlayani
42	TRIS	Pengguna PS	Jogjakarta	√		Terlayani
43	ABDU	LSL	Kota Bima	√	√	Terlayani
44	FEND	LSL	Kota Bima	√	√	Terlayani
45	YUSU	LSL	Kota Bima	√	√	Terlayani
46	ILHA	Pengguna PS	Kota Bima	√	√	Terlayani
47	RIDW	Pengguna PS	Kota Bima	√	√	Terlayani
48	IWAN	LSL	Kota Bima	√		Terlayani
49	IMAN	Pengguna PS	Kota Bima	√	√	Terlayani
50	ASWA	Pengguna PS	Kota Bima	√	√	Terlayani

Ket : (1) LSL : Lelaki Sex dengan Lelaki; (2) Pengguna PS : Pengguna Pekerja Sex komersil, (3) Catin : Calon Pengantin, (4) Bumil : Ibu Hamil, (5) WPS : Wanita pekerja Sex, (6) Penderita Tb : Penderita Tbc, (7) Nakes : Tenaga Kesehatan, (8) ODHIV : Orang dengan HIV positif.

Rekapan hasil penggunaan aplikasi dapat dilihat apda tabel berikut:

Tabel 2. Rekapan Penggunaan Aplikasi Halo ODHA! Pada Sampel (*user*)

Kategori Pengguna	Jumlah Pengguna	Jenis Layanan		Pemberian Layanan	
		Konsultasi/ Informasi	Pemeriksaan Lab	Terlayani	Tidak Terlayani
LSL	7	7	6	7	0
WPS	3	3	0	3	0
Penderita Tb	1	1	1	1	0
Catin	2	2	2	2	0
Bumil	2	2	0	2	0

Kategori Pengguna	Jumlah Pengguna	Jenis Layanan		Pemberian Layanan	
		Konsultasi/ Informasi	Pemeriksaan Lab	Terlayani	Tidak Terlayani
Pengguna PS	15	15	12	15	0
ODHIV	10	10	6	10	0
Nakes	10	10	0	10	0
Total	50	50	27	50	0

DISKUSI

HIV/AIDS merupakan salah satu isu kesehatan masyarakat global yang sangat signifikan. Penyakit ini disebabkan oleh Human Immunodeficiency Virus (HIV) dan umumnya menyebar melalui hubungan seksual berisiko serta penularan lainnya yang berkaitan dengan infeksi menular seksual (IMS). Saat ini, angka infeksi HIV menunjukkan tren peningkatan secara global, dengan prevalensi yang lebih tinggi di daerah urban dibandingkan dengan pedesaan. Namun demikian, penyebaran HIV kini juga telah menjangkau wilayah-wilayah terpencil, termasuk desa-desa. Kondisi ini menandakan bahwa epidemi HIV tidak lagi terbatas pada populasi atau wilayah tertentu (Natasya et al., 2024; World Health Organization, 2016).

Di Indonesia, peningkatan kasus infeksi baru HIV terjadi setiap tahun. Temuan infeksi HIV dan PIMS tergolong tinggi di Indonesia, berdasarkan laporan eksekutif perkembangan HIV AIDS dan penyakit infeksi menular seksual di Indonesia Tahun 2024, Jumlah orang dengan risiko terinfeksi HIV mendapatkan tes HIV pada fasilitas kesehatan mencapai 6.986.402 orang (91%) dari target tes sebanyak 7.685.169 orang (Kementerian Kesehatan, 2023; Haroen et al. , 2024). Dari 6.986.402 orang yang dites HIV, 63.707 ODHIV ditemukan dan 50.441 (79,2%) diantaranya mendapatkan pengobatan ARV. Sementara itu, mayoritas (62%) ODHIV menginfeksi usia muda dan produktif pada usia 25-49 tahun dengan mayoritas penderita (30,6%) pada kelompok Lelaki Sex dengan Lelaki (LSL) (Pusat Data Nasional HIV (2025).

Pentingnya untuk memberikan pemahaman yang mendalam mengenai HIV/AIDS sebagai isu kesehatan global yang mendesak, terutama di Indonesia.

Salah satu tujuan utama dari upaya ini adalah meningkatkan kesadaran masyarakat mengenai cara penularan HIV/AIDS, yang dapat terjadi melalui hubungan seksual, penggunaan jarum suntik yang tidak steril, serta transfusi darah. Dengan pengetahuan yang lebih baik mengenai risiko penularan ini, diharapkan masyarakat dapat mengambil langkah-langkah pencegahan yang efektif untuk melindungi diri mereka sendiri dan orang lain (Natasya et al., 2024).

Penggunaan platform digital dengan tujuan pemberian komunikasi, informasi dan edukasi (KIE) menjadi hal yang sangat penting dan efisien saat ini terutama untuk pemberian informasi mengenai penyakit dengan resiko diskriminasi (penyakit dengan Stigma) seperti pada infeksi HIV maupun penyakit infeksi menular seksual lainnya seperti siphilis, gonore, HPV, hepatitis dll.

Aplikasi Halo ODHA! Merupakan aplikasi yang digunakan untuk pemberian edukasi, informasi, konsultasi dan pelayanan pemeriksaan. Aplikasi ini mudah diinstal dan digunakan dan dapat diakses melalui laman https://haloodha.kobi.my.id. aplikasi ini juga dapat direplikasi dan diterapkan oleh unit pelaksana teknis Kementerian Kesehatan Republik Indonesia khususnya pada fasilitas-fasilitas pelayanan kesehatan dengan dilakukan penyesuaian yang mengacu pada pelaksanaan program diberbagai Daerah dan terutama memperhatikan kearifan lokal.

Tim yang terlibat dalam aplikasi disesuaikan dengan tim yang ada di masing-masing Daerah yang melakukan replikasi. Aplikasi ini memiliki peluang yang sangat besar untuk berkolaborasi dan memperoleh dukungan anggaran dari pemerintah Daerah. Program inovasi berdasarkan hasil riset ini mudah direplikasi karena merupakan pengembangan program Pemerintah dengan memaksimalkan sumber daya yang dimiliki. Aplikasi Halo ODHA! sendiri merupakan aplikasi yang sangat mudah diaplikasikan dengan petunjuk penggunaan yang sederhana (Lampiran 1).

Tampilan menu utama aplikasi Halo ODHA! berisi ikon dan label empat fitur utama (Konsultasi, Video Edukasi, Informasi, dan Kegiatan) : (1) Tampilan

Konsultasi berisi foto dan nama konsultan, (2) Tampilan Video Edukasi berisi daftar video, (3) Tampilan Informasi berisi daftar artikel, dan (4) Tampilan Kegiatan berisi daftar kegiatan (Lampiran 1).

Beberapa fitur pada aplikasi Halo ODHA!, yaitu :

1. Menu Konsultan;

   Fitur penting yang menyediakan akses langsung kepada pengguna untuk berkonsultasi mengenai HIV/AIDS. Di dalam menu ini, pengguna dapat melihat foto, nama lengkap, dan spesialisasi dari para konsultan yang siap memberikan bantuan. Dengan tim konsultan yang terdiri dari berbagai latar belakang, seperti konselor, dokter, dan apoteker, pengguna dapat memilih sesuai dengan kebutuhan spesifik mereka (Panduan Penggunaan Halo ODHA!, 2025).

2. Menu video edukasi;

   Menu ini berisi daftar video edukasi terkait penanganan HIV/AIDS, mulai dari pengenalan HIV/AIDS, pelaksanaan rapid test antibodi HIV, hingga pemeriksaan laboratorium. Di dalam menu ini, pengguna dapat mengakses berbagai video informatif yang mencakup topik-topik penting, seperti pencegahan, pengobatan, serta cara hidup sehat bagi ODHA. Dengan pendekatan visual yang interaktif, video edukasi ini bertujuan untuk menyampaikan informasi secara jelas dan mudah dipahami, sehingga pengguna dapat memperoleh pengetahuan yang bermanfaat untuk mendukung kesehatan mereka (Panduan Penggunaan Halo ODHA!, 2025).

3. Menu info penyakit;

   Melalui menu ini, pengguna dapat menemukan berbagai artikel dan fakta penting mengenai gejala, pengobatan, dan pencegahan penyakit. Informasi yang disajikan disusun secara sistematis dan jelas, sehingga pengguna dapat memahami kondisi kesehatan mereka dengan lebih baik. Dengan pengetahuan yang tepat, pengguna diharapkan dapat membuat keputusan yang lebih terinformasi mengenai perawatan kesehatan mereka

dan meningkatkan kesadaran tentang pentingnya kesehatan secara keseluruhan (Panduan Penggunaan Halo ODHA!, 2025).

4. Menu info kegiatan;

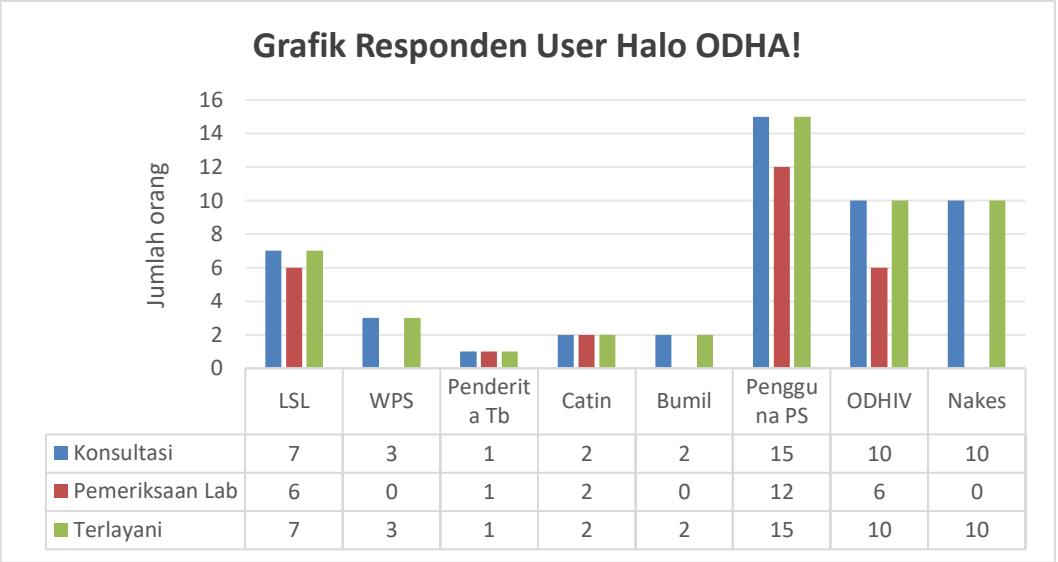
   Menu ini berisi daftar kegiatan terkait program Kunci Baju ODHA yang diselenggarakan di Kota Bima. ODHA maupun masyarakat umum dapat berpartisipasi dalam kegiatan-kegiatan ini (Panduan Penggunaan Halo ODHA!, 2025).

5. Menu konsultasi

   Pengguna dapat melakukan konsultasi secara langsung dengan para konsultan program Kunci Baju ODHA melalui tombol Konsultasi di pojok kanan bawah. Pengguna akan diarahkan untuk mengisi nama dan pesan sebelum memulai sesi konsultasi. Para konsultan akan segera membalas pesan tersebut sesuai dengan spesialisasinya (Panduan Penggunaan Halo ODHA!, 2025).

Arsitektur pada aplikasi Halo ODHA! yang digunakan adalah aplikasi berbasis web dengan tampilan *mobile*. Teknologi yang dipakai adalah *Ionic* untuk sisi antarmuka pengguna dan *WordPress* untuk sisi manajemen konten. Fitur pada aplikasi dalam bentuk rancangan fitur-fitur dasar, sedangkan alur kerja, dan antarmuka diimplementasikan dalam bentuk kode menggunakan komponen-komponen yang tersedia di *Ionic* dan *WordPress*.

Untuk menguji penggunaan aplikasi Halo ODHA!, peneliti melakukan pengujian yang dilakukan secara terbatas (50 responden) untuk memastikan bahwa implementasi kode sesuai dengan rancangan aplikasi dan aplikasi dapat digunakan user.



	LSL	WPS	Penderita Tb	Catin	Bumil	Pengguna PS	ODHIV	Nakes
Konsultasi	7	3	1	2	2	15	10	10
Pemeriksaan Lab	6	0	1	2	0	12	6	0
Terlayani	7	3	1	2	2	15	10	10

Gambar 6. Grafik Responden user Halo ODHA!

Hasil pengujian pada sejumlah sampel/responden penelitian (Tabel 1 dan tabel 2), pada 50 responden penelitian sebagai *user* aplikasi Halo ODHA!, 50 *user* (100%) terlayani baik untuk penerimaan konsultasi dan pemberian informasi maupun permintaan pemeriksaan laboratorium HIV dan PIMS. Pada responden yang merupakan ODHIV, 10 responden (100%) melakukan konsultasi terkait perjalanan penyakit, dan 60% diantaranya (6 responden) juga melakukan permintaan pemeriksaan laboratorium yaitu pemeriksaan infeksi oportunistik (siphilis, gonore dan hepatitis), sedangkan pada 10 responden (100%) tenaga kesehatan, menggunakan aplikasi untuk konsultasi terkait tatalaksana pelayanan pemeriksaan HIV dan PIMS.

Aplikasi juga digunakan oleh 30 responden yang merupakan kelompok beresiko tinggi terinfeksi HIV dan PIMS lainnya, dimana 7 responden LSL (100%) melakukan konsultasi pada aplikasi dan 6 responden (86%) melakukan konsultasi dan permintaan pemeriksaan laboratorium, seluruh responden (3 responden) WPS melakukan konsultasi pada aplikasi tanpa melakukan permintaan pemeriksaan laboratorium, 1 responden (100%) penderita Tb melakukan konsultasi dan permintaan pemeriksaan laboratorium, sementara itu 2 responden (100%) catin juga melakukan konsultasi dan permintaan pemeriksaan laboratorium. Pada 2 orang bumil yang juga menjadi responden penelitian,

seluruh responden (100%) hanya menggunakan aplikasi untuk konsultasi sedangkan pada 15 responden pengguna PS, seluruh responden (100%) melakukan konsultasi pada aplikasi dan 12 responden (80%) juga melakukan permintaan pemeriksaan laboratorium.

Pengguna aplikasi Halo ODHA! yang mengajukan permintaan pemeriksaan akan terlebih dahulu menerima layanan konseling, yang kemudian dilanjutkan dengan pengambilan sampel darah berdasarkan kesepakatan antara pengguna dan konsultan. Spesimen darah beserta data pasien selanjutnya akan dirujuk ke fasilitas pelayanan kesehatan yang sesuai dengan alamat domisili pasien. Selain itu, layanan juga dapat diberikan dalam bentuk konseling melalui aplikasi. Apabila pengguna memilih untuk langsung melakukan pemeriksaan di fasilitas kesehatan, konsultan dapat mengarahkan pengguna ke fasilitas yang sesuai, baik berdasarkan preferensi maupun wilayah domisili yang bersangkutan.

Pentingnya konsultasi menggunakan platform digital didasari oleh kemudahan, kenyamanan, dan efisiensi yang ditawarkannya, terutama dalam layanan seperti telemedis dan konseling online pada penyakit infeksi dengan kategori penyakit dengan stigma. Platform ini memungkinkan individu untuk mengakses saran ahli dari mana saja, mengatasi hambatan waktu, jarak, dan stigma yang sering kali terkait dengan konsultasi tatap muka (Ratna Nurlaila, 2021). Saat ini, sebanyak 175,4 juta atau 64% masyarakat Indonesia telah terhubung dengan internet dan meningkat sekitar 17% setiap tahun. Hal ini menjadikan lanskap komunikasi di Indonesia menjadi berubah secara signifikan. Pertumbuhan pengguna internet di Indonesia merupakan terbesar ketiga setelah Cina dan India (We Are Social Inc, 2020).

Integritas tenaga medis, termasuk teknisi medis dan tenaga kesehatan lainnya, memiliki pengaruh besar terhadap tingkat kepercayaan pasien terhadap platform kesehatan digital. Dalam konteks layanan kesehatan digital, integritas tenaga medis sebagai konsultan maupun penyedia layanan tercermin dari kemampuannya dalam menjalankan berbagai layanan yang ditawarkan oleh platform tersebut, termasuk memberikan pelayanan secara tepat waktu

(Sonmezay & Ozdemir, 2020). Konsistensi dalam memberikan layanan yang profesional dan tepat waktu ini akan membangun persepsi positif di mata pasien bahwa tenaga medis yang melayani mereka memiliki integritas yang tinggi (Wan, Zhang, & Yan, 2020).

Penggunaan aplikasi digital Halo ODHA! yang diujicobakan pada 50 responden menunjukkan bahwa keberadaan platform konsultasi daring berbasis prinsip kerahasiaan pasien (konfidensialitas) dapat menjadi alternatif pengembangan program yang layak diadopsi dalam pelayanan kesehatan nasional. Platform semacam ini sangat relevan, terutama dalam menangani penyakit-penyakit yang rentan terhadap stigma negatif. Dengan adanya jaminan kerahasiaan, masyarakat dengan perilaku berisiko tinggi lebih mudah mengakses layanan kesehatan yang tersedia tanpa takut mengalami diskriminasi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa di Indonesia, pada Tahun 2024, Jumlah orang dengan resiko terinfeksi HIV yang melakukan pemeriksaan HIV pada fasilitas kesehatan mencapai 6.986.402 orang dan 63.707 diantaranya dinyatakan positif. Kejadian infeksi HIV memiliki kecenderungan terjadinya peningkatan kasus, mengingat HIV dan infeksi menular seksual merupakan penyakit stigma. Oleh karena itu, inovasi aplikasi berbasis platform digital seperti halo ODHA! menjadi alternatif deteksi dini berbasis kerahasiaan data pasien. Seluruh responden yang diujicobakan menggunakan aplikasi terlayani dengan baik baik untuk konsultasi dan pemberian informasi maupun responden yang melakukan permintaan pemeriksaan laboratorium sehingga penggunaan aplikasi dapat memberikan sumbangsih bagi pengembangan program pengendalian HIV yang layak dan dapat diadopsi dalam pelayanan kesehatan di Daerah maupun Nasional.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih penulis ucapkan kepada STIKes BCH Purwokerto dan Badan Riset dan Inovasi Daerah (BRIDA) Kota Bima yang mendukung penyusunan penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Selama pelaksanaan penelitian, tidak ditemukan konflik kepentingan pada penelitian ini.

REFRENSI

Jurnal

Hartiah Haroen, Sidik Maulana, Alia Rahmi Harlasgunawan, Sri Rahmawati, Alvi Riansyah, Faizal Musthofa, Jerico Franciscus Pardosi (2024) Barriers and Facilitators of Early Palliative Care in the Trajectory of People Living with Chronic Condition: A Mini Review Using Socio-ecological Framework to Inform Public Health Strategy. Multidiscip Healthc. 2024 Aug 29:17:4189-4197. doi: 10.2147/JMDH.S473457. eCollection 2024.

Kementerian Kesehatan, 2023. Laporan eksekutif perkembangan HIV AIDS dan penyakit infeksi menular seksual di Indonesia.

Marie V, Gordon ML. (2020) The HIV-1 Gag Protein Displays Extensive Functional and Structural Roles in Virus Replication and Infectivity. Int J Mol Sci. 2022;23(14):1–15.

Natasya, Shella Nur Maharani, Misna (2025) HIV/AIDS : Update Terkini di Indonesia. Protein: Jurnal Ilmu Keperawatan dan Kebidanan Volume. 3, No. 1, 2025 e-ISSN: 3031-0113; dan p-ISSN: 3031-0121; Hal. 27-36

Paddock, Catharine (2014). "HIV Home Test Kit Approved By FDA". Medical News Today. Retrieved 4 August 2014.

Pusat Data Nasional HIV (2025). Laporan eksekutif perkembangan HIV AIDS dan penyakit infeksi menular seksual di Indonesia Tahun 2024. Kementerian Kesehatan RI.

Ratna Nurlaila (2021) Media Sosial Sebagai Layanan Konsultasi daring (Studi Akun Bagikata pada Media Sosial Line). Diakom: Jurnal Media dan Komunikasi │Vol. 4 No. 1, September 2021: Hal. 37-52.

Sonmezay, M. and Ozdemir, E. (2020) The Effect of The E-Commerce Companies Benevolence, Integrity and Competence Characteristics on Consumers Perceived Trust, Purchase Intention and Attitudinal Loyalty', Business and Economics Research Journal, 11(3).

We Are Social Inc. (2020). Digital 2020 ; Global Digital Overview. Retrieved May 11, 2020, from https://wearesocial.com/digital-2020.

Wan, Y., Zhang, Y. and Yan, M. (2020) What influences patients willingness to

choose in online health consultation? An empirical study with PLS–SEM', Industrial Management and Data Systems, 120(12), pp. 2423–2446.

Wibowo, H. A., Setiawaty, V., & Salwati, E. (2011). Epidemiologi Molekuler Genotipe HIV-1 pada Orang dengan HIV/AIDS atau ODHA di Jawa Timur dan DKI Jakarta. Bul Penel Kesehat, 3(1): 1-9.

Buku

Kementerian Kesehatan RI (2016). Buku Saku HIV ADIS dan IMS. *Jakarta: Perpustakaan Kemenkes RI*.

UNAIDS World Health Organization (2003). Handbook on access to HIV/AIDS-elated treatment : a collection of information, tools and other resources for NGOs, CBOs and PLWHA groups / produced by UNAIDS, WHO, and the International HIV/AIDS Alliance. *Switzerland: UNAIDS Best Practice Collection.*

World Health Organization (2016). Consolidated guidelines on HIV prevention, diagnosis, treatment and care for key populations – 2016 update. *France: WHO Library Cataloguing-in-Publication Data.*

PENGARUH MEROKOK TERHADAP KADAR MALONDIALDEHIDE DAN VITAMIN C SEBAGAI MARKER STRESS OKSIDATIF PADA PEROKOK AKTIF

Muji Rahayu[1] · Dhika Juliana Sukmana[1*] · Yanuar Amin[1] · Ullya Rahmawati[1] · Lia Soraya[1]

[1] Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Yogyakarta, D.I. Yogyakarta, Indonesia

e-Mail : dhika.juliana.dj@gmail.com
No Tlp WA : 085239135355

Abstract

Smoking is one of bad habit that increases risk of chronic disease by producing ROS wich lead oxidative stress and cell damage. Lower levels of antioxidants, such as vitamin C, and increased malondialdehyde (MDA) from lipid breakdown are symptoms of this stress. Our study compared the levels of MDA and vitamin C in regular smokers and nonsmokers. Another analytical observational design was used in this study, including 78 participants split into two groups: those who were active smokers and those who were not. The method of ELISA was applied to test the amounts of vitamin C and MDA. The chi-square test was used to statistically analyze the data. The results revealed that smokers had a mean MDA level of 205.81 ± 33.47 ng/mL, which was higher than that of non-smokers (187.23 ± 26.59 ng/mL). However, this difference was not statistically significant (p = 0.08). On the other hand, smokers had a significantly smaller vitamin C level (15.36 ± 1.43 µg/mL) than non-smokers (17.54 ± 6.16 µg/mL) (p = 0.02). Additionally, smoking affects the body's oxidative stress condition, which is indicated by increased MDA levels and a major decrease in vitamin C levels among smokers. These findings underscore the essential function of antioxidants in countering the damaging consequences of free radicals produced by cigarette smoke exposure.

***Keywords** : Malondialdehyde, Vitamin C, Smokers*

Abstrak

Merokok merupakan kebiasaan tidak sehat yang berkontribusi besar terhadap peningkatan risiko penyakit kronis dan kanker melalui pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS) yang memicu stres oksidatif dan kerusakan sel. Stres oksidatif ditandai oleh peningkatan kadar malondialdehid (MDA), produk peroksidasi lipid, serta penurunan kadar antioksidan seperti vitamin C. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kadar MDA dan vitamin C pada perokok aktif dibandingkan dengan non-perokok. Penelitian ini menggunakan desain observasional analitik dengan 78 responden yang dibagi menjadi dua kelompok (perokok aktif dan non-perokok). Kadar MDA dan vitamin C diukur menggunakan metode ELISA. Data dianalisis secara statistik menggunakan uji chi-square. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rerata kadar MDA pada perokok lebih tinggi (205,81 ± 33,47 ng/mL) dibandingkan non-perokok (187,23 ± 26,59 ng/mL), meskipun perbedaan ini tidak signifikan secara statistik (p = 0,08). Sebaliknya, kadar vitamin C pada perokok secara signifikan lebih rendah (15,36 ± 1,43 µg/mL) dibandingkan non-perokok (17,54 ± 6,16 µg/mL) (p = 0,02). Kesimpulannya, merokok berpengaruh terhadap status stres oksidatif tubuh, yang ditunjukkan oleh kecenderungan peningkatan kadar MDA dan penurunan signifikan kadar vitamin C pada perokok. Temuan ini menunjukkan pentingnya peran antioksidan dalam melawan dampak radikal bebas akibat paparan asap rokok.

Kata Kunci : Malondialdehide, Vitamin C, Perokok

PENDAHULUAN

Merokok merupakan salah satu kebiasaan tidak sehat yang umum dijumpai, terutama di negara berkembang. Sekitar 1,1 Milyar anak usia 15 tahun merokok dan 80% diantaranya berasal dari negara berkembang (Action on Smoking Health, 2019). Kebiasaan merokok menjadi penyumbang masalah Kesehatan dunia yang berujung pada kematian dan menajdi faktor risiko beberapa jenis kanker(Addissouky et al., 2024; Caliri et al., 2021; Rafiqkhan & Sellappa, 2013; Walser et al., 2008). Merokok dapat membahayakan hamper seluruh organ tubuh. Berdasarkan proyeksi WHO, pada tahun 2030 angka kematian akibat tembakau akan meningkat menjadi 8 juta kematian per tahun (WHO, 2025).

Asap rokok mengandung ribuan senyawa kimia bersifat radikal bebas dan senyawa reaktif yang sangat berbahaya dan dapat merusak biomolekul dalam tubuh. Selain itu, beberapa senyawa dalam asap rokok juga dapat memicu terbentknya ROS secara endogen melalui respirasi sel (di mitokondria). Dengan terjadinya produksi ROS berlebih, maka dapat menjadi pemicu timbulnya stress oksidatif dan kerusakan selular (Caliri et al., 2021). Beberapa jenis ROS yang dapat terbentuk akibat dari merokok antara lain adalah hydrogen peroksida, ion hidroksil, superoksida dan radikal peroksil. ROS yang tidak terkontrol mengakibatkan terjadinya stress oksidatif. Sebagai hasil terbentuknya ROS, terjadi peroksidasi lipid yang menghasilkan Malondialdehide atau dikenal dengan MDA. MDA diketahui menjadi salah satu biomarker kanker yang dapat diukur melalui darah (Jaggi SRF et al., 2015).

Peningkatan kadar MDA pada darah perokok secara signifikan menunjukkan adanya stress oksidatif yang sedang berlangsungPaparan asap rokok menjadi pemicu peningkatan radikal bebas dalam tubuh dan mengakibatkan peroksidasi lipid dengan produk sampingan berupa peningkatan senyawa MDA (Ata et al., 2015; Bello et al., 2017; Mohideen et al., 2021; Tsikas, 2017). Peningkatan MDA sebagai penanda stress oksidatif dan kerusakan seluler kemudian menjadi precursor awal menuju perkembangan kanker (Pandi et al., 2024; Seo et al., 2023).

Rokok tradisional (non-elektrik) dapat mengakibatkan ketidakseimbangan redoks yang dicirikan oleh terjadinya peningkatan produksi radikal bebas dan kerusakan membrane sel. Merokok jangka panjang dapat menyebabkan penurunan aktivitas antioksidan enzimatis endogen seperti superoksida dismutase, katalase dan peroksidase (Armadiyanti et al., 2018; Jaggi SRF et al., 2015; Zięba et al., 2023). Beberapa antioksidan yang diketahui berperan untuk meng-*counter* radikal bebas adalah Gluthation, asam urat dan vitamin C (Zięba et al., 2023).

Vitamin C atau yang dikenal dengan asam askorbat, merupakan salah satu antioksidan dengan berat molekul rendah yang bermanfaat bagi tubuh. Asam askorbat merupakan salah satu antioksidan dengan berat molekul rendah (176,13g/mol) yang dapat menstimulasi kerja antioksidan lain sehingga dapat membantu melawan radikal bebas (Gęgotek & Skrzydlewska, 2022).

Pada perokok dijumpai ketidakseimbangan redoks dengan ciri terjadinya peningkatan produksi radikal bebas. Merokok dalam jangka waktu panjang dapat mengakibatkan penurunan aktivitas antioksidan enzimatik maupun endogen seperti superoksida dismutase (SOD), katalase dan peroksidase (Domej et al., 2014). Kadar vitamin C akan mengalami penurunan setelah meng-*counter* radikal bebas atau molekul oksidatif dengan cara menangkap elektron reaktif, sehingga tidak lagi terukur sebagai Vitamin C (vitamin C teroksidasai) (Gęgotek & Skrzydlewska, 2022; Kumar & Paunipagar, 2014). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengukur kadar MDA dan Vitamin C pada perokok aktif dan non perokok.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini melibatkan responden kelompok perokok dan non perokok. Penentuan responden dilakukan dengan merancang kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi dalam penelitian ini adalah: Perokok tradisional dengan masa merokok lebih dari 1 tahun. Sementara kriteria eksklusi dalam penelitian ini adalah: penderita TBC, diabetes mellitus, gagal ginjal kronik dan menjalani

pengobatan rutin. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah kebiasaan merokok, sementara variabel terikatnya adalah kadar MDA dan Vitamin C serum.

Penelitian dilakukan pada bulan Juli–November 2024. Protokol penelitian ini telah mendapatkan Surat Keterangan Layak Etik dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Poltekkes Kemenkes Yogyakarta tertanggal 27 Agustus No.DP.04.03/e-KEPK.1/778/2024.

Penetapan kadar malondialdehid ditetapkan dengan metode ELISA menggunakan prosedur dan reagen kit dari Elabscience No. Cat. E-EL-0060-96well dan kadar vitamin C ditetapkan dengan metode Colorimetrik dengan reagen kit dari Elabscience no. Cat E-BC-K034-M-96T. Sampel yang digunakan untuk pengukuran kadar MDA dan Vitamin C adalah serum yang diperoleh dari responden. Pemisahan serum dan pemeriksaan kadar MDA dan Vitamin C dilakukan pada hari yang sama dengan pengambilan darah. Kadar MDA dan vitamin C yang diperoleh kemudian dianalisis secara statistic menggunakan uji *chi-square*.

HASIL

Penelitian ini dilakukan dengan mengelompokkan responden menjadi dua kelompok, yaitu kelompok perokok dan non perokok. Responden dipilih berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditentukan sebelumnya. Responden berasal dari Kampung Mantrijeron berjumlah 78 orang. 48 diantaranya masuk kedalam kelompok perokok yang telah merokok lebih dari 1 tahun, dan 30 lainnya masuk kedalam kelompok non perokok. Pada proses rekrutmen responden, peneliti berusaha untuk *matching*, namun beberapa calon responden tidak memenuhi kriteria. Rentang usia responden berkisar antara 20-74 tahun dengan rerata 53 tahun.

Responden yang berhasil di rekrut kemudian diarahkan untuk mengisi formulir persetujuan lalu dilakukan edukasi dan pengambilan sampel darah. Sampel darah yang diperoleh dipisahkan menjadi serum pada hari yang sama dan diperiksa kadar MDA dan Vitamin C menggunakan metode ELISA. Hasil

pemeriksaan selanjutnya dianalisis secara statistic menggunakan uji *chi-square* dengan hasil yang ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Analisis Kadar MDA dan Vitamin C dalam Serum

No	Perokok	Non-perokok	*p-value*
	48	30	
Rerata MDA ±SD (ng/mL)	205,81±33,47	187,23±26,59	0,08
Rerata Vit C ±SD (ug/mL)	15,36 ±1,43	17,54 ±6,16	0,02

Berdasarkan Tabel 1, dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan kadar MDA perokok dengan non perokok. Kadar MDA perokok sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan non perokok. Secara statistik, perbedaan ini tidaklah signifikan (*p-value* > 0,05). Sebaliknya, kadar Vitamin C perokok lebih rendah dibandingkan dengan non perokok, dan perbedaan ini signifikan secara statistik.

DISKUSI

Penelitian ini merupakan bagian dari rangkaian penelitian terkait antioksidan dan perokok. Pada penelitian ini, fokus parameter yang diamati adalah kadar MDA dan Vitamin C pada prokok aktif dan non perokok. MDA adalah biomarker atau penanda terjadinya stress oksidatif dalam tubuh. Kebiasaan merokok akan menyebabkan terjadinya peningkatan stress oksidatif dan kerusakan sel, sehingga kadar MDA juga akan meningkat. Sebaliknya, Ketika radikal bebas dengan elektron reaktif meningkat maka kadar Vitamin C dalam tubuh akan menurun. Hal ini dikarenakan vitamin C memiliki ikatan rangkap yang dapat menangkap elektron bebas sehingga vitamin C akan berubah menjadi bentuk teroksidasi (Gęgotek & Skrzydlewska, 2022).

Hasil penelitian ini menunjukkan rerata kadar MDA dalam serum perokok lebih tinggi dibandingkan kelompok bukan perokok. Hal ini sesuai dengan beberapa penelitian yang telah dilakukan, antara lain oleh (Kashinakunti et al., 2011) yang menyimpulkan bahwa terjadi peningkatan kadar MDA serum dan penurunan vitamin C pada perokok kronis dibandingkan dengan bukan perokok.

Hasil ini juga sejalan dengan penelitian (Jaggi SRF et al., 2015) dan

(Khrisna & Hendrianingtyas, 2016), dimana kadar MDA pada perokok lebih tinggi dibandingkan kadar MDA non perokok. Merokok merupakan kebiasaan yang dianalogikan dengan menghirup radikal bebas dan memasukkannya secara langsung kedalam tubuh. Dimana hal ini menyebabkan terjadinya ketidakseimbangan antioksidan. Dalam keadaan normal, antioksidan dalam darah dapat meminimalisir terjadinya stress oksidatif dan mencegah terjadinya kerusakan sel. Namun, dalam keadaan merokok terus menerus, rasio antioksidan dan radikal bebas didalam tubuh menjadi tidak seimbang. Proses pembakaran tembakau dapat menghasilkan ROS yang kemudian masuk dan terhirup menuju paru-paru. Masuknya ROS kedalam tubuh diikuti dengan aktivasi neutrophil yang berujung pada kerusakan jaringan. ROS mendegradasi lapisan lipid bilayer pada membran sel kemudian membentuk MDA. Produk aldehid ini digunakan sebagai biomarker untuk mengukur tingkat stres oksidatif dalam suatu organisme (Kumar & Paunipagar, 2014).

Secara alami, tubuh akan merespon ROS yang berlebihan dengan mengaktifkan system antioksidan endogen melalui peningkatan antioksidan enzimatik (katalase, superoksida, gluthation peroksidase) dan system antioksidan non enzimatik (albumin, asam urat dan gluthation tereduksi). Komponen TAR dalam asap rokok mengandung radikal bebas semikuinon (Khrisna & Hendrianingtyas, 2016; Seo et al., 2023) yang apabila terlarut dalam larutan aqueous seperti cairan paru dan plasma darah, akan mengoksidasi oksigen menjadi superoksida dan menstimulasi terbentuknya hydrogen peroksida (Seo et al., 2023). Hal ini akan memengaruhi kadar MDA dengan tingginya intensitas radikal bebas dalam tubuh.

Produk sampingan dari peroksidasi lipid menyebabkan perubahan yang nyata dalam integritas struktural dan fungsi membran sel. Ciri khas peroksidasi lipid yang paling umum adalah menyebabkan adisi DNA-MDA yang cukup besar dengan berinteraksi dengan DNA seluler dan ketidakseimbangan antara mekanisme pertahanan antioksidan (Rafiqkhan & Sellappa, 2013).

Malondialdehid (MDA), 4-hidroksi-nonenal (HNE) dan F2-isoprostana 15(S)-

8-iso-prostaglandin F2α (15(S)-8-iso-PGF2α) merupakan produk peroksidasi lipid, dihasilkan dari asam lemak tak jenuh ganda (poly unsaturated fatty acid) baik melalui reaksi kimia maupun reaksi yang dikatalisis oleh enzim. MDA, HNE dan 15(S)-8-iso-PGF2α adalah biomarker stres oksidatif yang paling sering diukur, yaitu peroksidasi lipid (Tsikas, 2017).

Dalam penelitian ini, kadar MDA perokok memang lebih tinggi dibandingkan dengan non perokok, namun secara statistic tidak berbeda signifikan (p value 0,08). Hal ini mengindikasikan bahwa kadar MDA juga dipengaruhi oleh berbagai macam hal termasuk dosis radikal bebas yang masuk kedalam tubuh. Sehingga, dalam penelitian ini perlu dilakukan analisis lebih lanjut pada termin atau tahun selanjutnya untuk beberapa parameter terkait.

Pada penelitian ini, rerata kadar vitamin C pada perokok lebih rendah secara signifikan dibandingkan kelompok bukan perokok (p value 0,02). Vitamin C merupakan antioksidan kuat yang larut dalam air karena, dengan menyumbangkan elektronnya, vitamin C mencegah senyawa lain teroksidasi. Spesies yang terbentuk setelah kehilangan satu elektron adalah radikal bebas, asam semidehidroaskorbat atau radikal askorbonil, radikal bebas yang reaktif dan mungkin berbahaya. Banyak penelitian telah menunjukkan rendahnya konsentrasi plasma vitamin C pada perokok (Kashinakunti et al., 2011).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa kadar vitamin C serum perokok lebih rendah secara signifikan dibandingkan dengan kadar vitamin C non perokok. Vitamin C merupakan kelompok antioksidan yang tidak dapat diproduksi sendiri oleh tubuh, sehingga kadarnya didalam tubuh juga sangat dipengaruhi oleh intake atau pola makan. Hasil penelitian ini juga sejalan dengan (Lykkesfeldy et al., 2000) yang menunjukkan kadar Vitamin C perokok lebih rendah dibandingkan non perokok dengan pemantauan diet dan suplememntary yang ketat untuk mengurangi bias.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini disimpulkan bahwa merokok berpengaruh terhadap ststus stress oksidatif yang ditunjukkan dengan kadar malondialdehid pada perokok lebih tinggi dibandingkan pada non perokok, sedangkan kadar vitamin C pada perokok lebih rendah pada perokok dibandingkan pada non perokok.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada selutuh pihak yang telah mendukung penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Dalam penelitian ini tidak terdapat konflik kepentingan dalam bentuk apapun dan dengan pihak manapun.

REFRENSI

Action on Smoking Health. (2019). *Tobacco and The Developing World*.

Addissouky, T. A., El Sayed, I. E. T., Ali, M. M. A., Wang, Y., El Baz, A., Elarabany, N., & Khalil, A. A. (2024). Oxidative stress and inflammation: elucidating mechanisms of smoking-attributable pathology for therapeutic targeting. *Bulletin of the National Research Centre*, *48*(1). https://doi.org/10.1186/s42269-024-01174-6

Armadiyanti, W., Febrina, L., & Masruhim, M. A. (2018). Pengaruh Variasi Lama Pemaparan Asap Rokok terhadap Profil Kadar Malondialdehida pada Hewan Coba. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, *8*, 35–40. https://doi.org/10.25026/mpc.v8i1.300

Ata, M. A., Khand, F., Shaikh, S. S., & Ata, M. A. (2015). Effect of smoking on serum xanthine oxidase and malondialdehyde levels in patients with acute myocardial infarction. *JPMA. The Journal of the Pakistan Medical Association*, *65*(1), 39–42.

Bello, H. A., Dandare, A., & Danmaliki, G. I. (2017). Effects of Cigarette Smoking On Lipid Peroxidation and Serum Antioxidant Vitamins. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, *12*(02), 40–44. https://doi.org/10.9790/3008-1202044044

Caliri, A. W., Tommasi, S., & Besaratinia, A. (2021). Relationships among smoking, oxidative stress, inflammation, macromolecular damage, and cancer. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, *787*, 108365. https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2021.108365

Domej, W., Oettl, K., & Renner, W. (2014). Oxidative stress and free radicals in COPD-implications and relevance for treatment. *International Journal of COPD*, *9*, 1207–1224. https://doi.org/10.2147/COPD.S51226

Gęgotek, A., & Skrzydlewska, E. (2022). Antioxidative and Anti-Inflammatory Activity of Ascorbic Acid. *Antioxidants*, *11*(10), 1993. https://doi.org/10.3390/antiox11101993

Jaggi SRF, S., Singh Yadav Professor, A., Jaggi, S., & Singh Yadav, A. (2015). *The Pharma Innovation Journal 2015; 4(4): 94-96 Increased serum malondialdehyde levels among cigarette smokers*. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK53014/

Kashinakunti, S. V., Kollur, P., Kallaganada, G. S., Rangappa, M., & Ingin, J. B. (2011). Comparative study of serum MDA and vitamin C levels in non-smokers, chronic smokers and chronic smokers with acute myocardial infarction in men. In *J Res Med Sci* (Vol. 16, Issue 8).

Khrisna, M. B., & Hendrianingtyas, M. (2016). Perbedaan Kadar Malondialdehida pada Subyek Bukan Perokok, Perokok Ringan dan Perokok Sedang-Berat. *Jurnal Kedokteran Diponegoro*, *5*(4), 1235–1242.

Kumar, S. D., & Paunipagar, P. V. (2014). Study of serum malondialdehyde and vitamin c in smokers. *Journal of Scientific and Innovative Research*, *3*(6), 569–571. www.jsirjournal.com

Lykkesfeldy, J., Christen, S., Wallock, L. M., Chang, H. H., Jacob, R. A., & Ames, B. N. (2000). Ascorbate is depleted by smoking and repleted by moderate supplementation: a study in male smokers and nonsmokers with matched dietary antioxidant intakes. *Am J Clin Nutr*, *71*, 530–536.

Mohideen, K., Sudhakar, U., Balakrishnan, T., Almasri, M. A., Al-Ahmari, M. M., Al Dira, H. S., Suhluli, M., Dubey, A., Mujoo, S., Khurshid, Z., Raj, A. T., & Patil, S. (2021). Malondialdehyde, an Oxidative Stress Marker in Oral Squamous Cell Carcinoma—A Systematic Review and Meta-Analysis. *Current Issues in Molecular Biology*, *43*(2), 1019–1035. https://doi.org/10.3390/cimb43020072

Pandi, A., Lal, V., Chakraborty, B., & Kalappan, V. M. (2024). Evaluation of Oxidative Stress and Antioxidant Biomarkers in Chronic Cigarette Smokers: A Pilot Study. *Cureus*. https://doi.org/10.7759/cureus.60629

Rafiqkhan, M., & Sellappa, S. (2013). Serum malondialdehyde levels in lung cancer patients. In *Journal of Applied Biology & Biotechnology* (Vol. 1, Issue 04). http://www.jabonline.in

Schectman, G., Byrd, J. C., & Gruchow, H. W. (1989). *The Influence of Smoking on Vitamin C Status in Adults*.

Seo, Y. S., Park, J. M., Kim, J. H., & Lee, M. Y. (2023). Cigarette Smoke-Induced Reactive Oxygen Species Formation: A Concise Review. In *Antioxidants* (Vol. 12, Issue 9). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). https://doi.org/10.3390/antiox12091732

Tsikas, D. (2017). Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. *Analytical Biochemistry*, *524*, 13–30. https://doi.org/10.1016/j.ab.2016.10.021

Walser, T., Cui, X., Yanagawa, J., Lee, J. M., Heinrich, E., Lee, G., Sharma, S., & Dubinett, S. M. (2008). Smoking and Lung Cancer: The Role of Inflammation. *Proceedings of the American Thoracic Society*, *5*(8), 811–815. https://doi.org/10.1513/pats.200809-100TH

WHO. (2025, June 25). *Tobacco*. WHO.

Zięba, S., Błachnio-Zabielska, A., Maciejczyk, M., Pogodzińska, K., Szuta, M., Lo Giudice, G., Lo Giudice, R., & Zalewska, A. (2023). Impact of Smoking on Salivary Lipid Profile and Oxidative Stress in Young Adults: A Comparative Analysis between Traditional Cigarettes, E-Cigarettes, and Heat-Not-Burn Products. *Medical Science Monitor*, *30*. https://doi.org/10.12659/MSM.942507

HUBUNGAN KADAR TROMBOSIT DAN RED CELL DISTRIBUTION WIDTH (RDW) PADA PENDERITA CA MAMMAE STADIUM LANJUT LOKAL

Asni Ramayana Tina[1]*· La Ode Tasrun[2] · Sitti Marwa[3]

[1,3] **D4 Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Mandala Waluya, Provinsi Sulawesi Tenggara, Indonesia.**
[2] **D3 Sanitasi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Mandala Waluya, Provinsi Sulawesi Tenggara, Indonesia**

e-Mail: asniaksioma@gmail.com
No Tlp WA : 082271030066

Abstract

Thrombocytosis is a poor prognostic factor of Breast cancer. On the other hand, the increasing of RDW significantly correlates to the decreasing of breast cancer patient survival rate. This study, focus on analyzing connection between platelets level and RDW of patients with locally advanced breast cancer. This study is quantitative with *Observational Analitik Desain Cross Sectional* method. There are 25 patients of locally advanced stage mammae cancer. Platelets rate and RDW checking were done by Hematology Analyzer, analyzed by Spearman correlation test. The result shows that frequency distribution of patients based on abnormal level totaled 6 people (24%), while RDW-CW high level totaled 10 people (40%) and RDW-SD low level totaled 5 people (20%). Spearman correlation test shows the significant value p = 0.58 (r = 0,11) between platelets and RDW-CV. The Significant value of correlation between platelets and RDW-SD is about p = 0.37 (r value = -0.18). It means there is no significant correlation statistically of platelets level toward RDW-CV and RDW-SD (P>0,05). The next study hoped will take larger sample size for more accurate result than could support clinical assessment of locally advanced stage Breast cancer patients.

***Keywords** : Platelets, RDW-CV, RDW-SD*

Abstrak

Trombositosis merupakan faktor prognostik buruk kanker payudara. Selain itu peningkatan RDW secara signifikan berkorelasi dengan penurunan angka kelangsungan hidup pasien kanker payudara. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis hubungan antara kadar trombosit dan RDW pada penderita kanker payudara stadium lanjut lokal. Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian kuantitatif, metode observasional analitik desain *cross sectional*. Sampel dalam penelitian ini berjumlah 25 pasien penderita *ca mammae* stadium lanjut lokal. Pemeriksaan kadar trombosit dan RDW dilakukan menggunakan *hematology analyzer*, dianalisis dengan uji korelasi *Spearman*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa distribusi frekuensi pasien berdasarkan kadar trombosit abnormal berjumlah 6 pasien (24%), sedangkan kadar RDW-CV tinggi berjumlah 10 pasien (40%) dan kadar RDW-SD rendah berjumlah 5 pasien (20%). Uji korelasi Spearman menunjukkan nilai signifikansi *p* = 0.58 (r = 0,11) antara trombosit dan RDW-CV. Nilai signifikansi dari korelasi trombosit dan RDW-SD yaitu *p* = 0.37 (nilai *r* = -0.18). Hal ini menunjukkan tidak terdapat hubungan signifikan secara statistik kadar trombosit dengan RDW-CV dan RDW-SD (p>0,05). Penelitian selanjutnya diharapkan menggunakan jumlah sampel yang lebih besar untuk hasil akurat serta dapat mendukung penilaian klinis pada pasien kanker payudara stadium lanjut lokal.

Kata Kunci : Trombosit, RDW-CV, RDW-SD

PENDAHULUAN

Di Indonesia, kanker payudara menjadi salah satu jenis kanker yang paling banyak ditemukan, menempati peringkat ke-8 di kawasan Asia Tenggara dan ke-23 di tingkat Asia (Nabilah *et all.*, 2024). Selain itu, berdasarkan data dari *International Agency for Research on Cancer* (IARC), kanker menjadi penyebab kematian kedua terbanyak di dunia. Di antara berbagai jenis kanker yang menyerang perempuan, kanker payudara menempati posisi tertinggi, dengan angka insidens sebesar 38 per 100.000 perempuan (Nurhayati *et all.*, 2019). Pada tahun 2022, melaporkan bahwa kanker payudara menyumbang sebanyak 16,6% atau setara 68.858 kasus baru dari total 396.914 kasus kanker baru di Indonesia. Prevalensi kasus kanker payudara banyak terjadi pada wanita (Rosyidah & Anik, 2023).

Kementerian Kesehatan (Kemenkes) menyatakan, angka kanker payudara di Indonesia mencapai 42,1 orang per 100 ribu penduduk. Tingginya kasus kanker payudara diindonesia disebabkan karena keterlambatan diagnosis dan kesadaran masyarakat, kasus kanker payudara yang terdiagnosis sudah pada stadium lanjut lokal (stadium III) Sementara itu kasus kanker payudara di Sulawesi Tenggara pada tahun 2017 yaitu sekitar 253 kasus. Setelah itu 128 kasus dilaporkan pada tahun 2019 (Veronica *et all,* 2024).

Lebih dari 80% kasus kanker payudara ditemukan berada pada stadium yang lanjut, di mana upaya pengobatan sulit dilakukan (Yuniastini *et all*, 2022). Kanker payudara stadium lanjut lokal merujuk pada kanker yang telah menyebar dari payudara ke jaringan atau kelenjar getah bening di dekatnya (biasanya ketiak atau dinding dada), namun belum bermetastasis ke organ jauh (Juliana *et all,* 2024). Pada penyakit kanker payudara trombosit berperan penting dalam prognostis.

Korelasi antara jumlah trombosit yang tinggi dan kelangsungan hidup spesifik penyakit yang lebih pendek sering dijelaskan untuk kanker paru-paru, usus besar, payudara, pankreas, ginjal, dan ginekologi. Pada wanita dengan kanker payudara, peningkatan sirkulasi trombosit dikaitkan dengan prognosis kanker yang buruk. Peningkatan trombosit juga dapat terjadi pada penyakit lain contohnya pada penyakit gagal ginjal kronik karena disebabkan oleh respons anemia dan stres oksidatif pada pasien hemodialisa (Amudi dan stella, 2021). Selain trombosit, *Red*

Cell Distribution Width (RDW) dapat di gunakan dalam penilaian prognosis (Etim *et all*., 2018).

Red Cell Distribution Width (RDW), sebagai salah satu parameter yang mudah diukur untuk menilai respons inflamasi sistemik, telah banyak dilaporkan berkaitan dengan berbagai kondisi patofisiologis. Belakangan ini, RDW semakin dikenal memiliki peran penting dalam proses karsinogenesis, pertumbuhan tumor, serta menentukan prognosis. Selain itu, sejumlah penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa RDW berpotensi menjadi biomarker yang mencerminkan aktivitas kanker payudara (Sandan *et all*., 2025). Rasio RDW terhadap trombosit mencerminkan tingkat inflamasi dan digunakan untuk menilai fibrosis. Rasio ini mulai diakui sebagai biomarker yang berpotensi penting dalam diagnosis dan penatalaksanaan kanker payudara (Lee *et all*., 2022).

Penelitian yang dilakukan oleh Liu *et all*, (2020) berdasarkan hasil penelitian diperoleh hasil jumlah trombosit berkorelasi dengan status kanker payudara pada kunjungan pertama. (P=0,01). Penelitian lain yang dilakukan oleh Lee *et all*, (2022) yang melukakan penelitian terhadap lebar distribusi sel darah merah (RDW) dan rasio RDW terhadap jumlah trombosit (RPR) pada kanker payudara sebelum dan sesudah pengobatan. Hasil dari penelitian ini menemukan bahwa RPR dan RDW pasca-pengobatan yang meningkat merupakan faktor prognostik yang signifikan untuk survival bebas penyakit (DFS), dengan rasio bahaya (HR) sebesar 2,233 [interval kepercayaan 95% (CI): 1,073–4,649; P=0,032] dan 2,067 (95% CI: 1,085–3,937; P=0,027).

Parameter hematologi dalam tes darah rutin berpotensi sebagai penanda untuk mencerminkan peradangan terkait kanker payudara selama perkembangan penyakit. Penggunaan pasien kanker payudara stadium lanjut lokal sebagai populasi pada penelitian ini karena dapat membantu untuk mengidentifikasi progresifitas kanker ke stadium yang lebih lanjut dengan melihat faktor-faktor resikonya, penyebaran kanker, dan respon terhadap berbagai pengobatan. Oleh karena itu penelitian ini dilakukan dengan parameter hematologi yang berfokus pada hubungan antara peningkatan kadar trombosit dan *Red Cell Distribution Width* (RDW) pada penderita *ca mamae* (kanker payudara) stadium lanjut lokal.

BAHAN DAN METODE

Sampel klinis yang digunakan dalam penelitian ini adalah darah vena dengan menggunakan tabung antikoagulan EDTA dan diperiksa menggunakan alat hematologi analyzer. Populasi dalam penelitian ini yaitu 56 pasien kanker payudara (*ca mammae*) stadium lanjut lokal yang menjalani perawatan dan pemantauan di Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) Bahteramas Provinsi Sulawesi Tenggara. Jumlah sampel dalam penelitian ini adalah 25 sampel. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis statistik kuantitatif dengan pendekatan observasional analitik desain *cross-sectional*.

Tahapan dalam penelitian ini terdiri dari 4 tahapan yaitu survei Lokasi tempat penelitian, pengumpulan sampel pasien ca mamae stadium lanjut lokal, pemeriksaan laboratorium dan Analisis statistic menggunakan uji korelasi spearman (*IBM SPSS Statistics* 30)

HASIL

1. Karakteristik Pasien

Berdasarakan hasil penelitian di peroleh distribusi responden penderita ca mammae stadium lanjut lokal berdasarkan usianya, dapat dilihat pada tabel berikut ini:

Tabel 1. Karakteristik pasien *ca mammae* stadium lanjut lokal berdasarkan usia

Karakteristik Responden	Frekuensi (n)	Presentase (%)
Usia (Tahun)		
36 - 45 Tahun	10	40
46 -55 Tahun	10	40
56 - 65 Tahun	3	12
>65 Tahun	2	8
Total	25	100
Jumlah Kemoterapi		
≤ 3	17	68
> 3	8	32
Total	25	100

Berdasarkan **Tabel 1** diatas, dapat diketahui bahwa hasil dari distribusi responden berdasarkan usia berjumlah 10 orang pada masing masing rentang usia 36 - 45 tahun (40%) dan 46-55 tahun (40 %), pasien usia 56- 65 tahun yaitu

sebanyak 3 orang pasien (12%) dan usia >65 tahun yaitu sebanyak 2 orang pasien (8%). Tabel 6 juga menunjukkan Sebagian besar responden telah menjalankan kemoterapi kurang atau sama dengan 3 kali (68%).

2. Analisis Univariat

a. Distribusi Frekuensi Hasil Pemeriksaan Kadar Trombosit

Berdasarkan hasil pemeriksaan darah rutin diperoleh distribusi penderita *ca mammae* stadium lanjut lokal berdasarkan kadar trombosit dapat dilihat pada tabel berikut ini :

Tabel 2. Distribusi frekuensi penderita *ca mammae* stadium lanjut lokal berdasarkan kadar trombosit

Kadar Trombosit	Frekuensi (n)	Presentase(%)
Normal	19	76
Abnormal	6	24
Total	25	100

Berdasarkan **Tabel 2** diatas menjelaskan tentang distribusi frekuensi penderita *ca mammae* stadium lanjut lokal berdasarkan kadar trombosit diperoleh hasil normal sebanyak 19 responden dengan presentase 76% dan abnormal sebanyak 6 responden dengan presentase 24%.

b. Distribusi Frekuensi Hasil Pemeriksaan Kadar RDW-CV

Berdasarkan hasil pemeriksaan darah rutin diperoleh distribusi penderita *ca mammae* stadium lanjut lokal berdasarkan kadar RDW-CV dapat dilihat pada tabel berikut ini :

Tabel 3. Distribusi frekuensi penderita ca mammae stadium lanjut lokal berdasarkan kadar RDW-CV

Kadar RDW-CV	Frekuensi (n)	Presentase(%)
Normal	15	60
Tinggi	10	40
Rendah	0	0
Total	25	100

Berdasarkan **Tabel 3** diatas menjelaskan tentang distribusi frekuensi penderita *ca mammae* stadium lanjut lokal berdasarkan kadar RDW-CV diperoleh hasil normal sebanyak 15 responden dengan presentase 60% dan RDW-CV tinggi

sebanyak 10 responden dengan presentase 40%.

d. Distribusi Frekuensi Hasil Pemeriksaan Kadar RDW-SD

Berdasarkan hasil pemeriksaan darah rutin diperoleh distribusi penderita *ca mammae* stadium lanjut lokal berdasarkan kadar RDW-SD dapat dilihat pada tabel berikut ini :

Tabel 4. Distribusi frekuensi penderita ca mammae stadium lanjut lokal berdasarkan kadar RDW-SD

RDW-SD	Frekuensi (n)	Presentase(%)
Normal	20	80
Tinggi	0	0
Rendah	5	20
Total	25	100

Berdasarkan Tabel 4 diatas menjelaskan tentang distribusi frekuensi penderita *ca mammae* stadium lanjut lokal berdasarkan kadar RDW-SD diperoleh hasil normal sebanyak 20 responden dengan presentase 80% dan RDW-SD rendah sebanyak 5 responden dengan presentase 20%.

3. Analisis Bivariat

Analisis hubungan kadar trombosit dan *Red Cell Distribution Width* (RDW) pada penderita *ca mammae* stadium lanjut lokal dapat dilihat pada tabel berikut ini:

Tabel 5. Hasil Uji Korelasi Spearman Kadar Trombosit dan Kadar RDW-CV

Variabel	Mean	Signifikansi *(p)*	*r*
Kadar trombosit	307.16	0.58	0.11
Kadar RDW- CV	14.47		

Tabel 6. Hasil Uji Korelasi Spearman Kadar Trombosit dan Kadar RDW-SD

Variabel	Mean	Signifikansi *(p)*	*r*
Kadar trombosit	307.16	0.37	-
Kadar RDW- SD	43.51		0.18

Data pada Tabel 5 dan Tabel 6 secara berurutan menunjukkan tidak adanya hubungan signifikan. Hasil nilai signifikansi (*p*) dari korelasi antara trombosit dan RDW-CV diperoleh *p* = 0.58, nilai *r* = 0.11 (**Tabel 5**). Hasil nilai signifikansi dari korelasi antara trombosit dan RDW-SD yaitu *p* = 0.37, nilai *r* = -0.18 (**Tabel 6**)

DISKUSI

Kanker payudara stadium lanjut lokal merujuk pada kanker yang telah menyebar dari payudara ke jaringan atau kelenjar getah bening di dekatnya (biasanya ketiak atau dinding dada), namun belum bermetastasis ke organ jauh. Tumor berukuran besar (biasanya >5 cm) atau tumor yang sudah menembus kulit atau dinding dada (otot di bawah payudara) (Juliana *et all*, 2024). Kelainan hematologis pada penderita kanker dapat timbul akibat metastasis ke sumsum tulang, yang diduga memiliki karakteristik klinis berbeda dari metastasis tulang konvensional. Meskipun laporan otopsi menunjukkan adanya temuan sel kanker payudara secara subklinis di sumsum tulang, kejadian kanker payudara yang bermanifestasi dalam bentuk kelainan hematologi akibat penyebaran karsinomatosis di tulang jarang ditemukan (Anjelia, 2024).

Distribusi usia diperoleh presentase paling tinggi yaitu usia 36 – 55 tahun sekitar 80% (**Tabel 1)**. Faktor yang sangat berperan dalam terjadinya kanker payudara adalah usia. Usia tua lebih beresiko dari usia muda. Seorang yang berusia 50 tahun memiliki delapan kali lipat berpeluang untuk terserang kanker payudara. Menurut Faida (2016) dalam penelitiannya menunjukan mayoritas penderita kanker payudara berusia di atas 50 tahun. Beberapa hasil penelitian melaporkan risiko kanker payudara meningkat sejalan dengan bertambahnya usia. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Abd. Mirsyad (2022) menemukan bahwa seiring bertambahnya usia seorang wanita, se-sel lemak di payudaranya cenderung akan menghasilkan enzim aromatase dalam jumlah yang besar, yang pada akhirnya akan meningkatkan kadar estrogen lokal. Estrogen yang diproduksi secara lokal inilah yang berperan dalam memicu kanker payudara pada wanita pasca menopause.

Berdasarkan data dari *Surveillance, Epidemiology, and End Results* (SEER), risiko seorang wanita untuk menderita kanker payudara adalah sebesar 1:8 seumur hidup, dengan risiko kumulatif terdiagnosis 12,9%. Dimana terjadi 1:204 kasus dari usia sejak lahir hingga 39 tahun dengan risiko kumulatif terdiagnosis 0,49%, 1:25 kasus pada usia 40 – 59 tahun dengan risiko kumulatif

terdiagnosis 3,94%, dan 1:28 kasus dari usis 60 – 69 tahun dengan risiko kumulatif terdiagnosis 3,54% (SEER, 2015).

Pada **Tabel 2** menunjukkan bahwa sebagian pasien kadar trombosit batas normal setelah terapi, hal ini efektif dapat menjadi penanda respons positif pengobatan. Hal ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Fahdrin et all (2023) menunjukkan Pada *ca mammae* (kanker payudara) stadium lanjut lokal, jumlah trombosit meningkat (*trombositosis*) akibat rangsangan sumsum tulang oleh sitokin proinflamasi, seperti IL-6, yang dihasilkan oleh tumor maupun jaringan sekitarnya. Peningkatan ini menandakan adanya aktivitas inflamasi sistemik dan tingginya beban tumor, serta dikaitkan dengan prognosis yang kurang baik, risiko progresi penyakit (Fahdrin *et all*, 2023).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada pasien kanker payudara stadium lanjut lokal, mayoritas memiliki kadar RDW-CV normal (60%) dan RDW-SD normal (80%), kadar RDW-CV tinggi (40%) dan RDW-SD rendah (20%) (**Tabel 3** dan **Tabel 4)**. Temuan ini mengindikasikan adanya variasi heterogenitas ukuran eritrosit di antara pasien, yang kemungkinan dipengaruhi oleh perbedaan status inflamasi, nutrisi, dan respons tubuh terhadap kanker maupun terapi.

Distrubusi hasil RDW normal lebih dominan, kondisi ini dapat terjadi karena meskipun kanker payudara stadium lanjut lokal menimbulkan proses inflamasi kronis, namun tidak selalu menyebabkan gangguan eritropoiesis yang signifikan atau infiltrasi sumsum tulang. Selain itu, sebagian besar pasien kanker menjalani terapi suportif seperti transfusi darah, maupun perbaikan status nutrisi, sehingga kadar RDW tetap berada dalam rentang normal (Hadiyanto *et all*, 2020). Hal ini sejalan dengan penelitian Patel *et all*. (2019) yang melaporkan bahwa peningkatan RDW berkaitan dengan peningkatan risiko mortalitas pada pasien kanker, sedangkan normalisasi RDW dapat mengindikasikan respons terapi yang baik.

Kedua indikator hematologis ini dapat dipengaruhi oleh proses inflamasi sistemik yang kerap menyertai kanker payudara stadium lanjut. Inflamasi kronis, melalui peran sitokin seperti IL-6 dan TNF-α, berkontribusi dalam mengganggu mekanisme eritropoiesis, mempercepat kematian sel darah merah (apoptosis), serta menyebabkan defisiensi zat besi melalui induksi hepsidin (Zhang *et all*, 2020). Selain itu, RDW-CV memiliki peran sebagai penanda inflamasi sistemik

yang dapat menggambarkan derajat keparahan kanker dan prognosisnya, nilai tinggi sering berhubungan dengan stadium yang lebih berat, survival yang rendah, dan penurunan kualitas hidup (Hu *et all*, 2017).

Pada sebagian kecil pasien, ditemukan nilai RDW-SD yang rendah. Kondisi ini pada kanker payudara stadium lanjut bisa terjadi bila eritrosit yang beredar memiliki ukuran hampir seragam, sebagai akibat dari gangguan eritropoiesis global yang ditimbulkan oleh inflamasi parah atau infiltrasi sumsum tulang oleh sel kanker. (Hu *et all*, 2017). Hal ini berbanding terbalik dengan penelitian Huang *et all* (2016) yang mendapatkan hasil lebih banyak pasien dengan RDW rendah yaitu sekitar 161 pasien (-13,75%) dan 42 pasien dengan RDW tinggi (>13,75%). Pada kelompok RDW tinggi, terdapat lebih banyak pasien dengan ukuran tumor yang lebih besar (P¼0,002), dan stadium lanjut (P¼0,004). Secara klinis, baik RDW-CV maupun RDW-SD dapat menjadi indikator prognosis pada kanker payudara stadium lanjut lokal.

Berdasarkan hasil uji korelasi *spearman*, hubungan antara kadar trombosit dan RDW-CV menghasilkan nilai signifikansi (p) sebesar 0,58 serta koefisien korelasi (r) sebesar 0,11 (**Tabel 5**). Nilai p yang melebihi 0,05 menandakan bahwa hubungan ini tidak signifikan secara statistik. Adapun hubungan kadar trombosit dengan RDW-SD menunjukkan nilai p sebesar 0,37 dan koefisien korelasi (r) sebesar -0,18 (**Tabel 6)**. Hasil ini juga mengindikasikan tidak adanya hubungan signifikan. Tidak signifikanya hubungan ini dapat dijelaskan oleh perbedaan mekanisme fisiologis.

Hal ini berbanding terbalik dengan penelitian Liu *et all* (2020) yang menyatakan ada hubungan terkait jumlah trombosit tinggi dengan prognosis yang buruk pada pasien kanker payudara. Pada pasien kanker payudara stadium lanjut lokal, perubahan parameter hematologi seperti trombosit dan RDW dapat terjadi akibat proses keganasan maupun efek terapi.

Aspek terapi merupakan faktor yang patut diperhitungkan. Kemoterapi merupakan pengobatan pasien dengan kanker payudara yang bekerja melalui penggunaan obat-obatan sitotoksik guna menghambat proliferasi sel kanker (Aqila *et all* 2025). Pemberian kemoterapi dapat menghambat fungsi sumsum tulang sehingga menurunkan produksi seluruh jenis sel darah. Setelah periode supresi, jumlah trombosit umumnya pulih lebih cepat, sedangkan eritrosit

memerlukan waktu lebih panjang untuk kembali ke ukuran normal. Kondisi ini dapat menyebabkan nilai RDW tetap tinggi walaupun kadar trombosit telah mengalami perbaikan. Hal ini sejalan dengan studi Cassie *et all* (2025) menyatakan berbagai pasien kanker yang menjalani kemoterapi sering mengalami perubahan profil hematologi. Pengobatan kanker memiliki efek samping pada jenis sel darah normal. Obat-obatan yang digunakan dalam pengobatan ini bersifat sitotoksik terhadap sel-sel aktif.

KESIMPULAN

Berdasarkan dari hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Kadar trombosit pada penderita *ca mammae* stadium lanjut lokal didapatkan hasil normal sebanyak 76% dan kadar trombosit abnormal sebanyak 24%.
2. Kadar RDW-CV kategori tinggi yaitu sebanyak 40%. Sedangkan pada kadar RDW-SD rendah yaitu sebanyak 20%.
3. Tidak adanya hubungan antara kadar trombosit dan *Red Cell Distribution Width* (RDW) pada penderita *ca mammae* stadium lanjut lokal diperoleh hasil nilai signifikansi (*p*) dari korelasi antara trombosit dan RDW-CV diperoleh $p = 0.58$, nilai $r = 0.11$. Hasil nilai signifikansi dari korelasi antara trombosit dan RDW-SD yaitu $p = 0.37$, nilai $r = -0.18$.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada pihak RSUD Provinsi Sulawesi Tenggara dalam memberikan izin untuk pengambilan data populasi dan sampel penelitian. Terima kasih juga kami ucapkan kepada prodi D4 Teknologi Laboratorium Medik Fakultas Sains dan Teknologi dan Lembaga Penelitian Dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Mandala Waluya.

KONFLIK KEPENTINGAN

Pada penelitian ini tidak ada konflik kepentingan dengan instansi/perorangan manapun.

REFRENSI

Amudi, T. & Stella, P., (2021). Gagal Ginjal Kronik Hemodialisis dengan Kadar Eritropoietin dan Hemoglobin Normal: Laporan Kasus. *Medical Scope Journal*, 2(2):73-77.

Anjelia, F. (2024). Tingkat Kecemasan Dengan Kepatuhan Kemoterapi Dan Kualitas Hidup Pasien Kanker Payudara Stadium I Di Ruang Thursina 2 RSUD dr. Zainoel Abidin Banda Aceh (Doctoral dissertation, Universitas Bina Bangsa Getsempena).

Aqila TP, N., Siswandi, A., Hatta, M., & Kumala, I. (2025). Hubungan Antara Kemoterapi Dengan Kejadian Anemia Pada Pasien Kanker Payudara Di Rumah Sakit Umum Daerah Dr. H. Abdul Moeloek. *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan*, *12*(7), 1559-1564.

Cassie, T. D., Yimenu, B. W., Baye Temesgen, G., Shimelash, R. A., & Abneh, A. A. (2025). Differences in the count of blood cells pre-and post-chemotherapy in patients with cancer: a retrospective study (2022). *Frontiers in Medicine*, *12*, 1485676.

Etim, E. A., Emokpae, M. A., Ohwonigho, A. C., & Yusuf, A. A. (2018). Association of platelet count and platelet indices with stages of women breast cancer in Yola, Nigeria. *Hematol Transfus Int J*, *6*(1), 20-23.

Fahdrin, A., Sampepajung, E., Pieter, J., Kasim, F., Smaradhania, N., Prihantono, P., ... & Faruk, M. (2023). Platelet count and breast cancer stage. *Breast Disease*, *41*(1), 489-493.

Faida, E. W. (2016). Analisa pengaruh faktor usia, status pernikahan dan riwayat keluarga terhadap pasien kanker payudara di Rumah Sakit Onkologi Surabaya. Jurnal Manajemen Kesehatan Yayasan RS. Dr. Soetomo, 2(1), 1-7.

Hadiyanto, J. N., Gracia, M., Cahyadi, A., & Steffanus, M. (2018). Anemia Penyakit Kronis. *Journal Of The Indonesian Medical Association*, *68*(10), 443-450.

Hu, L., Li, M., Ding, Y., Pu, L., Liu, J., Xie, J., Cabanero, M., & Li, J. (2017). Prognostic value of RDW in cancers: A systematic review and meta-analysis. *Oncotarget*, *8*(9), 16027–16035.

Juliana, A., Budiwinata, W., & Oktaviyanti, I. K. (2024). Hubungan Predisposisi Dengan Keterlambatan Berobata Pasien Kanker Payudara Lnajut Lokal. *Homeostasis*, *7*(2), 227-242.

Lee, H. S., Jung, E. J., Kim, J. M., Kim, J. Y., Kim, J. R., Kim, T. H., Jang, J. Y., Woo, J. W., Lee, J., Park, T., & Jeong, S. H. (2022). The usefulness of red blood cell distribution width and its ratio with platelet count in breast cancer after surgery and adjuvant treatment: a retrospective study. *Gland Surgery*, *11*(12), 1864–1873. https://doi.org/10.21037/gs-22-410.

Liu, S., Fang, J., Jiao, D., & Liu, Z. (2020). Elevated platelet count predicts poor prognosis in breast cancer patients with supraclavicular lymph node metastasis. *Cancer Management and Research*, 12, 6069-6075.

Mirsyad, A., Gani, A. B., Karim, M., Purnamasari, R., Karsa, N. S., & Tanra, A. H. (2022). Hubungan usia pasien dengan tingkat stadium kanker payudara di RS Ibnu sina Makassar 2018. *Fakumi Medical Journal: Jurnal Mahasiswa Kedokteran*, *2*(2), 109-115.

Nabilah, A., Prabowo, W. C., & Kuncoro, H. (2024). Pengaruh Kemoterapi terhadap Kadar Hematologi pada Pasien Kanker Payudara di RSUD dr. Kanujoso Djatiwibowo Balikpapan. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, *10*(1), 69-76..

Nurhayati, N., Arifin, Z., & Hardono, H. (2019). Kejadian Kanker Payudara (Studi Retrospektif) Di Lampung, Indonesia. *Holistik Jurnal Kesehatan, 13*(2), 172–183. https://doi.org/10.33024/hjk.v13i2.1052

Patel, K. V., Ferrucci, L., Ershler, W. B., Longo, D. L., & Guralnik, J. M. (2019). Red blood cell distribution width and the risk of death in middle-aged and older adults. *Archives of internal medicine*, *169*(5), 515-523.

Rosyidah, N. N., & Supriani, A. (2023). Pengaruh Pendidikan Kesehatan Tentang SADARI Dengan Media Demonstrasi Dan Video Terhadap Perilaku SADARI Pada Remaja Putri. *Pengembangan Ilmu dan Praktik Kesehatan*, *2*(6), 332-340.

Sandan, A. D. K., I Wayan, S., Adiputra, P. A. T., (2025). Analisis Kelangsungan Hidup Pasien Kanker Payudara Muda Berdasarkan Jumlah Distribusi Lebar Sel Merah (RDW) di Prof Dr. I.G.N.G Rumah Sakit Ngoerah Denpasar. *Jurnal Internasional Kemajuan Ilmiah*, 6(2), 297-302.

Veronica, E., Simanjutak, H., Karsidah, K., Sintia, L., Winasari, M., Hayati, N., ... & Windasari, W. (2024). Pelatihan Pemeriksaan Payudara Sendiri (SADARI) Untuk Deteksi Dini Kanker Payudara Pada Wus Di Posyandu Desa Sukatenang Tahun 2024. *Jurnal Pengabdian kepada Masyarakat Nusantara*, *5*(2), 2043-2049.

Yuniastini, E. M., Wiratmoko, W., & Februase, E. A. (2022). Survival Life Penderita Kanker Payudara Berdasarkan Stadium Di Rumah Sakit Umum Daerah Dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung. *MAHESA: Malahayati Health Student Journal*, *2*(2), 371-379.

Zhang, L., Yu, C. H., Guo, K. P., Huang, C. Z., & Mo, L. Y. (2020). Prognostic role of red blood cell distribution width in patients with sepsis: a systematic review and meta-analysis. *BMC immunology*, *21*(1), 40.

PERBEDAAN PERTUMBUHAN JAMUR *Candida albicans* PADA MEDIA ALTERNATIF KACANG KEDELAI *(Glycine max (L.) Merrill)* DAN *SABORAUD DEXTROSE AGAR* (SDA)

Fina Fitrotul Azlina[1]*

[1]D4 Teknologi Laboratorium Medis, STIKES Hutama Abdi Husada Tulungagung, Jawa Timur, Indonesia

e-Mail : finaazlina918@gmail.com
No Tlp WA : 082142784491

Abstract

Candida albicans is a pathogenic fungus that causes candidiasis. Laboratory diagnosis of candidiasis can be performed by culturing the specimen.. This culture medium is not easily available and the price is relatively expensive, this can hinder the diagnosis of Candida albicans infection. Soya beans have complex nutritional content so that they can be used as an alternative medium for growing Candida albicans. This study aims to see the difference in the growth of Candida albicans fungi on alternative media soya beans and Saboraud Dextrose Agar (SDA) media. This research was conducted in March-April 2025 using quantitative methods with Post Test Only Control Group Experiment design. The sample of this study was Candida albicans ATCC-14053 fungal isolate which was then inoculated on alternative media of soya beans and SDA and then incubated for 24 hours. The results of colony growth on both media were calculated to see the difference in the growth of Candida albicans fungi on both media. The results showed that the average number of Candida albicans colonies on soya bean media reached 98 colonies, while on SDA media only 31 colonies. Independent T-test statistical test showed a p-value = 0.002 (p < 0.05) so that H0 was rejected, indicating that there was a significant difference in fungal growth on alternative media of soya beans and SDA. The conclusion of this study is that the average number of Candida albicans colonies on the alternative soybean medium was 98 colonies, while on the SDA medium, 31 colonies were obtained, indicating that the alternative soybean medium can support the growth of Candida albicans in a more economical and environmentally friendly manner compared to the SDA medium. This study is expected to contribute to the development of culture media for the diagnosis of fungal infections.

***Keywords** : Candida albicans, Soya beans, Sabouraud Dextrose Agar (SDA), Alternative fungal growth media.*

Abstrak

Candida albicans merupakan jamur patogen penyebab penyakit kandidiasis. Diagnosa laboratorium kandidiasis dapat dilakukan dengan kultur terhadap spesismen. Media kultur ini tidak mudah didapatkan dan harganya yang relatif mahal, hal ini dapat menghambat diagnosis terhadap infeksi Candida albicans. Kacang kedelai memiliki kandungan nutrisi yang kompleks sehingga dapat dijadikan sebagai media alternatif untuk menumbuhkan Candida albicans. Penelitian ini bertujuan untuk melihat perbedaan pertumbuhan jamur Candida albicans pada media alternatif kacang kedelai dan media Saboraud Dextrose Agar (SDA). Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret-April tahun 2025 mengunakan metode kuantitatif dengan desain Eksperiment Post Test Only Control Group. Sampel penelitian ini adalah isolat jamur Candida albicans ATCC-14053 yang kemudian di inokulasikan pada media alternatif kacang kedelai dan SDA lalu di inkubasi selama 24 jam. Hasil pertumbuhan koloni yang tumbuh pada kedua media dihitung untuk melihat perbedaan pertumbuhan jamur Candida albicans pada kedua media. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rerata jumlah koloni Candida albicans pada media kacang kedelai mencapai 98 koloni, sedangkan rerata pada media SDA hanya 31 koloni. Uji statistik Independent T-test menunjukkan nilai p-value = 0,002 (p < 0,05) sehingga H0 ditolak yang mengindikasikan bahwa terdapat perbedaan signifikan

dalam pertumbuhan jamur pada media alternatif kacang kedelai dan SDA. Kesimpulan dari penelitian ini adalah didapatkan rerata jumlah koloni Candida albicans pada media alternatif kacang kedelai sebanyak 98 koloni sedangkan pada media SDA didapatkan 31 koloni yang mengindikasikan bahwa media alternatif kacang kedelai dapat mendukung pertumbuhan Candida albicans yang lebih ekonomis serta ramah lingkungan dibandingkan media SDA. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi bagi pengembangan media kultur dalam diagnostik infeksi jamur.
Kata Kunci : *Candida albicans*, Kacang kedelai, *Saboraud Dextrose Agar* (SDA), Media alternatif pertumbuhan jamur.

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki iklim tropis yang lembap sehingga menciptakan kondisi yang sangat baik bagi pertumbuhan berbagai mikroorganisme, termasuk jamur. Salah satu jenis jamur yang signifikan dalam konteks infeksi pada manusia adalah *Candida albicans*. Jamur ini dapat menyebabkan infeksi yang dikenal sebagai kandidiasis (Jiwantarum dkk, 2017).

Menurut *World Health Organization* (WHO), kandidiasis adalah infeksi jamur yang cukup umum terjadi, dengan prevalensi serangan pada perempuan mencapai 10-15% dari total 100 juta perempuan di seluruh dunia setiap tahunnya. Kasus kandidiasis tergolong tinggi setiap tahun, salah satunya yaitu di Indonesia yang memiliki iklim tropis dengan suhu udara dan kelembaban cukup tinggi. Pada tahun 2011-2013 didapatkan 114 pasien infeksi pada kulit dan 23 pasien infeksi pada kuku yang paling banyak terjadi pada perempuan dimana pada tahun 2011 (54,3%), 2012 (80%) dan 2013 (56,6%) (Putri, 2023) Prevalensi kandidiasis di Indonesia terutama pada wanita sebesar 80-90%. (Sari & Badar, 2019).

Infeksi jamur *Candida albicans* yang tidak segera diobati dapat semakin berkembang menjadi infeksi kronis dan akan meningkat. Dengan kondisi lingkungan yang mendukung pertumbuhan jamur ini, penting untuk memahami faktor-faktor risiko dan melakukan upaya pencegahan untuk mengurangi kejadian infeksi (Yusran & Malan, 2020). Diagnosis laboratorium penyakit kandidiasis dapat dilakukan dengan cara melakukan kultur terhadap spesimen. Dalam sistem kultur penyakit kandidiasis dilakukan dengan mengisolasi jamur *Candida albicans* dari sampel pasien pada media. Salah satu contoh media sintetik yang efektif untuk pertumbuhan Candida albicans adalah *Saboraud Dextrose Agar* (SDA) (Jiwintarum dkk., 2017).

Aini (2015) menjelaskan bahwa media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) tersedia dalam bentuk instant dibuat oleh pabrik-pabrik atau perusahaan tertentu dalam bentuk sediaan siap pakai (*ready for use*), harganya mahal dan hanya dapat diperoleh pada tempat tertentu, hal ini dapat menghambat diagnosis terhadap infeksi *Candida albicans*. Disamping harga media instant yang mahal, ada banyak bahan-bahan alami yang mengandung karbohidrat, protein, dan lemak yang mendorong peneliti untuk menemukan media alternatif dari bahan-bahan yang mudah didapat, dan tidak memerlukan biaya yang mahal. Melihat kondisi ini, banyak peneliti mulai mencari media alternatif yang terbuat dari bahan-bahan alami yang lebih mudah didapat, serta tidak memerlukan biaya yang tinggi.

Hasil penelitian yang dilakukan Tamam (2019) menunjukkan bahwa media dari sumber karbohidrat yaitu kedelai (*Glycine max (L.) Merrill*) dapat digunakan sebagai media alternatif untuk menumbuhkan jamur *Candida albicans*. Selain itu, penelitian yang dilakukan Rahman dkk. (2020) juga menunjukkan bahwa serbuk kedelai sangat efektif dalam pertumbuhan jamur *Candida albicans* pada konsentrasi 5% dan 7%. Hal ini menunjukkan bahwa nutrisi yang kompleks pada kedelai dimanfaatkan oleh *Candida albicans* untuk tumbuh dan berkembang.

Kacang kedelai (*Glycine max (L.) Merrill*) merupakan salah satu sumber protein nabati yang sangat populer di Indonesia. Kacang kedelai memiliki potensi yang besar untuk digunakan sebagai media alternatif pertumbuhan jamur, terutama sebagai pengganti media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) (Lin & Wu, 2021). Dengan kandungan nutrisi yang baik, termasuk minyak (18%), karbohidrat (35%), dan mineral (5%), kacang kedelai menawarkan sumber nutrisi yang berguna bagi pertumbuhan jamur (Logo dkk., 2018). Kementan mencatat, sejauh ini ada enam varietas unggul kedelai lokal : Dega 1, Detap 1, Dena 1, Dering 1, Anjasmoro, dan Grobogan. Varietas kacang kedelai yang digunakan dalam penelitian ini adalah Varietas Grobogan yang juga merupakan kedelai unggulan yang dikeluarkan oleh BALITKABI pada tahun 2008. Varietas Grobogan memiliki berat 100 biji ±18 gram dengan kandungan protein 43,9% dan lemak 18,4%. (BALITKABI, 2016).

Dengan memanfaatkan sumber daya alam ini, penelitian dan pengembangan media pertumbuhan jamur dapat dilakukan dengan lebih efisien

dan ramah lingkungan. Berdasarkan uraian di atas, peneliti tertarik melakukan penelitian untuk melihat perbedaan pertumbuhan jamur *Candida albicans* pada media alternatif kacang kedelai (*Glycine max (L.) Merill*) dan *Saboraud Dextrose Agar* (SDA).

BAHAN DAN METODE

Populasi yang diambil dalam penelitian ini adalah jamur *Candida albicans*, sedangkan untuk sampelnya menggunakan isolat jamur *Candida albicans* yang didapatkan dari Agavi Laboratorium Bandung Jawa Barat.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : neraca analitik, batang pengaduk, gelas beker, gelas ukur, erlenmeyer, cawan petri, bunsen, korek api, kaki tiga, kawat kasa, saringan, kompor, autoclave, inkubator, oven, sendok tanduk, *colony counter*, ose bulat, kapas berlemak, tali, object glass, cover glass, *pH meter*, tabung reaksi, rak tabung, mikropipet dan tip.

Sedangkan bahan-bahan yang dibutuhkan antara lain : kacang kedelai Varietas Grobogan, serbuk *Saboraud Dextrose Agar*, serbuk Agar Bacteriological, Glukosa, NaCl fisiologis steril, BaCl2, H2SO4, Aquades, dan Chloramphenicol.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi STIKES Hutama Abdi Husada Tulungagung. Adapun prosedur dari penelitian ini meliputi beberapa tahapan, antara lain :

A. Pembuatan Media

1. Media alternatif kacang kedelai *(Glycine max. (L.) Merrill)*
    a. Ditimbang sampel kacang kedelai sebanyak 96 gram, 3,2 gram glukosa, dan 4,8 gram agar menggunakan timbangan analitik.
    b. Dimasukkan 96 gram sampel kacang kedelai kedalam panci.
    c. Ditambahkan Aquades 320 ml, kemudian direbus menggunakan kompor sampai mendidih.
    d. Diperas dan diambil sari patinya setelah mendidih dan lunak.
    e. Dimasukkan sari pati kacang kedelai ke dalam erlenmeyer, kemudian dipanaskan kembali di atas bunsen.

f. Ditambahkan 3,2 gram gula dan 4,8 gram agar ke dalam sari pati kacang kedelai, kemudian diaduk sampai semua bahan homogen.
g. Diukur pH nya <7.0 menggunakan pH meter.
h. Dituangkan ke dalam erlenmeyer dan ditutup mulut erlenmeyer dengan kapas berlemak lalu di tutup erlenmeyer dengan kertas bungkus.
i. Dilakukan proses sterilisasi media menggunakan autoclave selama 15 menit dengan suhu 121°C.
j. Ditambahkan 0,1 gram antibiotik kloramfenikol lalu dihomogenkan hingga larut sempurna dengan menggoyangkan erlenmeyer.
k. Dituangkan media dalam 16 cawan petri sebanyak 15 – 20 ml yang dilakukan dengan steril di dekat nyala api bunsen.
l. Didiamkan media di dalam cawan petri sampai dingin dan memadat.

2. Media *Saboraud Dextrose Agar* (SDA)
   a. Ditimbang serbuk Media *Saboroud Dextrose Agar* (SDA) sebanyak 20,8 gram.
   b. Dipindahkan serbuk Media *Saboroud Dextrose Agar* (SDA) dalam erlenmeyer, kemudian ditambahkan aquades sebanyak 320 ml.
   c. Dipanaskan diatas bunsen dengan dihomogenkan menggunakan batang pengaduk.
   d. Diukur pH media dengan pH meter (pH <7.0).
   e. Ditutup mulut erlenmeyer dengan kapas berlemak dan dibungkus erlenmeyer dengan kertas bungkus.
   f. Disterilisasi dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit.
   g. Ditambahkan 0,1 gram antibiotik kloramfenikol lalu dihomogenkan hingga larut sempurna dengan menggoyangkan erlenmeyer.
   h. Dituang dalam 16 cawan petri masing-masing 20 ml yang dilakukan dengan steril di dekat nyala api bunsen.

B. Pembuatan Suspensi *Candida albicans* ATCC-14053
   1. Dilakukan pembuatan standart Mc. Farland 1 menggunakan 9,5 ml H2SO4 dengan 0,5 ml BaCl2, dimasukkan dalam tabung reaksi lalu dihomogenkan.
   2. Dimasukkan larutan NaCl fisiologis steril ± seperempat tabung reaksi

3. Diambil koloni jamur *Candida albicans* ATCC – 14053 menggunakan ose bulat yang sudah diflamming lalu dimasukkan dalam tabung reaksi yang sudah diisi dengan NaCl fisiologi steril.
4. Dihomogenkan suspensi *Candida albicans* ATCC-14053 dan disamakan kekeruhannya dengan Mc. Farland 1, apabila suspensi kurang keruh maka ditambahkan dengan isolat *Candida albicans* ATCC-14053 dan apabila suspensi terlalu keruh maka ditambakan dengan NaCl fisiologis steril hingga kekeruhannya sama dengan Mc.Farland 1

C. Tahap Inokulasi Jamur
1. Menyiapkan semua alat dan bahan. Proses inokulasi ini harus dilakukan secara steril di dekat nyala api bunsen dan melakukan disinfeksi tempat kerja (meja dan alat) untuk menghindari terjadinya kontaminasi.
2. Dilakukan proses sterilisasi jarum ose di atas api bunsen sampai berwarna merah dan biarkan dingin.
3. Diambil suspensi Jamur *Candida albicans* dengan jarum ose yang telah steril.
4. Diambil media biakan dan dilakukan penanaman suspensi jamur Candida albicans dengan menggunakan teknik gores kemudian ditutup kembali cawan petri.
5. Disterilkan kembali jarum ose agar biakan yang tertinggal mati.
6. Diinkubasi dalam inkubator selama 24 – 48 jam dengan suhu 37°C

D. Tahap Pengamatan

Pengamatan dilakukan dengan cara makroskopis yaitu dengan dilihat langsung dengan mata apakah pada media biakan ditumbuhi koloni, dan dilakukan pengitungan koloni menggunakan *Colony Counter*.

HASIL

Dalam penelitian ini, bertujuan untuk mengetahui apakah media dari bahan kacang kedelai dapat menjadi media alternatif yang dapat menumbuhkan jamur *Candida albicans* dengan cara melihat pertumbuan koloni jamur *Candida albicans*

pada media alternatif kacang kedelai varietas Grobogan dan membandingkannya dengan pertumbuan koloni jamur *Candida albicans* pada media *Saboraud Dextrose Agar* secara makroskopis.

Tabel 1. Karakteristik media pertumbuhan Jamur *Candida albicans*

Media Pertumbuhan Jamur	pH	Konsistensi
Kacang kedelai varietas Grobogan	6,0	Solid
Saboraud Dextrose Agar (SDA)	6,0	Solid

Berdasarkan pengukuran pH dan konsistensi pada media alternatif kacang kedelai varietas Grobogan dan media SDA, keduanya didapatkan hasil yang sama yaitu memiliki pH 6 dengan konsistensi solid.

Tabel 2. Jumlah koloni Jamur *Candida albicans* pada media pertumbuhan

Replikasi	Media alternatif kacang kedelai	Media Saboraud Dextrose Agar
1	198	45
2	259	15
3	172	19
4	60	12
5	88	24
6	35	29
7	49	51
8	44	22
9	107	10
10	58	19
11	48	36
12	129	44
13	103	49
14	63	28
15	95	53
16	59	39
Rerata	**98 koloni**	**31 koloni**

Berdasarkan penelitian ini didapatkan hasil jumlah koloni seperti pada tabel 4.2 dimana rerata koloni yang tumbuh pada media alternatif kacang kedelai varietas Grobogan adalah 98 koloni sedangkan pada media *Saboraud Dextrose*

Agar adalah 31 koloni.

Tabel 3. Uji Normalitas

	Kolmogorov-Smirnov		
	Statistic	**df**	**Sig.**
Media alternatif	.209	16	.059
Media SDA	.129	16	.200

Berdasarkan hasil uji normalitas *Kolmogorov smirnov* diketahui bahwa nilai Sig. Media Alternatif Kacang Kedelai adalah 0,059 dan nilai Sig media *Saboraud Dextrose Agar* (SDA) adalah 0,200 dimana Sig > 0,05 sehingga dapat diartikan bahwa kedua data tersebut berdistribusi normal.

Tabel 4. Uji Homogenitas

Jumlah Koloni	***Sig.***
Mean	0,002
Median	0,009

Berdasarkan hasil Uji Homogenitas didapatkan hasil mean 0,002 dan hasil median 0,009 dimana hasil < 0,05 yang menunjukkan data tidak homogen.

Tabel 5. Uji Statistik

Independent Sample Test	***Sig. (2-tailed)***
Jumlah Koloni	0,001

Berdasarkan hasil uji statistik *Independent T-test* menunjukkan bahwa nilai *p-value* = 0,001 dan α = 0,05 dimana *p-value* < α sehingga H0 ditolak dan H1 diterima. Maka dapat diartikan "Terdapat perbedaan pertumbuhan jamur *Candida albicans* pada media alternatif kacang kedelai (*Glycine max. (L.) Merrill*) *dan Saboraud Dextrose Agar* (SDA)".

DISKUSI

Pada tabel 1. diperoleh hasil pengukuran pH dan konsistensi pada media alternatif kacang kedelai varietas Grobogan memiliki pH 6,0 dengan konsistensi solid, sedangkan pada media *Saboraud Dextrose Agar* (SDA) juga memiliki pH 6,0

dengan konsistensi solid. Hal ini sesuai dengan teori Jiwintarum dkk. (2017) yang menyatakan bahwa *Candida albicans* mampu tumbuh optimal pada pH 4,5 – 6,5. Media alternatif kacang kedelai varietas Grobogan dan media *Saboraud Dextrose Agar* (SDA) keduanya berada dalam kisaran pH dan konsistensi yang sesuai untuk pertumbuhan jamur *Candida albicans*, hal ini menegaskan bahwa jamur *Candida albicans* dapat tumbuh dengan baik dalam kondisi tersebut.

Pada tabel 2. diperoleh Mean jumlah koloni jamur *Candida albicans* yang tumbuh pada media alternatif kacang kedelai varietas Grobogan adalah 98 koloni dan pada media *Saboraud Dextrose Agar* (SDA) adalah 31 koloni. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Rahman dkk. (2020) yang berjudul Efektivitas Berbagai Konsentrasi Serbuk Kedelai (*Glycine max (L.) Merill*) Sebagai Bahan Pengganti Pepton Pada Media Pertumbuhan *Candida albicans* menyatakan bahwa kandungan nutrisi yang kompleks pada kedelai dapat dimanfaatkan oleh *Candida albicans* untuk tumbuh dan berkembang. Penelitian ini sejalan dengan teori tersebut dimana rerata jumlah koloni yang tumbuh pada media alternatif kacang kedelai varietas Grobogan lebih banyak daripada media *Saboraud Dextrose Agar* (SDA). Berdasarkan rerata jumlah koloni, media kacang kedelai memiliki rerata koloni jamur yang tumbuh lebih banyak dibandingkan media *Saboraud Dextrose Agar* (SDA), hal ini dapat terjadi karena tingginya protein yang ada pada kacang kedelai varietas Grobogan yaitu 43,9%. Jamur *Candida albicans* akan memanfaatkan protein sebagai sumber nitrogen dan karbon untuk membangun sel-selnya dengan cara menguraikan protein-protein tersebut menjadi asam-asam amino (Silao & Ljungdahl, 2021). Hal ini menegaskan bahwa kedelai dapat dijadikan sebagai bahan pengganti pepton pada media pertumbuhan *Candida albicans*.

Berdasarkan Uji Normalitas menggunakan *Kolmogorov smirnov* pada tabel 3. Didapatkan hasil *Sig*. > 0,05 yang menunjukkan data berdistribusi normal. Berdasarkan Uji Homogenitas pada tabel 4. didapatkan hasil *Sig*. < 0,05 yang menunjukkan data tidak homogen. Pada penelitian ini digunakan Uji Statistik *Independent T-test* yang bertujuan membandingkan rata-rata dua group yang tidak berhubungan satu dengan yang lain pada skala data numerik. Berdasarkan

tabel 5. didapatkan nilai *p-value* = 0,002 dan α = 0,05 dimana *p-value* < α sehingga H0 ditolak dan H1 diterima yang berarti "Terdapat perbedaan pertumbuhan jamur *Candida albicans* pada media alternatif kacang kedelai (*Glycine max. (L.) Merrill*) dengan media *Saboraud Dextrose Agar* (SDA)". Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Rahman dkk. (2020) yang menyatakan bahwa koloni jamur *Candida albicans* tumbuh sangat efektif pada media alternatif kacang kedelai pada konsentrasi 5% dan 7% dibandingkan dengan media *Saboraud Dexrose Agar* (SDA). Berdasarkan jumlah koloni yang tumbuh pada kedua media ini, media alternatif kacang kedelai varietas Grobogan lebih banyak menumbuhkan jamur *Candida albicans* dibandingkan dengan media *Saboraud Dextrose Agar* (SDA).

Berdasarkan data hasil penelitian ini, jumlah koloni terbanyak yang tumbuh pada media *Saboraud Dextrose Agar* (SDA) adalah sebanyak 53 koloni, sedangkan jumlah koloni terbanyak pada media alternatif kacang kedelai varietas Grobogan adalah sebanyak 259 koloni. Perbedaan jumlah koloni pada masing-masing media dan setiap penggulangan media dapat disebabkan karena kemungkinan pada saat penuangan media pada cawan petri terjadi kontaminasi oleh udara, kelembaban, pH dan suhu pada setiap media yang berbeda-beda (Harahap, 2021). Suhu merupakan faktor penting dalam pertumbuhan *Candida albicans*. Jamur ini umumnya tumbuh dengan optimal pada suhu antara 30°C hingga 37°C. Suhu 37°C, yang merupakan suhu tubuh manusia, adalah kondisi ideal bagi *Candida albicans* untuk berkembang biak. Lama waktu inkubasi juga mempengaruhi pertumbuhan *Candida albicans*. Umumnya, waktu inkubasi yang direkomendasikan untuk pertumbuhan koloni jamur ini berkisar antara 24-48 jam. Selain itu, karena kandungan nutrisi yang berbeda dan kompleks maka mengakibatkan perbedaan pada jumlah dan ukuran jamur yang tumbuh antara satu media alternatif kacang kedelai dengan media *Saboraud Dextrose Agar* (SDA) memiliki perbedaan rerata yang signifikan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian "Perbedaan pertumbuhan jamur *Candida albicans* pada media alternatif kacang kedelai (*Glycine max. (L.) Merrill*) dan

Saboraud Dextrose Agar (SDA)" yang telah dilakukan dengan 16x pengulangan dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Rerata jumlah koloni jamur *Candida albicans* yang tumbuh pada media alternatif kacang kedelai varietas Grobogan adalah 98 koloni.
2. Rerata jumlah koloni jamur *Candida albicans* yang tumbuh pada media *Saboraud Dextrose Agar* (SDA) adalah 31 koloni.
3. Berdasarkan hasil statistik Independent T-test didapatkan nilai *p-value* = 0,002 dan α = 0,05 dimana *p-value* < α sehingga H0 ditolak dan H1 diterima yang berarti "Terdapat perbedaan pertumbuhan jamur Candida albicans pada media alternatif kacang kedelai (*Glycine max. (L.) Merrill*) dengan media *Saboraud Dextrose Agar* (SDA)".

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini dapat dilaksanakan dengan baik berkat bantuan dan dukungan dari berbagai pihak, untuk itu peneliti mengucapkan terima kasih kepada Ketua Program Studi Diploma IV Teknologi Laboratorium Medis STIKES Hutama Abdi Husada Tulungagung, sekaligus dosen pembimbing saya dan semua pihak yang terlibat dalam penelitian ini

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak terdapat adanya konflik kepentingan dalam penelitian yang telah dilakukan.

REFRENSI

Jiwintarum, Y., Urip, W. A., & Diarti, M. W. (2017). Media Alami untuk Pertumbuhan Jamur Candida Albicans Penyebab Kandidiasis dari Tepung Biji Kluwih (Artocarpus communis). *Jurnal Kesehatan Prima*, *11*(2), 158–170.

Lin, Y., & Wu, S. (2021). Vegetable Soybean (Glycine max (L.) Merrill.) Leaf Extracts: Functional Components And Antioxidant And Anti- Inflammatory Activities. *Journal of Food Science*, *86*(6), 2468–2480.

Logo, N. J. B., Zubaidah, S., & Kuswantoro, H. (2018). Karakteristik Morfologi Polong Beberapa Genotipe Kedelai (Glycine max L. Merill). *Seminar Hayati V Tahun 2017*.

Putri, S. N. (2023). *Media Alternatif untuk Pertumbuhan Jamur Menggunakan Sumber Karbohidrat yang Berbeda*. Skripsi, Universitas Abdurrab Pekanbaru.

Rahman, R., Widarti, W., Kalma, K., & Nihad, N. (2020). Efektivitas Berbagai Konsentrasi Serbuk Kedelai (Glycine Max (L.) Merill) sebagai Bahan Pengganti Pepton pada Media Pertumbuhan Candida Albicans. *Jurnal Media Analis Kesehatan*, *1*(1), 40–46.

Sari, D. P., & Badar, M. (2019). Hubungan Hygienitas Vagina dengan Kejadian Candidiasis Vaginalis pada Remaja di Puskesmas Tanjung Sengkuang Kota Batam Tahun 2018. *Jurnal STIKES Mitra Bunda Persada Batam*, *1*(1), 58–64.

Silao, F. G. S., & Ljungdahl, P. O. (2021). Amino Acid Sensing and Assimilation by the Fungal Pathogen Candida Albicans in the Human Host. *Pathogens*, *11*(1), 5.

Tamam, B. (2019). Potensi Kacang Kedelai sebagai Media Alternatif Pertumbuhan Jamur Candida albicans. *Journal of Chemical Information and Modeling*, *53*(9), 1689–1699.

Yusran, A., & Malan, E. S. (2020). Moringa Seed Extract Inhibits The Growth Of Candida albicans. *Makassar Dental Journal*, *9*(2), 105–109.

UJI EFEKTIVITAS JAMUR ENTOMOPATOGEN DARI TANAMAN KULIT PISANG MAS SEBAGAI BIOINSEKTISIDA PADA VEKTOR MEKANIK LALAT (*Musca domestica)*

Ani Umar[1] · Firdayanti[1] · Rena Andriani[1] · Asrianti Ena[1] · Marsya Patrisia[1] · Angriani Fusvita[2] · Muhammad Sultanul Aulya[2]

[1]Program Studi D3 Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Bina Husada Kendari, Sulawesi Tenggara, Indonesia
[2]Program Studi D4 Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Bina Husada Kendari, Sulawesi Tenggara, Indonesia

e-Mail: aniumar016@gmail.com
No Tlp WA : 085242011989

Abstract

*The housefly (*Musca domestica*) is a major mechanical vector responsible for transmitting various pathogenic microorganisms that cause diseases in humans and animals. The excessive use of chemical insecticides for fly control has led to resistance, environmental contamination, and ecological imbalance. Therefore, environmentally friendly alternatives such as entomopathogenic fungi are needed for sustainable vector management. This study aimed to evaluate the effectiveness of an entomopathogenic fungus isolated from banana peel (*Musa acuminata*) as a bioinsecticide against* M. domestica. *The isolation process was carried out using Potato Dextrose Agar (PDA) medium, and the identified fungal species was* Aspergillus niger. *The bioassay was performed using several spore dilution concentrations ranging from 10^{-1} to 10^{-6}, with ten flies used in each treatment. The results demonstrated that fly mortality increased proportionally with spore density. The highest mortality rate (100%) was observed at a 10^{-1} dilution, while the lowest (50%) occurred at 10^{-6}. These findings indicate that* A. niger *exhibits significant entomopathogenic activity against* M. domestica *and has strong potential as a natural bioinsecticide for environmentally sustainable fly control.*
Keywords: Aspergillus niger*, banana peel, entomopathogenic fungus,* Musca domestica

Abstrak

Lalat rumah (*Musca domestica*) merupakan salah satu vektor mekanik penting yang berperan dalam penyebaran berbagai penyakit pada manusia dan hewan. Penggunaan insektisida kimia dalam pengendalian lalat secara berkelanjutan dapat menimbulkan resistensi serta pencemaran lingkungan, sehingga diperlukan alternatif pengendalian yang ramah lingkungan seperti penggunaan jamur entomopatogen. Penelitian ini bertujuan untuk menguji efektivitas jamur entomopatogen yang diisolasi dari kulit pisang mas (*Musa acuminata*) sebagai bioinsektisida terhadap *M. domestica*. Isolasi dilakukan menggunakan media *Potato Dextrose Agar* (PDA), dan hasil identifikasi menunjukkan bahwa jamur entomopatogen yang berhasil diisolasi adalah *Aspergillus niger*. Uji efektivitas dilakukan dengan berbagai tingkat pengenceran suspensi spora, yaitu 10^{-1} sampai 10^{-6}, terhadap lalat uji sebanyak 10 ekor per perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tingkat mortalitas lalat berbanding lurus dengan kerapatan spora jamur. Efektivitas tertinggi diperoleh pada pengenceran 10^{-1} dengan tingkat kematian 100%, sedangkan efektivitas terendah terjadi pada pengenceran 10^{-6} sebesar 50%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa *A. niger* memiliki kemampuan patogenik yang signifikan terhadap lalat rumah dan berpotensi digunakan sebagai bioinsektisida alami dalam pengendalian populasi *M. domestica* secara ekologis dan berkelanjutan.
Kata kunci: *Aspergillus niger*, kulit pisang mas, jamur entomopatogen, *Musca domestica*.

PENDAHULUAN

Serangga memiliki peranan penting dalam ekosistem, baik sebagai penyerbuk, pengurai bahan organik, maupun sumber makanan bagi organisme lain. Namun, beberapa jenis serangga juga dikenal sebagai vektor penyakit yang merugikan manusia. Salah satu spesies yang berperan penting sebagai vektor mekanik adalah lalat rumah (*Musca domestica*). Serangga ini banyak ditemukan di lingkungan yang tidak higienis, seperti tempat pembuangan sampah, limbah organik, serta area penyimpanan makanan. Lalat rumah mampu membawa berbagai mikroorganisme patogen penyebab penyakit, antara lain *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus* (Septiana et al., 2019b). Kontaminasi makanan dan peralatan makan oleh lalat dapat berkontribusi sebagai vektor transmisi berbagai penyakit infeksi saluran pencernaan, seperti diare, demam tifoid, dan disentri, melalui perpindahan agen patogen secara mekanis (Manandhar & Gokhale, 2017).

Upaya untuk menekan populasi lalat selama ini sebagian besar masih mengandalkan penggunaan insektisida kimia. Meskipun cara ini terbukti efektif, pemakaian yang berlebihan dapat menimbulkan sejumlah dampak negatif seperti munculnya resistensi pada serangga, matinya organisme yang bukan sasaran, pencemaran lingkungan, serta adanya residu kimia pada produk pangan (Septiana et al., 2019a). Oleh sebab itu, dibutuhkan alternatif pengendalian yang ramah lingkungan, efektif, dan berkelanjutan. Salah satu pendekatan yang saat ini banyak dikembangkan adalah pengendalian hayati dengan memanfaatkan jamur entomopatogen, yaitu jamur yang secara alami mampu menginfeksi dan menyebabkan kematian pada serangga inangnya.

Jamur entomopatogen menginfeksi serangga melalui proses yang dimulai dengan perlekatan spora pada permukaan tubuh inang, kemudian menembus kutikula dengan bantuan enzim hidrolitik seperti kitinase, protease, dan lipase (Vajri et al., 2024). Setelah hifa berhasil menembus lapisan epidermis, jamur tumbuh dan berkembang di dalam hemolimfa serangga, mengganggu fungsi fisiologisnya hingga akhirnya menyebabkan kematian. Beberapa genus jamur yang diketahui memiliki kemampuan entomopatogenik meliputi Beauveria, *Metarhizium*, *Penicillium*, dan *Aspergillus* (Rindiani, 2024). Dari kelompok

tersebut, *Aspergillus niger* menjadi salah satu spesies yang menarik karena dapat menghasilkan enzim dan metabolit toksik seperti gliotoksin dan asam oksalat yang memperkuat proses infeksi terhadap serangga inang (Arthur, 2022).

Isolat jamur entomopatogen dapat diperoleh dari berbagai sumber bahan organik di lingkungan, salah satunya adalah kulit pisang mas (*Musa acuminata*). Kulit pisang merupakan limbah pertanian yang mengandung karbohidrat, protein, serta mineral dalam jumlah tinggi, sehingga menjadi media yang baik bagi pertumbuhan jamur saprofit seperti *A.niger* (Zakaria et al., 2018). Dalam kondisi lingkungan tertentu, *A. niger* dapat bersifat sebagai entomopatogen fakultatif, yaitu jamur yang biasanya hidup saprofit namun mampu menginfeksi serangga ketika situasi mendukung. Pemanfaatan kulit pisang sebagai sumber isolat jamur entomopatogen tidak hanya memiliki nilai ekologis karena membantu mengurangi limbah organik, tetapi juga berpotensi menghasilkan agen pengendali hayati alami yang efektif terhadap serangga vektor.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini dilakukan untuk menguji efektivitas jamur entomopatogen *A.niger* yang diisolasi dari kulit pisang mas sebagai bioinsektisida terhadap lalat rumah. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan metode pengendalian vektor mekanik yang lebih aman, ramah lingkungan, serta mendukung pemanfaatan sumber daya hayati lokal sebagai alternatif pengganti insektisida kimia sintetis.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan meliputi: biakan jamur entomopatogen (*A.niger*) yang diisolasi dari kulit pisang mas (*M.acuminata*), aquadest, Musca domestica, Potato Dextose Agar (PDA), dan Chloramphenicol.

Jenis penelitian ini adalah eksperimen. Penelitian eksperimen adalah kegiatan percobaan yang bertujuan untuk mengetahui kemungkinan sebab-akibat dengan cara memberikan satu atau lebih perlakuan kepada satu atau beberapa kelompok kontrol yang tidak diberi perlakuan. Kegiatan ini dilakukan

untuk mengetahui kematian lalat dengan uji efektivitas jamur entomopatogen (Sugiyono, 2015).

Penelitian ini dilaksanakan melalui beberapa tahapan yang meliputi: tahap pertama yaitu pemeliharaan *M.domestica* dari telur hingga menjadi imago. Tahap kedua dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Terpadu Politeknik Bina Husada Kendari dengan kegiatan inokulasi jamur entomopatogen pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*), dilanjutkan dengan proses pengenceran dan perhitungan kerapatan spora. Tahap ketiga dilakukan di Laboratorium Parasitologi Terpadu Politeknik Bina Husada Kendari, meliputi uji efektivitas jamur entomopatogen terhadap lalat *M.domestica* dengan menempatkan masing-masing 10 ekor lalat ke dalam chamber dan menyemprotkan suspensi jamur menggunakan metode *hand sprayer*. Tahap keempat berupa pengamatan tingkat mortalitas lalat pada interval waktu 12, 24, 36, dan 48 jam. Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 210 ekor lalat untuk setiap perlakuan , termasuk untuk kontrol negatif.

HASIL

Tabel 1. Jumlah kematian lalat (*Musca demostica*)

Pengenceran	Perlakuan	Jumlah lalat uji (ekor)	Jumlah kematian lalat (ekor)	Total kematian lalat	Rata-rata kematian	Efektivitas kematian (%)
10^{-1}	P1	10	10	30	10	100%
	P2	10	10			
	P3	10	10			
10^{-2}	P1	10	10	28	9,3	93%
	P2	10	9			
	P3	10	9			
10^{-3}	P1	10	9	25	8,3	83,3%
	P2	10	8			
	P3	10	8			
10^{-4}	P1	10	8	24	8	80%
	P2	10	8			
	P3	10	8			
10^{-5}	P1	10	7	20	6,7	67%
	P2	10	6			
	P3	10	7			
10^{-6}	P1	10	5	16	5	50 %
	P2	10	6			
	P3	10	5			
Kontrol Negatif	P1	10	0	0	0	0%
	P2	10	0			
	P3	10	0			

Berdasarkan hasil penelitian yang ditunjukkan pada Tabel 1, diperoleh bahwa efektivitas jamur entomopatogen terhadap kematian lalat *Musca domestica* bervariasi pada setiap tingkat pengenceran. Pada pengenceran 10^{-1}, tingkat kematian lalat mencapai 100% dengan rata-rata kematian 10 ekor pada setiap perlakuan, menunjukkan efektivitas tertinggi. Pengenceran 10^{-2} mengalami sedikit penurunan dengan efektivitas 93% dan rata-rata kematian 9,3 ekor. Selanjutnya, pada pengenceran 10^{-3} diperoleh efektivitas 83,3% dengan rata-rata kematian 8,3 ekor, sedangkan pada pengenceran 10^{-4} menunjukkan efektivitas 80% dengan rata-rata kematian 8 ekor. Pada pengenceran 10^{-5}, tingkat kematian menurun menjadi 67% dengan rata-rata kematian 6,7 ekor, dan pada pengenceran 10^{-6} efektivitas menurun lebih lanjut menjadi 50% dengan rata-rata kematian 5 ekor. Adapun pada kelompok kontrol negatif tidak ditemukan kematian lalat (0%), yang menandakan bahwa kematian pada kelompok perlakuan disebabkan oleh paparan jamur entomopatogen.

Tabel 2. Perhitungan Kerapatan Spora Jamur Entomopatogen

10^{-1}	K1 = 54 × 4 = 208 K2 = 40 × 4 = 160 K3 = 51 × 4 = 204 K4 = 45 × 4 = 180	N × 50 = 784 × 50 =39.200 × 10^{-2} = 392 × 10^{-2} = 39,2 × 10^{3}
10^{-2}	K1 = 31 × 4 = 124 K2 = 28 × 4 = 112 K3 = 40 × 4 = 160 K4 = 41 × 4 = 164	N × 50 = 560 × 50 = 28.000 × 10^{-2} = 280 × 10^{-2} = 2,8 × 10^{3}
10^{-3}	K1 = 29 × 4 = 116 K2 = 31 × 4 = 124 K3 = 25 × 4 = 200 K4 = 23 × 4 = 92	N × 50 = 532 × 50 = 26.600 × 10^{-2} = 266 × 10^{-2} = 26,6 × 10^{3}
10^{-4}	K1 = 16 × 4 = 64 K2 = 29 × 4 = 116 K3 = 25 × 4 = 200 K4 = 23 × 4 = 92	N × 50 = 472 × 50 = 23.600 × 10^{-2} = 236 × 10^{-2} = 23,6 × 10^{3}
10^{-5}	K1 = 19 × 4 = 76 K2 = 9 × 4 = 36 K3 = 24 × 4 = 96 K4 = 12 × 4 = 48	N × 50 = 256 × 50 = 12.800 × 10^{-2} = 128 × 10^{-2} = 12,8 × 10^{3}
10^{-6}	K1 = 18 × 4 = 72 K2 = 15 × 4 = 60 K3 = 10 × 4 = 40 K4 = 11 × 4 = 44	N × 50 = 216 × 50 =10.800 × 10^{-2} = 108 × 10^{-2} = 10,8 × 10^{3}

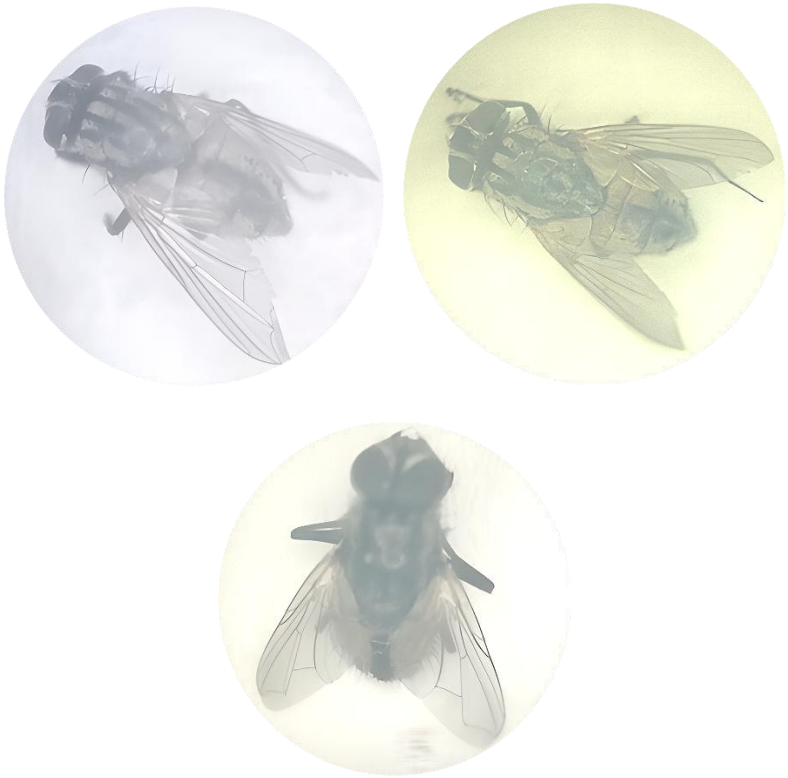
Ket : (N) Jumlah keseluruhan

Berdasarkan hasil yang disajikan pada Tabel 2 mengenai perhitungan kerapatan spora jamur entomopatogen pada berbagai tingkat pengenceran, diperoleh bahwa nilai kerapatan spora mengalami penurunan seiring dengan meningkatnya tingkat pengenceran. Pada pengenceran 10^{-1}, kerapatan spora mencapai nilai tertinggi yaitu $39{,}2\times10^3$, menunjukkan konsentrasi spora paling padat. Selanjutnya, pada pengenceran 10^{-2} nilai kerapatan spora menurun menjadi 28×10^3, sedangkan pada pengenceran 10^{-3} tercatat sebesar $26{,}6\times10^3$. Pengenceran berikutnya, 10^{-4}, menunjukkan nilai kerapatan sebesar $23{,}6\times10^3$, kemudian menurun lagi pada pengenceran 10^{-5} menjadi $12{,}8\times10^3$, dan terendah pada pengenceran 10^{-6} sebesar $10{,}8\times10^3$.

Tabel 3. Pengaruh jumlah rata-rata kerapatan spora jamur entomopatogen terhadap kematian lalat *(Musca domestica)* perlakuan 1, 2 dan 3

Pengenceran	Jumlah rata-rata kerapatan spora jamur entomopatogen (spora/ml)	Jumlah alat (*Musca domestica*) yang uji (ekor)	Perlakuan	Jumlah kematian					Efektivitas kematian (%)
				12 jam	24 jam	36 jam	48 jam	Total	
10^{-1}	$39{,}2\times10^3$	10	I	6	2	1	1	10	100%
			II	5	3	2	0	10	
			III	6	2	1	1	10	
10^{-2}	$2{,}8\times10^3$	10	I	5	3	1	1	10	93%
			II	5	1	1	2	9	
			III	4	2	0	3	9	
10^{-3}	$26{,}6\times10^3$	10	I	4	2	1	2	9	83,3%
			II	5	2	0	1	8	
			III	3	2	2	1	8	
10^{-4}	$23{,}6\times10^3$	10	I	3	2	0	3	8	80%
			II	4	1	1	2	8	
			III	3	2	3	1	8	
10^{-5}	$12{,}8\times10^3$	10	I	2	3	0	2	7	67%
			II	2	0	2	2	6	
			III	2	1	2	2	7	
10^{-6}	$10{,}8\times10^3$	10	I	2	1	1	1	5	50 %
			II	2	2	2	0	6	
			III	2	1	1	1	5	

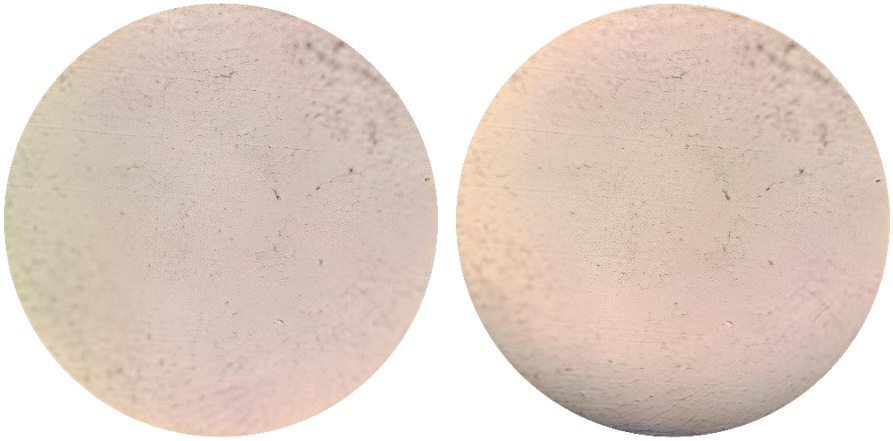
Berdasarkan hasil yang disajikan pada Tabel 3, menunjukkan bahwa terdapat hubungan antara kerapatan spora jamur entomopatogen dengan tingkat mortalitas lalat *Musca domestica*. Pada pengenceran 10^{-1} dengan kerapatan spora sebesar $39{,}2\times10^{3}$ spora/ml, tingkat kematian lalat mencapai 100%, menandakan efektivitas maksimum jamur dalam menyebabkan mortalitas. Pada pengenceran 10^{-2} dengan kerapatan $2{,}8\times10^{3}$ spora/ml, efektivitas kematian menurun menjadi 93%. Selanjutnya, pada pengenceran 10^{-3}dengan kerapatan $26{,}6\times10^{3}$ spora/ml, tingkat kematian sebesar 83,3%, sedangkan pada pengenceran 10^{-4} dengan kerapatan $23{,}6\times10^{3}$ spora/ml diperoleh efektivitas 80%. Pengenceran 10^{-5} dengan kerapatan $12{,}8\times10^{3}$ spora/ml menghasilkan efektivitas 67%, dan pengenceran 10^{-6} dengan kerapatan $10{,}8\times10^{3}$ spora/ml menunjukkan efektivitas terendah sebesar 50%.



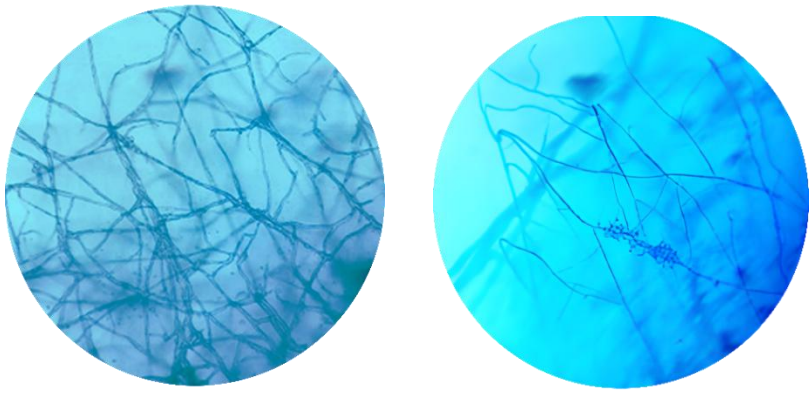
Gambar 1. Hasil Pengamatan



Gambar 2. Jamur entomopatogen (*A. niger*) secara makroskopis



Gambar 3. Spora jamur entomopatogen



a) b)

Gambar 4. a) Akar koloni hitam secara mikroskopis perbesaran 10×
b) Akar koloni hitam secara mikroskopis perbesaran 40×

DISKUSI

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jamur *A.niger* yang diisolasi dari kulit pisang mas *M.acuminata* yang memiliki kemampuan signifikan dalam menyebabkan kematian lalat *M.domestica*. Efektivitas infeksi jamur meningkat seiring dengan bertambahnya kerapatan spora, dengan tingkat kematian tertinggi (100%) pada pengenceran 10^{-1} dan terendah (50%) pada pengenceran 10^{-6}. Hasil ini memperlihatkan bahwa jumlah spora yang tinggi memperbesar peluang infeksi terhadap lalat, karena konidia yang lebih banyak meningkatkan kemungkinan kontak dan penempelan pada permukaan tubuh inang. Menurut Rizkie et al. (2017), tingkat keberhasilan infeksi jamur entomopatogen sangat ditentukan oleh jumlah konidia yang masih hidup (viabel) dan memiliki kemampuan untuk melekat, menembus integumen, serta berkembang di dalam tubuh inang serangga.

Penurunan efektivitas pada pengenceran tinggi disebabkan oleh berkurangnya jumlah spora aktif yang dapat melakukan penetrasi pada kutikula serangga. Berdasarkan hasil perhitungan kerapatan spora, nilai tertinggi diperoleh pada pengenceran 10^{-1} sebesar $39{,}2\times10^{3}$ spora/ml dan menurun hingga $10{,}8\times10^{3}$ spora/ml pada pengenceran 10^{-6}. Korelasi negatif antara tingkat pengenceran dan efektivitas kematian ini menunjukkan bahwa kepadatan spora merupakan faktor kunci dalam patogenisitas jamur. Kastilong et al. (2021), menyebutkan bahwa agar infeksi berlangsung secara efektif, jumlah konidia yang berhasil mencapai permukaan tubuh inang harus melebihi dosis letal. Oleh karena itu, semakin rendah konsentrasi spora yang mengenai inang, maka semakin kecil pula peluang terjadinya infeksi sistemik yang dapat menyebabkan kematian pada lalat.

Sebagai vektor mekanik, *Musca domestica* berperan penting dalam penyebaran berbagai agen patogen penyebab penyakit, seperti bakteri *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus*. Oleh karena itu, penggunaan jamur entomopatogen seperti *A. niger* memiliki nilai penting dalam upaya pengendalian biologis populasi lalat yang dapat menularkan penyakit melalui makanan dan lingkungan. Menurut Suciatmih et al. (2015), Jamur entomopatogen dapat mengendalikan populasi serangga

vektor secara ekologis karena memiliki kemampuan menyerang secara spesifik tanpa menghasilkan residu kimia yang berbahaya bagi lingkungan. Dalam hal ini, kemampuan *Aspergillus niger* dalam menyebabkan kematian serangga sebesar 50–100% menunjukkan potensi yang kuat sebagai agen pengendali hayati (biokontrol) yang efektif dalam mengurangi penyebaran penyakit yang ditularkan oleh lalat.

Secara biologis, *A.niger* dikenal sebagai jamur saprofit yang banyak ditemukan pada bahan organik membusuk, termasuk kulit pisang, tetapi sejumlah penelitian telah melaporkan kemampuannya untuk berperilaku sebagai entomopatogen fakultatif. Artinya, *A.niger* tidak secara khusus bergantung pada inang serangga untuk tumbuh, tetapi dapat menginfeksi dan menyebabkan kematian serangga di bawah kondisi yang sesuai, yang mengacu pada keadaan lingkungan dan fisiologis tertentu yang memungkinkan jamur ini beralih dari sifat saprofitik menjadi patogen terhadap serangga. Kondisi yang mendukung antara lain kelembapan udara tinggi (70–90%), suhu optimal 25–30°C, serta ketersediaan substrat organik yang kaya protein dan kitin yang memfasilitasi germinasi spora dan pertumbuhan hifa. Selain itu, serangga yang lemah, kekurangan nutrisi, atau hidup di lingkungan lembap dan kaya bahan organik, seperti lalat rumah *M.domestica*), lebih rentan terhadap infeksi. Dalam kondisi tersebut, spora *A. niger* dapat menempel pada kutikula serangga, berkecambah, dan menembus jaringan tubuh dengan bantuan enzim hidrolitik seperti kitinase, protease, dan lipase, yang kemudian menghambat fungsi fisiologis serangga hingga menyebabkan kematian (Banduwardena et al., 2025). Dengan demikian, kemampuan *A. niger* untuk menjadi entomopatogen tidak bersifat konstitutif, melainkan dipengaruhi oleh kesesuaian kondisi lingkungan dan kerentanan inang yang memungkinkan proses infeksi berlangsung optimal.

Spesies *Aspergillus* memiliki sifat patogenik terhadap serangga karena mampu menghasilkan enzim hidrolitik seperti kitinase, protease, dan lipase yang berperan dalam degradasi kutikula, serta senyawa metabolit toksik seperti asam oksalat dan gliotoksin yang dapat menekan respons imun inang. Temuan pada penelitian ini juga menunjukkan adanya pertumbuhan miselium berwarna

hitam dan pembentukan spora pada tubuh lalat yang mati, yang mengindikasikan terjadinya infeksi aktif oleh *A.niger* (Purkan et al., 2016).

Kemampuan *A. niger* dari kulit pisang mas untuk menginfeksi lalat juga menunjukkan potensi pemanfaatan limbah organik sebagai sumber agen biokontrol alami. Kulit pisang kaya akan gula, pati, dan mineral yang mendukung pertumbuhan jamur saprofitik menjadi bentuk yang lebih agresif terhadap serangga. Penelitian oleh Ahmed El-Imam et al. (2020), mengindikasikan bahwa penggunaan substrat alami, seperti limbah pertanian, dapat merangsang peningkatan produksi metabolit sekunder pada jamur, termasuk senyawa toksik yang memperkuat aktivitas patogeniknya terhadap serangga. Maka isolat *A.niger* yang diperoleh dari kulit pisang mas tidak hanya memiliki signifikansi ekologis, tetapi juga berpotensi dikembangkan sebagai bioinsektisida yang ramah lingkungan.

Dengan mempertimbangkan hasil penelitian ini dan bukti ilmiah terdahulu, *A.niger* dapat dikategorikan sebagai jamur entomopatogen fakultatif, yakni jamur yang secara alami bersifat saprofit tetapi mampu menimbulkan infeksi pada serangga di bawah kondisi tertentu. Temuan ini sejalan Laporan dari Tambingsila & Rudias. (2015) menegaskan bahwa sejumlah spesies *Aspergillus*, *Penicillium*, dan *Fusarium* memiliki kemampuan bertindak sebagai patogen serangga, yang bergantung pada tingkat virulensi serta kondisi lingkungan. Dengan demikian, pemanfaatan *Aspergillus niger* yang berasal dari sumber alami seperti kulit pisang mas dapat menjadi solusi alternatif yang berkelanjutan dalam pengendalian *Musca domestica*, sekaligus menggantikan penggunaan insektisida kimia yang berisiko mencemari lingkungan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan Uji Efektivitas Jamur Entomopatogen dari tanaman kulit Pisang Mas sebagai Bioinsektisida pada Vektor Mekanik Lalat dapat diperoleh kesimpulan bahwa jamur entomopatogen yang ditemukan adalah spesies *Aspergillus* niger yang diisolasi dari tanaman kulit pisang mas (*Musca acuminate*) yang dapat membunuh lalat dengan efektivitas kematian dari 50% sampai 100%.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Politeknik Bina Husada Kendari atas dukungan dan fasilitas laboratorium yang telah diberikan sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan dengan baik dan berjalan lancar.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan tidak terdapat konflik kepentingan dalam penelitian ini. Seluruh proses penelitian, analisis data, dan penyusunan naskah dilakukan secara independen tanpa adanya pengaruh dari pihak mana pun yang dapat memengaruhi hasil atau kesimpulan penelitian.

REFRENSI

Ahmed El-Imam, A., Yousuf, M. B., Alabelapo, B. B., & Aliyu, A. O. (2020). Efficacy of Aspergillus niger isolated from two sources in the biodegradation of maize crop residues. *Nigerian Agricultural Journal*, *51*(1), 1–4.

Arthur, P. (2022). *Jamur Patogen Tanaman*.

Banduwardena, A. V. R. C., Mendis, B. A. N., Thambugala, K. M., Fernando, H. S. D., & Promputtha, I. (2025). Evaluation of mycoparasitic Trichoderma atroviride and entomopathogenic Aspergillus niger as potential bioinsecticides against the dengue vector, Aedes aegypti. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *15*(April), 1–14. https://doi.org/10.3389/fcimb.2025.1502579

Kastilong, E. B., Lengkong, M., & Engka, R. (2021). Uji Patogenisitas Jamur Entomopatogen Beauveria bassiana Bals. terhadap Walang Sangit Leptocorisa acuta Thunb. pada Tanaman Padi. *Cocos*, *8*(8), 1–9.

Manandhar, R., & Gokhale, S. (2017). Are Houseflies Still Important Vector of Gastrointestinal Infections? *Journal of Bacteriology & Parasitology*, *08*(04), 8–11. https://doi.org/10.4172/2155-9597.1000318

Purkan, P., Baktir, A., & Sayyidah, A. R. (2016). Produksi Enzim Kitinase Dari Aspergillus niger Menggunakan Limbah Cangkang Rajungan Sebagai Induser. *Jurnal Kimia Riset*, *1*(1), 34. https://doi.org/10.20473/jkr.v1i1.2440

Rindiani, D. E. (2024). *Aktivitas Jamur Entomopatogen Endofit Pada Spodoptera Frugiperda Yang Dibiakan Pada Pakan Buatan Dan Potensi Jamur Dalam Meningkatkan Pertumbuhan Jagung Activity Of Endophytic Entomopathogen Fungus On Spodoptera frugiperda Cultivated On Artificial*

Food An.

Rizkie, L., Herlinda, S., . S., Irsan, C., . S., & Lakitan, B. (2017). Kerapatan Dan Viabilitas Konidia Beauveria Bassiana Dan Metarhizium Anisopliae Pada Media in Vitro Ph Rendah. *Jurnal Hama Dan Penyakit Tumbuhan Tropika*, *17*(2), 119. https://doi.org/10.23960/j.hptt.217119-127

Septiana, N., Rosa, E., & Ekowati, C. (2019a). Isolasi dan Identifikasi Jamur Entomopatogen Sebagai Kandidat Bioinsektisida Lalat Rumah (Muscadomestica). *Biosfer: Jurnal Tadris Biologi*, *10*, 87–94. https://doi.org/10.24042/biosfer.v10i1.4083

Septiana, N., Rosa, E., & Ekowati, C. N. (2019b). Isolasi dan Identifikasi Jamur Entomopatogen Sebagai Kandidat Bioinsektisida Lalat Rumah (Muscadomestica). *Biosfer: Jurnal Tadris Biologi*, *10*(1), 87–94. https://doi.org/10.24042/biosfer.v10i1.4083

Suciatmih, Titik, K., & Sualaeman, Y. (2015). Jamur Entomopatogen dan Aktivitas Enzim Ekstrakulikulernya. *Berita Biologi*, *14*(2), 131–142.

Sugiyono, P. (2015). Metode penelitian kombinasi (mixed methods). *Bandung: Alfabeta*, *28*, 1–12.

Tambingsila, M., & Rudias. (2015). Isolasi dan Identifikasi Cendawan Berguna Asal Poso Potensinya Sebagai Agens Pengendali Serangga Hama. *Jurnal AgroPet*, *12*(1), 23–30.

Vajri, I. Y., Trizelia, Kuswardani, R. A., & Saragih, M. (2024). Cendawan entomopatogen sebagai penginduksi ketahanan tanaman: Sebuah tinjauan sistematis. *Jurnal Entomologi Indonesia*, *21*(1), 76–91. https://doi.org/10.5994/jei.21.1.75

Zakaria, L., Nuraini, W., Aziz, W., & Pisang, D. (2018). *SHORT COMMUNICATION Molecular Identification of Endophytic Fungi from Banana Leaves (*. *29*(2), 201–211.

KOLERASI ANTARA INFEKSI NEMATODA USUS DAN KEJADIAN STUNTING PADA ANAK DI LINGKUNGAN PESISIR EKSPLOITASI NIKEL, LASOLO KEPULAUAN

Muhammad Sultanul Aulya[1] · Sernita[1] · Darmayanita Wenty[1] · Lidya[1] · Wd. Putri Indah Sari[1] · Wa Ita[2] · Sri Aprilianti Idris[2] · Ani Umar[2]

[1]Program Studi D4 Teknologi Laboratorium Medis,Politeknik Bina Husada Kendari, Sulawesi Tenggara, Indonesia
[2]Program Studi D3 Teknologi Laboratorium Medis,Politeknik Bina Husada Kendari, Sulawesi Tenggara, Indonesia

e-Mail : Muhammad.sultanaulya@gmail.com
No Tlp WA : 081292976902

Abstract

Stunting is one of the major chronic nutritional problems that remain prevalent in Indonesia, particularly in coastal areas with poor sanitation conditions. One of the contributing factors to stunting is intestinal nematode infection, which can interfere with nutrient absorption and lead to growth impairment in children. Lasolo Islands District, located in North Konawe Regency, is a coastal area with active nickel mining activities that may increase the risk of infection and stunting among children. This study aimed to determine the relationship between intestinal nematode infection and the incidence of stunting among children living in coastal areas affected by nickel exploitation in Lasolo Islands District. This research employed a descriptive design with a purposive sampling method involving 50 children aged 2–10 years. Data were collected through anthropometric measurements (height and weight) to assess nutritional status and direct fecal examination to detect intestinal nematode eggs.
***Keywords**: Keywords: Stunting, intestinal nematode infection, children, coastal area, Lasolo Islands, nickel*

Abstrak

Stunting merupakan salah satu permasalahan gizi kronis yang masih banyak terjadi di Indonesia, terutama di wilayah pesisir dengan kondisi sanitasi yang kurang baik. Salah satu faktor yang berperan dalam kejadian stunting adalah infeksi nematoda usus, yang dapat mengganggu penyerapan zat gizi dan menyebabkan gangguan pertumbuhan anak. Kecamatan Lasolo Kepulauan merupakan wilayah pesisir dengan aktivitas eksploitasi nikel yang berpotensi meningkatkan risiko infeksi dan stunting pada anak.Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan antara infeksi nematoda usus dan kejadian stunting pada anak yang tinggal di wilayah pesisir terdampak aktivitas eksploitasi nikel di Kecamatan Lasolo Kepulauan, Kabupaten Konawe Utara. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dengan metode purposive sampling. Sebanyak 50 anak berusia 2–10 tahun dijadikan responden, dengan pengumpulan data melalui pengukuran antropometri (tinggi dan berat badan) untuk menentukan status gizi dan pemeriksaan feses menggunakan metode langsung untuk mendeteksi telur nematoda usus. Proses informed consent diberikan kepada orang tua atau wali anak sebelum penelitian dilaksanakan.
Kata kunci: Stunting, infeksi nematoda usus, anak, pesisir, Lasolo Kepulauan, nikel

PENDAHULUAN

Stunting merupakan salah satu masalah kesehatan masyarakat yang masih menjadi tantangan utama di Indonesia, terutama pada anak usia di bawah lima tahun. Stunting didefinisikan sebagai kondisi gagal tumbuh pada anak akibat kekurangan gizi kronis yang ditandai dengan tinggi badan menurut umur di bawah minus dua standar deviasi dari standar pertumbuhan WHO (Lameky, 2024). Kondisi ini tidak hanya mencerminkan kekurangan gizi dalam jangka panjang, tetapi juga berhubungan dengan faktor infeksi, sosial ekonomi, dan lingkungan. Menurut data Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2023), prevalensi stunting nasional masih berada pada angka sekitar 21,5%, dengan variasi antarwilayah yang signifikan, terutama di daerah terpencil dan pesisir.

Infeksi nematoda usus atau *soil-transmitted helminth* (STH) merupakan salah satu penyebab tidak langsung terjadinya stunting. Infeksi oleh nematoda usus seperti *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, dan *Ancylostoma duodenale* dapat mengganggu penyerapan nutrisi, menyebabkan kehilangan protein dan zat besi, serta menurunkan nafsu makan anak. Penelitian di beberapa negara berkembang menunjukkan bahwa infeksi nematoda usus berulang dapat menyebabkan gangguan pertumbuhan linear dan memperburuk status gizi anak (Asiku, V., Arifin, A., Lampe, M., & Hijjang, 2022).Selain itu, infeksi kronis dapat memicu respon imun yang mempengaruhi metabolisme energi dan pembentukan jaringan tubuh, sehingga memperlambat proses pertumbuhan

Wilayah pesisir yang mengalami aktivitas eksploitasi sumber daya alam, seperti pertambangan nikel, berpotensi meningkatkan risiko kesehatan masyarakat, termasuk kejadian stunting. Aktivitas pertambangan di wilayah pesisir dapat menyebabkan degradasi lingkungan, pencemaran air, dan penurunan kualitas tanah yang berdampak pada ketersediaan pangan dan sanitasi masyarakat. Kondisi tersebut dapat meningkatkan risiko infeksi nematoda usus akibat buruknya kualitas air dan sanitasi, sekaligus memperburuk status gizi karena terbatasnya akses terhadap bahan pangan

bergizi (Cossa et al., 2022). Di wilayah pesisir Lasolo Kepulauan, aktivitas pertambangan nikel yang meningkat dalam beberapa tahun terakhir menimbulkan perubahan lingkungan dan sosial ekonomi yang signifikan terhadap masyarakat setempat.

Berbagai penelitian menunjukkan bahwa korelasi antara infeksi nematoda usus dan kejadian stunting sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan, perilaku higienitas, dan status sosial ekonomi(Sunarpo et al., 2023). Lingkungan pesisir dengan sistem sanitasi yang tidak memadai, kebiasaan buang air besar sembarangan, serta keterbatasan akses air bersih merupakan faktor utama yang memfasilitasi transmisi nematoda usus. Oleh karena itu, memahami hubungan antara infeksi nematoda usus dan stunting pada anak di lingkungan pesisir yang terpapar aktivitas industri menjadi penting untuk mengidentifikasi faktor risiko yang dapat dimodifikasi melalui intervensi kesehatan masyarakat.

Penelitian ini penting dilakukan untuk menggambarkan hubungan antara infeksi nematoda usus dan kejadian stunting pada anak di wilayah pesisir eksploitasi nikel Lasolo Kepulauan. Dengan memahami korelasi tersebut, diharapkan hasil penelitian dapat memberikan dasar ilmiah bagi perumusan kebijakan kesehatan lingkungan, program pemberantasan nematoda (deworming), serta peningkatan gizi anak. Selain itu, hasil penelitian ini dapat menjadi acuan bagi pemerintah daerah dan instansi terkait dalam merancang strategi intervensi terpadu guna menurunkan angka stunting di daerah pesisir yang terdampak aktivitas pertambangan.

BAHAN DAN METODE

1. Bahan

Sampel yang digunakan adalah spesimen feses anak berusia 2 – 10 tahun. Adapun bahan-bahan lain yang digunakan yaitu, Aluminium Foil, Aquades, Batang Lidi Eosin Formalin, Feses, Handscoon, Kapas, Kertas, Masker.

2. Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian analitik observasional dengan pendekatan potong lintang (cross-sectional study). Rancangan ini digunakan

untuk mengetahui hubungan atau korelasi antara infeksi nematoda usus dengan kejadian stunting pada anak usia 2–10 tahun di wilayah pesisir yang terdampak aktivitas eksploitasi nikel di Lasolo Kepulauan. Pendekatan ini dipilih karena dapat menggambarkan kondisi status gizi dan infeksi pada waktu yang bersamaan (A.R.Pratiwi Hasanuddin & Asdinar, 2022)

3. Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan di **wilayah pesisir Lasolo Kepulauan, Kabupaten Konawe Utara, Sulawesi Tenggara**, yang merupakan daerah dengan aktivitas pertambangan nikel aktif Waktu pelaksanaan penelitian direncanakan selama **Maret sampai Agustus 2025**.

4. Metode Penelitian

Jenis penelitian ini adalah deskriptif, dengan metode purposive sampling. Sampel feses diperoleh pada anak usia 2–10 tahun di wilayah pesisir terdampak aktivitas eksploitasi nikel di Kecamatan Lasolo Kepulauan. Jumlah responden dalam penelitian ini sebanyak 50 anak, yang dipilih berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi. Data dikumpulkan melalui pengukuran antropometri (tinggi dan berat badan) untuk menentukan status gizi, serta pemeriksaan sampel feses menggunakan metode langsung untuk mendeteksi telur nematoda usus. Proses pemberian informed consent dalam penelitian ini dilakukan kepada orang tua atau wali anak, karena subjek penelitian berusia 2–10 tahun dan belum dapat memberikan persetujuan secara mandiri.

5. Prosedur Kerja pemeriksaan Feses metode Langsung

Pemeriksaan feses untuk mendeteksi **infeksi cacing usus dengan metode langsung** dilakukan menggunakan sampel feses segar anak yang diambil sebanyak ±2 gram dalam wadah steril. Sejumlah kecil feses diambil menggunakan lidi atau batang kaca dan diletakkan di atas objek glass bersih, kemudian ditetesi satu tetes larutan NaCl fisiologis 0,9% untuk memperjelas bentuk telur nematoda usus. Feses dan larutan dicampur hingga merata dan tipis, lalu ditutup dengan cover glass secara perlahan agar tidak terbentuk gelembung udara. Preparat tersebut kemudian diperiksa di bawah mikroskop dengan pembesaran 10x10 untuk orientasi awal dan 10x40 untuk identifikasi

morfologi telur nematoda usus seperti *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, atau *Ancylostoma duodenale atau Necator americanus*. Hasil pemeriksaan dinyatakan positif apabila ditemukan telur nematoda usus pada bidang pandang mikroskop, kemudian jenis nematoda diidentifikasi berdasarkan bentuk, ukuran, dan karakteristik morfologinya. Setelah pemeriksaan selesai, sisa sampel dan alat yang digunakan dibersihkan serta dibuang sesuai prosedur keamanan laboratorium (Sarkian Salsabila et al., 2024).

6. Prosedur pengukuran berat badan dan tinggi badan pada anak

Pengukuran dilakukan di pagi hari dengan anak mengenakan pakaian ringan dan tanpa alas kaki. Berat badan diukur menggunakan **timbangan digital anak** yang telah dikalibrasi, dengan anak berdiri tegak di tengah timbangan dan pandangan lurus ke depan; hasil ditulis dalam satuan kilogram dengan ketelitian 0,1 kg. Selanjutnya, tinggi badan diukur menggunakan **microtoise** yang dipasang tegak lurus di dinding datar tanpa alas kaki, topi, atau ikatan rambut tinggi. Anak diminta berdiri tegak dengan tumit, betis, pantat, bahu, dan bagian belakang kepala menempel pada dinding, serta pandangan lurus ke depan mengikuti bidang Frankfort. Pengukur menurunkan bilah pengukur hingga menyentuh puncak kepala anak secara ringan dan mencatat hasil dalam satuan sentimeter dengan ketelitian 0,1 cm. Setiap pengukuran dilakukan dua kali, dan apabila terdapat selisih lebih dari 0,2 kg untuk berat badan atau 0,5 cm untuk tinggi badan, maka dilakukan pengukuran ulang hingga diperoleh hasil yang konsisten (Rae et al., 2025).

HASIL

Tabel 1. Karateristik Distribusi Berdasarkan Jenis Kelamin jumlah anak yang terdeteksi kecacingan

Jenis Kelamin	Jumlah Anak	%	Jumlah Anak Kecacingan	Presentase (%)
Laki-Laki	21	42 %	3	27 %
Perempuan	29	58 %	8	73 %
Total	50	100 %	11	100 %

Berdasarkan Tabel 1. Menunjukkan jenis kelamin dan jumlah anak yang terdeteksi kecacingan berjenis kelamin perempuan lebih banyak yaitu berjumlah 29 orang dengan peresentase (58%) dan laki-laki berjumlah 21 orang dengan presentase (42%).

Tabel 2. Karateristik Distribusi Berdasarkan usia

Usia (Tahun)	Jumlah sampel (orang)	(%)	Jumlah Positif Kecacingan	persentase (%)
2-5	13	26%	7	64%
6-8	18	36%	4	36%
9-10	19	38%	0	0%
Total	50	100 %	11	100 %

Berdasarkan tabel 2. Menunjukan hasil penelitian terhadap 50 anak di wilayah pesisir Lasolo Kepulauan, diketahui bahwa kelompok usia **2-5 tahun** berjumlah **13 anak (26%)**, kelompok **6-8 tahun** sebanyak **18 anak (36%)**, dan kelompok **9-10 tahun** sebanyak **19 anak (38%)**. Infeksi nematoda usus paling banyak ditemukan pada kelompok usia **2-5 tahun**, yaitu **7 anak (64%)**, sedangkan pada kelompok usia **6-8 tahun** ditemukan **4 anak (36%)**, dan tidak ditemukan kasus positif pada kelompok usia **9-10 tahun (0%)**.

Tabel 3. Data Anak dengan Status Stunting di Wilayah Pesisir Lasolo Kepulauan

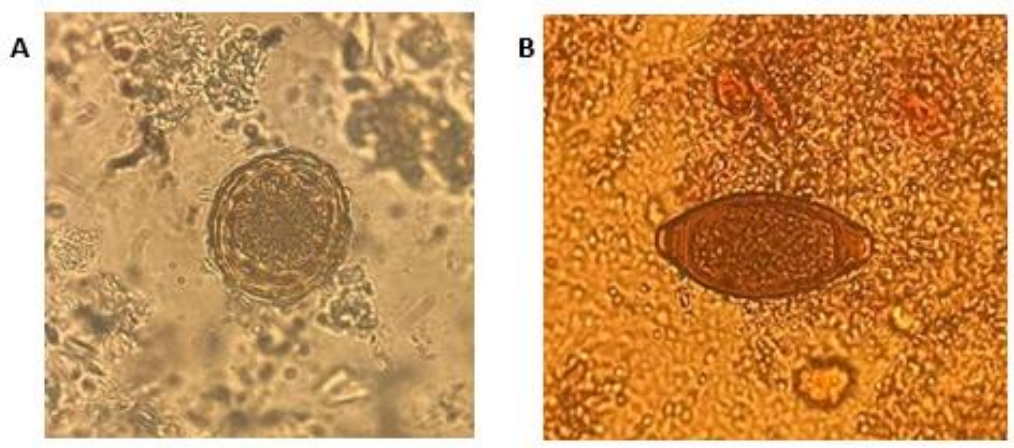
Kode Sampel	Jenis Kelamin	Usia (tahun)	Tinggi Badan (cm)	Berat Badan (kg)	Status Gizi (TB/U)	Status Kecacingan
S1	L	2	74,5	9	Sangat pendek	Positif
S7	P	3	86,2	10	Pendek	Positif
S14	P	3	85,9	11	Pendek	Negatif

Berdasarkan Tabel 3. Terdapat **tiga anak (6%)** yang mengalami **stunting**, dengan rata-rata tinggi badan **82,2 cm** dan berat badan **10,0 kg**. Sebagian besar anak stunting (**66,7%**) terdeteksi **positif infeksi cacing usus**, menunjukkan adanya **keterkaitan antara infeksi nematoda dan gangguan pertumbuhan anak** di wilayah pesisir Lasolo Kepulauan.

Tabel 4. Hasil Pemeriksaan Feses dengan Metode Langsung Berdasarkan Jenis Cacing Usus (STH)

No.	Jenis Cacing Usus (STH)	Jumlah Sampel Positif (n)	Persentase (%)	Keterangan
1	*Ascaris lumbricoides*	4	36,4	Ditemukan telur berbentuk oval dengan dinding tebal dan berlapis albumin kasar
2	*Trichuris trichiura*	7	63,6	Ditemukan telur berbentuk lonjong dengan dua sumbat di ujungnya
3	*Cacing Tambang (Hookworm)*	0	0,0	Tidak ditemukan telur berbentuk oval tipis dengan blastomer
Total		**11**	**100**	

Berdasarkan Tabel 4, dari total 11 sampel positif infeksi cacing usus, ditemukan bahwa jenis nematoda yang paling banyak menginfeksi adalah *Trichuris trichiura* sebanyak 7 kasus (63,6%), diikuti oleh *Ascaris lumbricoides* sebanyak 4 kasus (36,4%), sedangkan cacing tambang (Hookworm) tidak ditemukan pada sampel yang diperiksa. Hasil ini menunjukkan bahwa infeksi *Trichuris trichiura* merupakan jenis infeksi cacing usus yang dominan pada anak di wilayah pesisir Lasolo Kepulauan.



Gambar 1. Hasil pengamatan feses anak yang terinfeksi nematoda usus, A *Ascaris lumricoides*; B *Trichuris trichiura*

Tabel 5. Distribusi hubungan antara infeksi nematoda usus dan kejadian stunting dapat dilihat pada Tabel berikut:

Status Infeksi Kecacingan	Stunting	Normal	Total
Positif	2	9	11
Negatif	1	38	39
Total	**3**	**47**	**50**

Berdasarkan Tabel 5, dari total 50 anak yang diteliti, terdapat **11 anak (22%)** yang positif infeksi nematoda usus dan **39 anak (78%)** yang negatif. Dari anak yang positif infeksi, **2 anak (18,2%)** mengalami stunting, sedangkan pada kelompok negatif hanya **1 anak (2,6%)** yang mengalami stunting. Hasil ini menunjukkan bahwa **kejadian stunting lebih banyak ditemukan pada anak yang terinfeksi nematoda usus**, sehingga terdapat indikasi adanya **hubungan antara infeksi cacing usus dengan kejadian stunting** di wilayah pesisir Lasolo Kepulauan.

DISKUSI

Hasil penelitian menunjukkan bahwa infeksi nematoda usus lebih banyak terjadi pada anak perempuan dibandingkan anak laki-laki, dengan persentase masing-masing 73% dan 27%. Perbedaan ini dapat dipengaruhi oleh kebiasaan perilaku dan aktivitas harian anak, terutama di lingkungan pesisir yang memiliki sanitasi kurang memadai. Anak perempuan umumnya lebih sering membantu kegiatan domestik seperti mencuci atau bermain di sekitar rumah yang tergenang air, sehingga risiko paparan tanah atau air yang terkontaminasi telur nematoda meningkat. Hasil ini sejalan dengan penelitian (Abaka-Yawson et al., 2020). Yang melaporkan bahwa perilaku kebersihan dan aktivitas lingkungan menjadi faktor utama dalam perbedaan kejadian infeksi kecacingan antara jenis kelamin.

Distribusi infeksi berdasarkan usia menunjukkan bahwa kelompok anak **usia 2–5 tahun** merupakan yang paling rentan terhadap infeksi nematoda usus dengan prevalensi 64%, sedangkan pada kelompok **6–8 tahun** sebesar 36%, dan tidak ditemukan kasus pada usia **9–10 tahun**. Anak usia dini memiliki sistem kekebalan tubuh yang belum sempurna dan perilaku kebersihan yang belum

terbentuk dengan baik, seperti sering bermain di tanah tanpa alas kaki atau tidak mencuci tangan sebelum makan. Hal ini didukung oleh penelitian (Abaka-Yawson et al., 2020). Yang menjelaskan bahwa infeksi nematoda usus pada anak usia prasekolah berhubungan erat dengan kebiasaan higienitas yang rendah serta kondisi sanitasi lingkungan yang buruk.

Jenis nematoda yang paling banyak ditemukan pada penelitian ini adalah *Trichuris trichiura* (63,6%) dan *Ascaris lumbricoides* (36,4%), sedangkan *Hookworm* tidak ditemukan. Dominasi infeksi *Trichuris trichiura* menunjukkan bahwa transmisi kemungkinan besar terjadi melalui konsumsi makanan atau air yang terkontaminasi telur nematoda, mengingat nematoda jenis ini menular melalui jalur fekal-oral. Penelitian serupa oleh Bethony et al. (2019) menyebutkan bahwa *Trichuris trichiura* cenderung lebih banyak menginfeksi anak di daerah tropis dengan kebersihan lingkungan yang rendah dan sanitasi air yang tidak layak.

Terkait dengan status gizi, terdapat tiga anak (6%) yang mengalami stunting, di mana dua di antaranya (66,7%) positif terinfeksi nematoda usus. Kondisi ini mengindikasikan adanya hubungan antara infeksi nematoda dan gangguan pertumbuhan anak. Infeksi nematoda dapat menyebabkan penurunan penyerapan zat gizi penting seperti protein, zat besi, dan vitamin A melalui mekanisme kehilangan darah kronis, anoreksia, serta gangguan penyerapan di usus(Wardiyah et al., 2023). Anak dengan infeksi nematoda usus berisiko lebih tinggi mengalami gangguan pertumbuhan dibandingkan anak tanpa infeksi, terutama di daerah dengan tingkat sanitasi rendah.

Analisis hubungan antara infeksi nematoda usus dan kejadian stunting menunjukkan bahwa prevalensi stunting pada anak yang terinfeksi nematoda (18,2%) lebih tinggi dibandingkan anak yang tidak terinfeksi (2,6%). Hal ini memperlihatkan adanya kecenderungan bahwa infeksi nematoda usus dapat berkontribusi terhadap kejadian stunting, meskipun faktor lain seperti asupan gizi, kebersihan lingkungan, dan status sosial ekonomi juga berperan, di wilayah pesisir Sulawesi Selatan yang menyatakan bahwa infeksi nematoda merupakan salah satu faktor risiko signifikan terhadap stunting pada anak usia sekolah dasar.

Dengan demikian, hasil penelitian ini menegaskan pentingnya intervensi terpadu berupa **pemberantasan cacing (mass deworming)**, peningkatan sanitasi lingkungan, dan edukasi perilaku hidup bersih sebagai upaya menurunkan prevalensi stunting di wilayah pesisir eksploitasi nikel Lasolo Kepulauan.

KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan adanya **hubungan antara infeksi nematoda usus dan kejadian stunting** pada anak di wilayah pesisir dengan aktivitas eksploitasi nikel di Kecamatan Lasolo Kepulauan, Kabupaten Konawe Utara. Dari **50 anak yang diperiksa**, terdapat **11 anak (22%)** yang positif terinfeksi nematoda usus, dengan jenis cacing yang paling banyak ditemukan yaitu *Trichuris trichiura* (**63,6%**) dan *Ascaris lumbricoides* (**36,4%**). Sementara itu, terdapat **3 anak (6%)** yang mengalami stunting, dan **2 di antaranya (66,7%)** positif terinfeksi nematoda usus. Hasil ini menunjukkan bahwa **kejadian stunting lebih banyak terjadi pada anak yang terinfeksi nematoda usus**, sehingga infeksi nematoda usus dapat menjadi salah satu faktor yang berkontribusi terhadap gangguan pertumbuhan anak di wilayah pesisir Lasolo Kepulauan).

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada masyarakat Kecamatan Lasolo Kepulauan, pihak sekolah, tenaga kesehatan, serta semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian tentang korelasi infeksi cacing usus dan kejadian stunting pada anak di lingkungan pesisir eksploitasi nikel.

KONFLIK KEPENTINGAN

Peneliti menyatakan tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian tentang korelasi infeksi cacing usus dan kejadian stunting pada anak di lingkungan pesisir eksploitasi nikel, Lasolo Kepulauan.

REFRENSI

Schlosser-Brandenburg, J., et al. (2023). Infection with soil-transmitted helminths and their impact on coinfections. Frontiers in Parasitology, 2, 119756.

Agrawal, R., et al. (2024). Prevalence and correlates of soil-transmitted helminths in schoolchildren aged 5 to 18 years in low- and middle-income countries: a systematic review and meta-analysis. Frontiers in Public Health, 12, 1283054.

Schär, F., et al. (2013). Strongyloides stercoralis: global distribution and risk factors. PLoS Neglected Tropical Diseases, 7, e2288.

World Health Organization. (2023). Soil-transmitted helminth infections. Retrieved from https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/soil-transmitted-helminth-infections (Accessed 14 March 2024).

Vaz Nery, S., et al. (2019). The role of water, sanitation and hygiene interventions in reducing soil-transmitted helminths: interpreting the evidence and identifying next steps. Parasites & Vectors, 12, 273.

A.R.Pratiwi Hasanuddin, & Asdinar. (2022). Hubungan Infeksi Soil-Transmitted Helminths (STH) Dengan Kejadian Stunting pada Balita di Kabupaten Bulukumba. *Jurnal TLM Blood Smear*, *3*(1), 16–23. https://doi.org/10.37362/jmlt.v3i1.535

Abaka-Yawson, A., Senoo, D., Aboagye, E. A., Hotorvi, C., Tawiah, P. A., Sosu, S. Q., & Kwadzokpui, P. K. (2020). High prevalence of intestinal helminthic infection among children under 5 years in a rural Ghanaian community: an urgent call for attention. *Journal of Parasitic Diseases*, *44*(3), 625–632. https://doi.org/10.1007/s12639-020-01239-z

Asiku, V., Arifin, A., Lampe, M., & Hijjang, P. (2022). The effect of environmental health on stunting in the coastal area of Gorontalo City. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, *2022*. https://doi.org/10.1155/2022/8929025

Cossa, H., Dietler, D., Macete, E., Munguambe, K., Winkler, M. S., & Fink, G. (2022). Correction: Assessing the effects of mining projects on child health in sub-Saharan Africa: a multi-country analysis (Globalization and Health, (2022), 18, 1, (7), 10.1186/s12992-022-00797-6). *Globalization and Health*, *18*(1). https://doi.org/10.1186/s12992-022-00816-6

Lameky, V. Y. (2024). Stunting in Indonesia: Current progress and future directions. *Journal of Healthcare Administration*, *3*(1), 82–90. https://doi.org/10.33546/joha.3388

Rae, S., Pullenayegum, E., Ong, F., Dennis, C. L., Hamilton, J., Maguire, J., & Birken, C. (2025). Reliability of Anthropometric Measurement of Young Children with Parent Involvement. *Childhood Obesity*, *21*(1), 39–49. https://doi.org/10.1089/chi.2023.0065

Sarkian Salsabila, W. E., Idris, S. A., & Balaka, K. I. (2024). Identifikasi Nematoda Usus Soil Transmitted Helminth (Sth) Dengan Metode Ritchie Pada Anak Desa Bajo Indah Kabupaten Konawe. *Jurnal Analis Kesehatan Kendari*, *7*(1), 37–42. https://doi.org/10.46356/jakk.v7i1.336

Sunarpo, J. H., Ishartadiati, K., Al Aska, A. A., Sahadewa, S., & Sanjaya, A. (2023). The impact of soil-transmitted helminths infection on growth impairment: systematic review and meta analysis. *Healthcare in Low-Resource Settings*. https://doi.org/10.4081/hls.2023.11742

Wardiyah, H., Welan, R., & Tsania Zhuhra, R. (2023). Malnutrition in Children with Helminthiasis: A Review Article. *International Journal of Research and Review*, *10*(7), 19–23. https://doi.org/10.52403/ijrr.20230704

CLINICAL AND ECONOMIC IMPACT OF INFECTION *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) BACTERIAL INFECTION AT GUNUNG JATI GENERAL HOSPITAL, CIREBON CITY

Sri Darmawati[1]* · Arya Iswara[1] · Dinah Fauziyyah[1] · Yunita Aldirahayu[1]

[1] Clinical Laboratory Science, Postgraduate, Universitas Muhammadiyah Semarang
Jl.Kedungmundu Raya No.18, Semarang 50273, Jawa Tengah, Indonesia.

e-Mail: Ciciekdarma@unimus.ac.id
No Tlp WA : +62 812 2503 552

Abstract

Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) infection is a significant clinical and economic problem in hospitals. This study analyzed the clinical and economic impact of MRSA infection compared to Methicillin-susceptible Staphylococcus aureus (MSSA) infection at Gunung Jati Regional Hospital, Cirebon. An analytical cross-sectional study was conducted on 178 patients screened for MRSA from Januari 2021 to December 2024. Results showed that 33.14% of patients were infected with MRSA and 66.85% with MSSA. The majority if MRSA patients were female (59.3%) and aged 25-64 yeras (50.8%). The dominant diagnosis was sepsis (42.4%), with comorbid diabetes mellitus being higher in MRSA (55.9%) than in MSSA (33.6%). Bivariate analysis showed that MRSA had a mean length of stay of 7 days, longer than MSSA (4 days) (p=0.004). Mortality in MRSA patients was significantly higher (45.8%) than in MSSA (21.0%), with an odds rasio of 3.17 (95% CI: 1.61-6.25, p=0.001). The costs of treatment, care and laboratoty tests in MRSA were also higher, averaging Rp 325,793.20 compared to Rp 129,089.49 in MSSA. These findings confirm that MRSA infections are associated with higher clinical severity, longer hospital stays, higher mortality, and a significant economic burden compared to MSSA. Prevention and management of MRSA infections should be improved to reduce the negative impact on healthcare facilities.

Keywords: *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA), Methicillin-susceptible Staphylococcus aureus (MSSA),* Mortality, Length of hospital, Medical costs

BACKGROUND

Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) is major pathogen that poses a major challenge in modern hospitals, including Indonesia, due to its resistance to various antibiotics, especially beta-lactam antibiotics such as methicillin (Santosaningsih., 2022). MRSA infections often occur in post-operative patients, the elderly, or users of invasive medical devices, and can cause severe complications such as sepsis, nosocomial pneumoniae, or endocarditis, requiring expensive second-line antibiotic therapy (Lee *et al.*, 2018). The problem of antibiotic resistance in Indonesia is exacerbated by unprescribed access to antibiotic and irrational use, accelerating the development of MRSA to multidrug-resistant (MDR) and even vancomycin resistance (Lashari *et al.*, 2022).

MRSA is highly pathogenic, influenced by the prodution of toxins such as *Panton-Valentine leukocidin* (PVL), which damages tissue, and the ability to form biofilms that protect the bacteria form the immune systems and antibiotics (Lashari

et al., 2022). A major challenge in its management is the progressive pattern of antibiotic resistance, including resistance to vancomycin in some cases, which increases mortality in vulnerable griups such as the elderly and patients with organ dysfunction, with moratlity reates varying from 5% to 60% depending on the population and location of infection (Lee *et al.*, 2018).

Economically, MRSA infections burden hospitals and patients through longer hospital stays and higher medical costs. A study at Dr. Soetomo, Surabaya, found that 17% of *S. aureus* samples were MRSA, particularly in adult patients requirng expensive antibiotics such as vancomycin and linezed (Turbawaty *et al.*, 2021). Globally, studies in China and Japan have shown that MRSA infections significantly increase hospital costs and length of stay, with the largest cost components being. Medicacations, treatment of complications, and additional examinations (Zhen *et al.*, 2020; Shoji *et al.*, 2022).

The prevalence of MRSA in Indonesia is quite high, with SINAR surveillance (2022) recording 34% in blood specimens and 27% in lower respiratory tract specimens, varying by region and health facility class (Santosaningsih., 2022). MRSA infections consistently increase the length of hospital stay, the need for additional medical interventions, the risk of complications, and mortality compared to MSSA, thereby increasing the economic burden on the health system (Wu *et al.*, 2023; Anderson *et al.*, 2019). The clinical and economic impact of MRSA includes the use of expensive antibiotics (vancomycin, linezolid, daptomycin), drug level monitoring, intensive care, and additional surgical procedures for severe infections (Zhen *et al.*, 2020).

METHOD

This study used a *cross-sectional* design on 178 inpatients at Gunung Jati Resgional Hospital in Cirebon City who underwent MRSA screening between January 1, 2021 and December 31, 2024. Data were collected from medical records, the microbiology laboratory, and hospital billing. Inclusion criteria patients with MRSA screening, both positive (MRSA) and negative (MSSA), new status, BPJS class III, and patients with comorbid diabetes mellitus and certain non-comorbidities. Statistical analysis used the *Mann-Whitney* and *Chi-Square* tests to examine the ralationship between variables.

RESULT

Sample Overview

Of the 178 screened patients, 59 (33,14%) were diagnosed with MRSA and 119 (66,85%) with MSSA. The majority of MRSA patients were female (59,3%), while the largest age groups were 25-64 years (50,85%) and ≥65 tahun (27,12%). In the MSSA group, the largest age group was also 25–64 years(67,23%).

Prevalence of MRSA Infection by Gender and Age

Table 1. Prevalence of *MRSA infection by Gender and Age at Gunung Jati Regional Hospital, Cirebon City (compared with MSSA infection)*

	MRSA	MSSA	TOTAL
n (%)	59 (33.14)	119 (66.85)	178 (100)
Demogrpahic Data			
Gender			
Male, n(%)	24 (40.68)	55 (46.22)	79 (44.38)
Female, n(%)	35 (59.32)	64 (53.78)	99 (55.62)
Age			
0-28 days, n(%)	2 (3.39)	1 (0.84)	3 (1.69)
29 days -1 years, n(%)	1 (1.69)	7 (5.88)	8 (4.49)
1-5 years, n(%)	4 (6.78)	6 (5.04)	10 (5.62)
6-12 years, n(%)	0 (0)	1 (0.84)	1 (0.56)
13-18 years, n(%)	1 (1.69)	2 (1.68)	3 (1.69)
19-24 years, n(%)	5 (8.47)	9 (7.56)	14 (7.87)
25-64 years, n(%)	30 (50.85)	80 (67.23)	110 (61.8)
≥ 65 years, n(%)	16 (27.12)	13 (10.92)	29 (16.29)

FromTabel 1. Shows that the total data of 178 patients at Gunung Jati Regional Hospital, 59 patients (33,14%) experienced MRSA infections and 119 patients (66,85%) MSSA. In the case of MRSA, the majority of patients were female (59,32%) compared to male (40,68%), while in MSSA, female were also more numerous (53,78%) than male (46,22%). MRSA infections most commonly occurred in the age group 25-64 years (50,85%) and ≥65 years (27,12%), while in MSSA also dominated the age group 25-64 years(67,23%) and ≥65 years (10,92%). The higher proportion of female with MRSA is thought to be due to the influence of estrogen and progesterone hormones, which influence bacterial virulence, and the use of hormonal

contraceptives (Rahman *et al.,* 2023; Souza *et al.,*2020; Stensen *et al.,* 2019). Furthermore, adults and the elderly are more susceptible to MRSA due to a weakened immune system, comorbities, and more frequent antibuotic use (Nismawati *et al.,* 2018; Siddiqui AH, *et al.*, 2023; Tacconelli *et al.*, 2018).

Differences in Comorbidity between MRSA and MSSA

Table 2. Clinical Characteristics of MRSA infections (compared with MSSA infections) Gunung Jati Regional Hospital, Cirebon City

	MRSA	MSSA	TOTAL
n (%)	59 (33.14)	119 (66.85)	178 (100)
Diagnosis			
Abscess, n(%)	12 (20.34)	39 (32.77)	51 (28.65)
Cellulitis, n(%)	14 (23.73)	19 (15.97)	33 (18.54)
Sepsis, n(%)	25 (42.37)	48 (40.34)	73 (41.01)
DM ulcer, n(%)	8 (13.56)	13 (10.92)	21 (11.80)
Comorbidities			
DM, n(%)	33 (55.93)	40 (33.61)	73 (41.01)
Non-Comorbid, n(%)	26 (44.07)	79 (66.39)	105 (58.99)

In this study, the most common clincal diagnosis comorbidities in MRSA patients were sepsis (42,4%), followed by cellulitis (23,7%), abscesses (20,3%), and diabetic ulcers (13,6%). In MSSA, sepsis was also the most common (40,3%), followed by abscesses (32,8%), cellulitis (16,0%), and diabetic ulcers (10,9%). Comorbid DM was found in 55,9% MRSA patients and 33,6% of MSSA patients, while patients without comorbidities were 44.1% in MRSA and 66.4% in MSSA. MRSA can cause sepsis because it can invade the bloodstream, produces toxins, and evade the immune system (Cheung *et al.*, 2021). Virulence factors such as MSCRAMMs and biofilm facilitate MRSA adherence to sissue, forming abscesses, cellulitis, and exacerbating diabetic ulcers. MRSA resistance to beta-lactam antibiotics due to the mecA gene makes infections difficult to treat and carries the risk of bloodstream spread (Lessa *et al.*, 2012). In DM patients, immune and circulatory disorders exacerbate infections and delay wound helaing. MRSA can aldo affect individuals without comorbidities though virulence factors and community spread. Poor glycemic control in DM increases the risk of severe MRSA infections and delays ulcer (Zhen *et al.,* 2020).

Differences in Length of Hospilatization Between MRSA and MSSA Patients

Table 3. Frequency Length of Treatment for MRSA and MSSA Infections at Gunung Jati Regional Hospital, Cirebon City

Infection Status	Diagnosis	Average LOS (days)
MRSA	Sepsis	7,72
	DM ulcer	6,38
	Abscess	5,83
	Cellulitis	5,07
	Average Total MRSA	6,53
MSSA	Sepsis	4,67
	DM ulcer	4,46
	Abscess	4,18
	Cellulitis	3,89
	Average Total MSSA	4,36

The results of the length care when viewed based on diagnosis, in the MRSA group, the diagnosis of sepsis had the highest average LOS of 7.72 days, followed by DM ulcers (6,38 days), abscesses (5,83 days), and the lowest was cellulitis with 5.07 days. This shows that MRSA patients with sepsis are the group with the longest hospitalization needs. Conversely, in the MSSA group, the diagnosis of sepsis also occupies the highest position (4,67 days), folowed by Dm ulcers (4,46 days), abscesses (4,18 days), and cellulitis (3,89 days). Although by DM sequence pattern is similar to MRSA, the average LOS value for each diagnosis in the MSSA group is consistently lower than MRSA, this is in line with the research of Rodrigues R, et al. (2020) and Joo, et al. (2019) which stated that the LOS of MRSA patients is longer than MSSA

The difference in LOS is due to the complexity of MRSA treatment due to multidrug antibiotic resistance. MRSA is resistant to beta-lactmas (methicillin, cephalosporin) through the gene *mecA* mechanism (Ahmed & Baptiste, 2018). Therapy requires second-line antibiotics such as vancomycin or teicoplanin, but the emergence of glycopeptide-resistant MRSA variants exacerbates the treatment challenge (Ali Alghamdi *et al.*, 2023). Failure of empirical theraphy and the need for specific antibiotics (e.g., vancomycin for MRSA vs. beta-laktam for MSSA) prologs LOS (Zhen *et al.*, 2020).

Differences in mortality rates of MRSA and MSSA patients

Table 4. Differences in MRSA and MSSA Infections with Mortality at Gunung Jati Regional Hospital, Cirebon City

Mortality	MRSA	MSSA	Total	*p-value*
Death, n(%)	27 (45.8)	25 (21.0)	52 (29.2)	
Life, n(%)	32 (54.2)	94 (79.0)	126 (70.8)	0.001
Total, n(%)	**59 (100)**	**119 (100)**	**178 (100)**	

Based on Table 4, patients with MRSA infection showed a mortality rate of 45,8% (27 patients) compared to 21,0% (52 patients) in MSSA patients. Chi-Square analysis showed a significant association between infection status (MRSA/MSSA) and mortality, with a Pearson Chi-Square value of 11,688 (df=1) and p = 0,001, indicating this difference did not occur by chance. Alternative tests such as Continuity Correction, Likelihood Ratio, and Fisher's Exact Test also supported this result with similar significance values.

Descriptively, the proportion of MRSA infections was higher in the deceased patient group (51,9%) than in the MSSA group (48,1%), while in the surviving patients, MRSA was only 25,4% and MSSA 74,6%. This finding confirms that MRSA infections are statistically associated with an increased risk of death, making MRSA infections an important factor to consider in efforts to manage and prevent patient mortality.

Table 5. Differences in mortality rates of MRSA patients based on diagnosis at Gunung Jati Regional Hospital, Cirebon City

Diagnosis	Infections Status	Life	Death	Total	% Death of Total	% Death per Diagnosis
Abscess	MRSA	6	6	12	3,37%	50,00%
	MSSA	33	6	39	3,37%	15,38%
Sepsis	MRSA	10	15	25	8,43%	60,00%
	MSSA	35	13	48	7,30%	27,08%
Cellulitis	MRSA	10	4	14	2,25%	28,57%
	MSSA	15	4	19	2,25%	21,05%
DM ulcer	MRSA	6	2	8	1,12%	25,00%
	MSSA	11	2	13	1,12%	15,38%

In general, data show that diagnosis of sepsis in patients with MRSA infection has the highers mortality rate at 60%, significantly higher than the MSSA group, which reached 27.08%. The same condition also occurs in abscesses, where mortality in MRSA patients (50%) is higher than MSSA (15.38%). In cases of cellulitis and diabetic ulcers, although mortality in MRSA patients is slightly higher than MSSA, the difference is not as large as in sepsis and abscesses, indicating that MRSA significantly worsens the prognosis, especially in more severe infections such as sepsis and abscesses (Stewart *et al* ., 2021)

Statistical analysis showed that MRSA infection was significantly associated with increased mortality compared to MSSA, with a mortality rate of 45.8% in MRSA patients compared to 21.0% in MSSA (p = 0.001). The Exp(B) value of 0.315 indicated that MRSA patients had a 68.5% lower chance of survival compared to MSSA, and an odds ratio (OR) of 3.17 indicated that the risk of death for MRSA patients was more than three times higher than for MSSA. Thus, MRSA infection is a statistically and clinically significant risk factor for increased patient mortality, especially in diagnoses that support severe infections such as sepsis and abscesses.

Differences in Costs of Care, Medication (antibiotics), Lab Tests Between MRSA and MSSA Patients

Table 6. Summary of Treatment, Care and Lab Examination Costs

Diagnosis	Infection Status	Average Cost Antibiotics (Rp)	Average Treatment Cost (Rp)	Average Laboratory Fee (Rp)	Average Total Cost Biaya (Rp)
Sepsis	MRSA	526.231	1.952.841	418.662	2.897.734
	MSSA	207.795	1.758.190	389.836	2.355.822
DM ulcer	MRSA	285.284	1.442.507	373.379	2.101.171
	MSSA	251.857	1.065.926	180.222	1.498.006
Abscesss	MRSA	454.208	1.561.251	243.888	2.259.349
	MSSA	92.877	966.566	241.212	1.300.656
Cellulitis	MRSA	151.475	1.351.346	267.000	1.769.821
	MSSA	102.890	771.835	196.912	1.071.638

The diagnosis of sepsis with MRSA infection recorded the highest average daily cost of Rp2,897,734, which includes the costs of antibiotics, treatment, and laboratory. Other diagnoses such as cellulitis and abscess, especially in the non-MRSA group, had a much lower daily cost, for example non-MRSA cellulitis was only Rp1,071,638. In general, MRSA status increased the average daily cost of care, especially in severe diagnoses such as sepsis and DM ulcers, where DM MRSA ulcers had the second highest daily cost of Rp2,101,171, reflecting the longer duration of stay and more complex therapy. All cost components in MRSA patients at Gunung Jati Hospital, Cirebon City were consistently higher than MSSA patients, including the costs of medication, treatment, and laboratory examinations. The average cost of treatment for MRSA patients was almost three times that of MSSA. This cost difference occurs because MRSA infections require more expensive, specialized antibiotics such as vancomycin, linezolid, or daptomycin, as well as more frequent drug level monitoring (Zhen *et al.*, 2020 ; Shoji *et al.,* 2022). Furthermore, MRSA patients more frequently experience severe complications such as sepsis or infections of medical implants, requiring longer hospitalizations, additional medical procedures, and more intensive and repeated laboratory tests (Wu *et al.,* 2023 ; Hirabayashi *et al* ., 2024). International studies also show a similar pattern, where the cost of treating MRSA patients can be two to three times higher than that of MSSA due to the need for more complex therapy, isolation, and medical interventions (Zhen *et al.,* 2020 ; Shoji *et al.,* 2022). Thus, MRSA infections pose a significantly greater economic burden than MSSA, making infection prevention and control crucial to reduce healthcare costs.

CONCLUSION

MRSA infections had a prevalence of 33.14% of the total patients screened, with the majority of patients being female and aged between 25-64 years. Patients with MRSA infections showed more severe clinical characteristics, particularly with a diagnosis of sepsis and a higher comorbidity of diabetes mellitus compared to MSSA patients. The length of hospitalization for MRSA patients was also significantly longer than for MSSA patients, with an average

of 7 days compared to 4 days for MSSA, indicating that MRSA infections significantly affect the length of hospitalization. Furthermore, the mortality rate in MRSA patients was significantly higher than in MSSA patients, with the risk of death being more than three times higher in MRSA patients. From an economic perspective, the costs of care, treatment, and laboratory examinations in MRSA patients were consistently more than twofold higher than in MSSA patients, reflecting the greater economic burden due to antibiotic resistance, more severe clinical complications, and the need for therapy and more complex examinations

REFRENCE

Ahmed, M. O., & Baptiste, K. E. (2018). *Vancomycin-Resistant Enterococci*: A Review of Antimicrobial Resistance Mechanisms and Perspectives of Human and Animal Health. In *Microbial Drug Resistance* (Vol. 24, Issue 5, pp. 590–606). Mary Ann Liebert Inc. https://doi.org/10.1089/mdr.2017.0147

Ali Alghamdi, B., Al-Johani, I., Al-Shamrani, J. M., Musamed Alshamrani, H., Al-Otaibi, B. G., Almazmomi, K., & Yusnoraini Yusof, N. (2023). Antimicrobial resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. In *Saudi Journal of Biological Sciences* (Vol. 30, Issue 4). Elsevier B.V. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2023.103604

Anderson, D. J., Kaye, K. S., Chen, L. F., Schmader, K. E., Choi, Y., Sloane, R., & Sexton, D. J. (2019). Clinical and financial outcomes due to methicillin resistant *Staphylococcus aureus* surgical site infection: A multi-center matched outcomes study. *PLoS ONE*, *4*(12). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008305

Cheung, G. Y. C., Bae, J. S., Liu, R., Hunt, R. L., Zheng, Y., & Otto, M. (2021). Bacterial virulence plays a crucial role in MRSA sepsis. *PLoS Pathogens*, *17*(2). https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PPAT.1009369

Hirabayashi, A., Yahara, K., Oka, K., Kajihara, T., Ohkura, T., Hosaka, Y., Shibayama, K., Sugai, M., & Yagi, T. (2024). Comparison of disease and economic burden between MRSA infection and MRSA colonization in a university hospital: a retrospective data integration study. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, *13*(1). https://doi.org/10.1186/s13756-024-01383-8

Joo, E. J., Park, D. A., Kang, C. I., Chung, D. R., Song, J. H., Lee, S. M., & Peck, K. R. (2019). Reevaluation of the impact of methicillin-resistance on outcomes in patients with *Staphylococcus aureus* bacteremia and endocarditis. *Korean Journal of Internal Medicine*, *34*(6), 1347–1362.

https://doi.org/10.3904/kjim.2017.098

Lashari, Y., Rochmanti, M., Purba, A. K. R., Notobroto, H. B., Sarassari, R., & Kuntaman, K. (2022). The Economic Impact of Carbapenem Resistant-Non Lactose Fermenter and *Enterobacteriaceae* Infections on Hospital Costs in Dr. Soetomo General Academic Hospital Surabaya, Indonesia. *Antibiotics*, *11*(5). https://doi.org/10.3390/antibiotics11050694

Lee, A. S., De Lencastre, H., Garau, J., Kluytmans, J., Malhotra-Kumar, S., Peschel, A., & Harbarth, S. (2018a). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nature Reviews Disease Primers*, *4*. https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.33

Lessa, F. C., Mu, Y., Ray, S. M., Dumyati, G., Bulens, S., Gorwitz, R. J., Fosheim, G., Devries, A. S., Schaffner, W., Nadle, J., Gershman, K., & Fridkin, S. K. (2012). Impact of USA300 *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* on clinical

Nismawati, Sjahril, R., & Agus, R. (2018). *Deteksi Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Pada Pasien Rumah Sakit Universitas Hasanuddin Dengan Metode Kultur*.

outcomes of patients with pneumonia or central line-associated bloodstream infections. In *Clinical Infectious Diseases* (Vol. 55, Issue 2, pp. 232–241). https://doi.org/10.1093/cid/cis408

Rahman, I. W., Arfani, N., Rafika, & Tadoda, J. V. (2023). *Deteksi Bakteri MRSA Methicillin-resistant Staphylococcus aureus pada Sampel Darah Pasien Rawat Inap*. https://journal.unhas.ac.id/index.php/jai2

Rodrigues, R., Passadouro, R., Gomes, O., & Castro, R. (2020). Risk factors, length of stay and in-hospital mortality of *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* infections: A case-control study. *Acta Medica Portuguesa*, *33*(3), 174–182. https://doi.org/10.20344/amp.10952

Santosaningsih, D. (2022). *Surveilans MRSA di Indonesia tahun 2022*. Surveillance of Indonesian Network on Antimicrobial Resistance (SINAR), Perhimpunan Dokter Spesialis Mikrobiologi Klinik Indonesia (PAMKI).

Shoji, T., Muto, R., Fukuda, H., Muraki, Y., Kawata, K., & Akazawa, M. (2022). Cost and healthcare utilization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*bacteremia estimated from linked antimicrobial resistance surveillance and hospital claims data in Japan. *Antimicrobial stewardship & healthcare epidemiology : ASHE*, *2*(1), e147. https://doi.org/10.1017/ash.2022.280

Siddiqui, A. H., & Koirala, J. (2023). Methicillin-resistant Staphylococcus aureus. In *Stat Pearls*. Stat Pearls Publishing. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482221/

Souza, C. L. S. e., Oliveira, H. B. M., Santos Júnior, M. N., Silva, M. de O., Coqueiro, I. L., Silva, Í. B. S. da, Campos, G. B., Silva, R. A. A. da, Soares,

T. de J., Oliveira, M. V. de, Timenetsky, J., & Marques, L. M. (2020). Ovarian hormones influence immune response to *Staphylococcus aureus* infection. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, *24*(6), 534–544. https://doi.org/10.1016/j.bjid.2020.10.004

Stensen, D. B., Småbrekke, L., Olsen, K., Grimnes, G., Nielsen, C. S., Simonsen, G. S., Sollid, J. U. E., & Furberg, A. S. (2019). Hormonal contraceptive use and *Staphylococcus aureus* nasal and throat carriage in a Norwegian youth population. *PLoS ONE*, *14*(7). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218511

Stewart, S., Robertson, C., Pan, J., Kennedy, S., Haahr, L., Manoukian, S., Mason, H., Kavanagh, K., Graves, N., Dancer, S. J., Cook, B., & Reilly, J. (2021). Impact of healthcare-associated infection on length of stay. *Journal of Hospital Infection*, *114*, 23–31. https://doi.org/10.1016/j.jhin.2021.02.026

Tacconelli, E., Carrara, E., Savoldi, A., Harbarth, S., Mendelson, M., Monnet, D. L., Pulcini, C., Kahlmeter, G., Kluytmans, J., Carmeli, Y., Ouellette, M., Outterson, K., Patel, J., Cavaleri, M., Cox, E. M., Houchens, C. R., Grayson, M. L., Hansen, P., Singh, N., … Zorzet, A. (2018). Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *The Lancet Infectious Diseases*, *18*(3), 318–327. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30753-3

Turbawaty, D. K., Logito, V., & Tjandrawati, A. (2021). *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) Patterns and Antibiotic Susceptibility in Surgical and Non-Surgical Patients in a Tertiary Hospital in Indonesia. *Majalah Kedokteran Bandung*, *53*(3), 148–154. https://doi.org/10.15395/mkb.v53n3.2396

Wu, H., Jia, C., Wang, X., Shen, J., Tan, J., Wei, Z., Wang, S., Sun, D., Xie, Z., & luo, F. (2023). The impact of methicillin resistance on clinical outcome among patients with *Staphylococcus aureus* osteomyelitis: a retrospective cohort study of 482 cases. *Scientific Reports*, *13*(1). https://doi.org/10.1038/s41598-023-35111-w

Zhen, X., Lundborg, C. S., Zhang, M., Sun, X., Li, Y., Hu, X., Gu, S., Gu, Y., Wei, J., & Dong, H. (2020). Clinical and economic impact of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a multicentre study in China. *Scientific Reports*, *10*(1). https://doi.org/10.1038/s41598-020-60825-6

ERYTHTROCYTE SHAPE ABNORMALITIES IN SCHOOL-AGE-CHILDREN LIVING NEAR SMALL-SCALE GOLD MINING SEPANG SIMIN GUNUNG MAS

Dwi Purbayanti[1]* · Rinny Ardina[1] · Noor Fadillah[1] · Ika Putri Andini[1] · Fraulein Aryati[2]

[1] **Department Medical Laboratory Technology, Faculty of Medical Laboratory Technology, Universitas Muhammadiyah Palangkaraya, Indonesia**
[2] **Department of Clinical Pathology, Dr. Doris Sylvanus General Academic Hospital, Palangka Raya, Indonesia**

e-Mail: dwi.purbayanti@gmail.com
No Tlp WA : +62 853-4669-8111

Abstract

Artisanal and Small-Scale Gold Mining (ASGM) poses a significant risk of environmental contamination and may affect children's health through exposure to heavy metals such as mercury (Hg). Such exposure can potentially disrupt the hematopoietic system, particularly red blood cell (RBC) morphology. This study aimed to describe the RBC morphology among children living near ASGM areas in Sepang Simin, Gunung Mas District, Central Kalimantan. A cross-sectional design was conducted involving 43 elementary school children. Blood smears were examined using Giemsa staining, and data were analyzed descriptively. A total of 81.4% of children exhibited abnormal RBC morphology, most commonly microcytic-hypochromic cells (65.1%). Ovalocytes and elliptocytes were also predominant, particularly among boys and children with exposure durations longer than five years. Children residing near ASGM sites showed a high prevalence of RBC morphological abnormalities, predominantly microcytic-hypochromic changes. These findings highlight the need for continuous monitoring and further evaluation of hematological profiles, especially among children living in mercury-affected areas.

***Keywords**: Erythrocyte Morfology, ASGM, Children, Mercury*

INTRODUCTION

Artisanal and Small-Scale Gold Mining (ASGM) remains a major livelihood strategy for rural populations across developing countries. While economically beneficial, the environmental and health risks associated with ASGM are increasingly alarming. Mercury (Hg), commonly used in gold amalgamation due to its cost-effectiveness and simplicity, is the predominant contaminant in these operations. Mercury exposure can occur through inhalation of vapor, ingestion of contaminated food and water, or dermal contact with mining waste (Capitão et al., 2022). Heavy metal toxicity in children has been associated

with a variety of health issues. Several studies have reported that exposure to heavy metals such as mercury and lead is linked to an increased risk of neurodevelopmental disorders, reduced cognitive function, and, in the long term, may contribute to the onset of chronic conditions such as cancer and hematologic disorders (Heng et al., 2022). Epidemiological and biomonitoring studies among children in mining areas have indicated correlations between heavy metal exposure and altered hematological parameters. Capitão et al. (2020) found that blood lead levels in children were negatively correlated with hemoglobin and MCH, and positively associated with RDW. This suggests that higher lead exposure is associated with decreased Hb levels and smaller erythrocyte indices along with increased red cell size variability (RDW) (Capitão et al., 2022). This finding is consistent with a case report by Shah et al. (2025), which showed that 93% of boys in an industrial area with chronic lead exposure suffered from anemia, characterized by microcytic-hypochromic erythrocytes and marked anisopoikilocytosis on peripheral blood smears (Shah et al., 2025).

Mercury (Hg) is one of the primary contaminants in ASGM activities due to its use in gold extraction through amalgamation. A study by Piscopo et al. (2020) reported that exposure to inorganic mercury (mercuric chloride, $HgCl_2$) caused significant alterations in the structure and function of human erythrocytes Mercury has a high affinity for thiol (-SH) groups on erythrocyte proteins, leading to depletion of glutathione (GSH) and inhibition of antioxidant enzymes (SOD, CAT, GPx), which triggers oxidative stress (Ajsuvakova et al., 2020). This process induces lipid and membrane protein oxidation (e.g., Band 3, spectrin–ankyrin), reducing cell stability and deformability, and ultimately altering red blood cell morphology (Perrone et al., 2023). Children are more vulnerable to these toxic effects due to their developing physiological systems (Al osman et al., 2019). Although global evidence continues to strengthen the association between heavy metal exposure and erythrocyte morphology abnormalities and anemia in children, local data from Indonesia remain limited. Gunung Mas Regency in Central Kalimantan Province is one of the regions with intense ASGM

activity located close to residential areas, placing nearby populations at risk of repeated mercury exposure.

METHODES

This cross-sectional study involved 43 children enrolled in grades IV–VI at SDN 2 Sepang Simin. A total sampling technique was applied using inclusion criteria (aged 8–12 years, residing in Sepang Simin for ≥2 years) and exclusion criteria (current illness, history of hematological disorders, or absence during sample collection). Prior to data collection, written informed consent was obtained from parents or legal guardians to approve the child's participation in this study.

Approximately 3 mL of venous blood was drawn from each participant and collected in vacutainer tubes containing the anticoagulant Ethylenediaminetetraacetic acid (K_2EDTA). Peripheral blood smears were prepared and stained with Giemsa (Merck) following the standard Romanowsky staining protocol (Bain et al., 2017). The stained smears were examined under a light microscope (Olympus CX21) using a 100× oil immersion objective lens. Red blood cell morphological abnormalities were assessed by comparing findings with standard hematology atlases (Keohane et al., 2016).

This study received ethical approval from the Bioethics Committee, Faculty of Medicine, Sultan Agung Islamic University, Semarang (No. 410/X/024/Komisi Bioetik). Additional research permissions were granted by the Government of Gunung Mas Regency (No. 000.9.2/34/BAPPERIDA/IX/2024) and the Regional Education Office of Sepang (No. 420/33/04.02/KORWIL-SP/IX/2024). Descriptive data analysis was presented in terms of frequency, percentage, and graphical representation.

RESULT

This study aimed to examine the effects of mercury exposure on red blood cell (RBC) morphology in children at risk of environmental contamination.

Peripheral blood smear analysis revealed morphological abnormalities in the erythrocytes, as shown in Figure 1. Of the 43 blood samples analyzed from children living near ASGM sites in Sepang Simin, 35 (81.4%) exhibited abnormal RBC morphology, including microcytic hypochromic (65.1%), microcytic normochromic (9.3%), and normocytic hypochromic (7%). Only 8 of 43 children (18.6%) showed normal normocytic normochromic morphology.

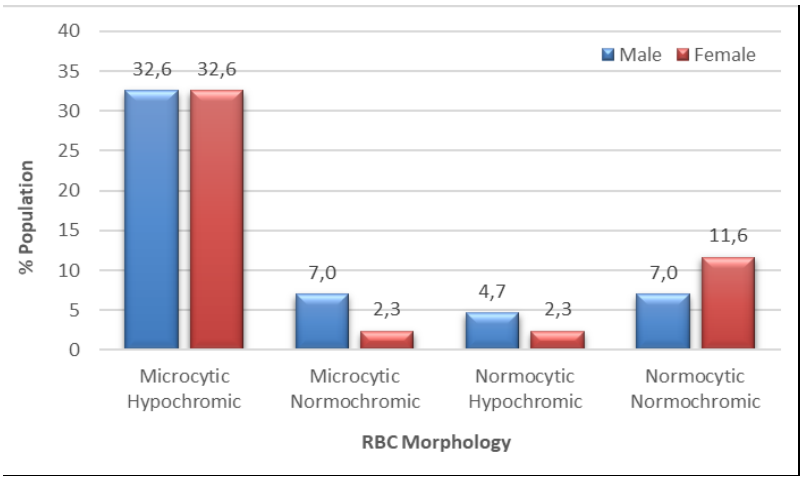


Figure 1. Red Blood Cell Morphological Findings in Male and Female Children

Figure 1 illustrates the distribution of RBC morphology by gender. The most prevalent abnormality, microcytic hypochromia, was observed in 33% of both boys and girls. In addition, boys showed a higher proportion of microcytic normochromic and normocytic hypochromic cells, while girls more frequently displayed normocytic normochromic morphology. The equal proportion of microcytic hypochromic findings across genders suggests a uniform impact on both boys and girls in this population.

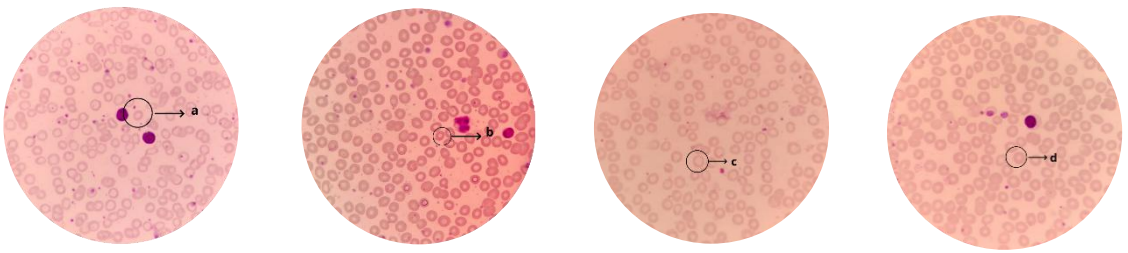


Figure 2. Red Blood Cell Morphology; a) Microcytic Hypochromic, b) Microcytic Normochromic, c) Normocytic Hypochromic, d) Normocytic Normochromic

Figure 2 depicts examples of RBC morphological abnormalities: (a) microcytic hypochromic cells, characterized by reduced size and increased central pallor; (b) microcytic normochromic cells with normal central pallor; (c) normocytic hypochromic cells with standard size but pale appearance; and (d) normocytic normochromic cells with normal shape and coloration.

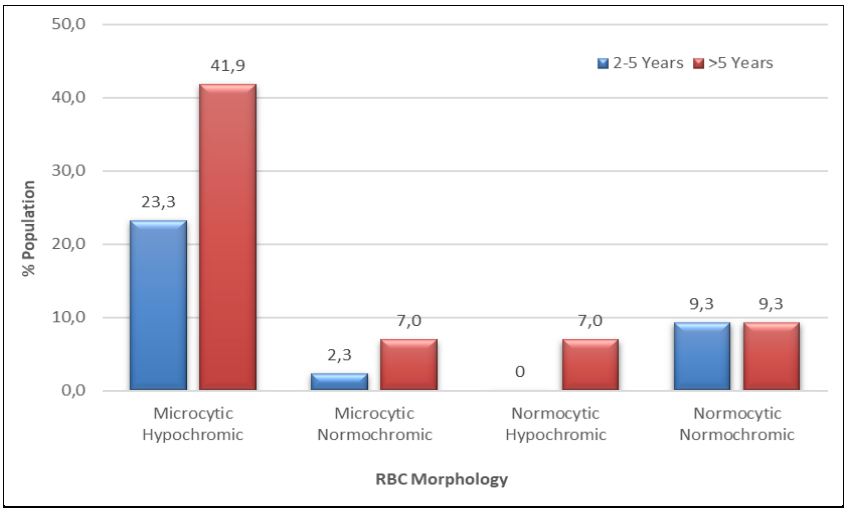


Figure 3. Red Blood Cell Morphological Findings Based on Duration of Exposure

The distribution of erythrocyte morphology by exposure duration showed a less favorable profile in children exposed for >5 years compared with those exposed for 2–5 years. Microcytic hypochromia was significantly more common among children with >5 years of exposure (41.9%) than those exposed for 2–5 years (23.3%). Microcytic normochromia was also more frequent in the >5 years group (7%) compared to the 2–5 years group (2.3%). Normocytic hypochromia was only found in the longer exposure group (7%), while normocytic normochromic morphology showed an equal distribution in both groups (9.3%).

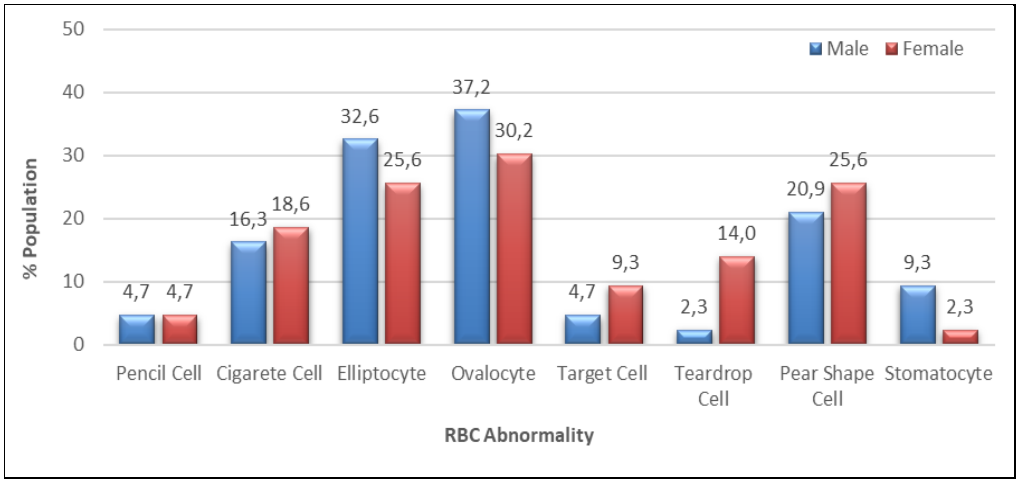


Figure 4. Abnormal Red Blood Cell Shapes in Blood Smears by Sex

Figure 4 presents RBC shape abnormalities by sex. Ovalocytes were the most common, seen in 37.2% of boys and 30.2% of girls. Elliptocytes followed, occurring in 32.6% of boys and 25.6% of girls. Pear-shaped cells were more prevalent in girls (25.6%) than boys (20.9%). Cigarette cells appeared in 16.3% of boys and 18.6% of girls, target cells in 4.7% of boys and 9.3% of girls, and pencil cells in 4.7% of both. Notably, teardrop cells were more frequent in girls (14%) than boys (2.3%), while stomatocytes appeared more often in boys (9.3%) than girls (2.3%).

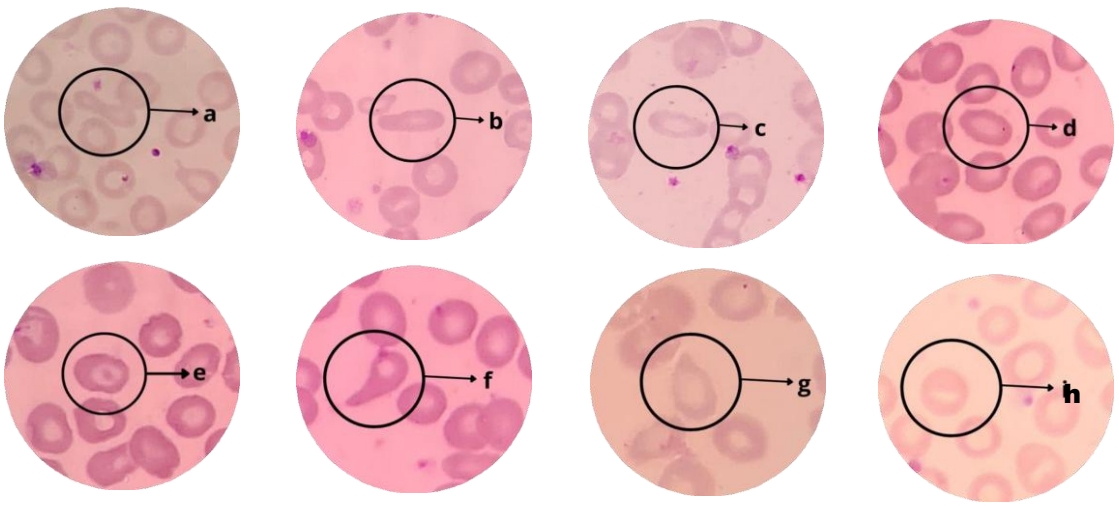


Figure 5. Abnormal Red Blood Cell Shapes Observed in Peripheral Blood Smears; a) Pencil cell, b) cigaratte cell, c) Elliptocyte, d) Ovalocyte, e) Target cell, f) Teardrop cell, g) Pear shape cell, h) Stomatocyte

Figure 5 presents peripheral blood smear preparations showing various morphological abnormalities of red blood cells (RBCs) observed in children residing near artisanal and small-scale gold mining (ASGM) areas. The identified abnormal forms include pencil cells, cigarette cells, elliptocytes, ovalocytes, target cells, teardrop cells, pear-shaped cells, and stomatocytes. Among these, elliptocytes and ovalocytes were the most predominant findings in male children, indicating that boys are more susceptible to erythrocyte deformation due to higher physical activity and greater environmental exposure. In contrast, female children more frequently exhibited cigarette cells, target cells, teardrop cells, and pear-shaped cells, reflecting osmotic imbalance and membrane instability possibly associated with chronic environmental stress

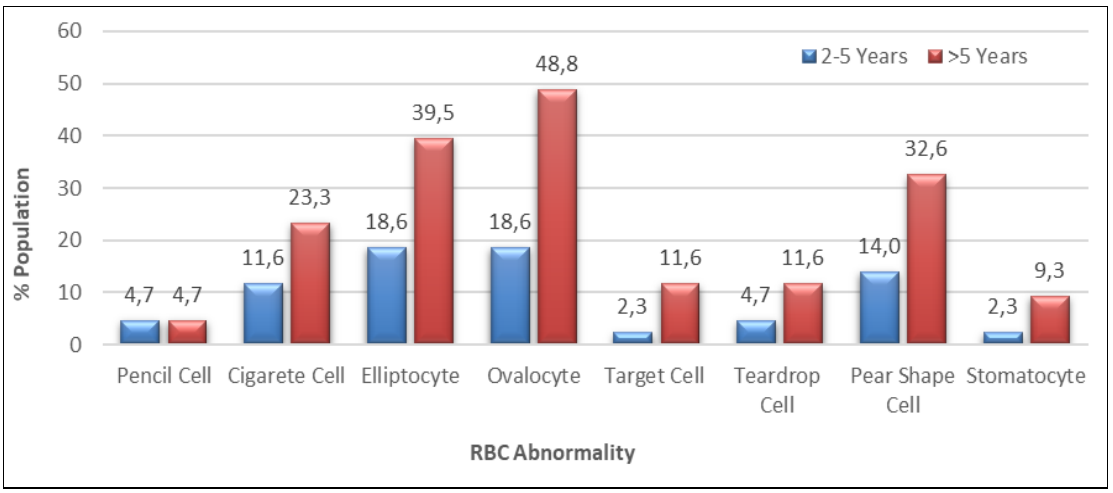


Figure 6. Abnormal Red Blood Cell Shapes in Blood Smears Based on Duration of Exposure

Figure 6 categorizes morphological abnormalities based on exposure duration. Ovalocytes were dominant in the >5 years group (48.8%) compared to 2–5 years (18.6%). Elliptocytes were also higher in the >5 years group (39.5%) versus 18.6% in the shorter exposure group. Pear-shaped cells were more common in >5 years exposure (32.6%) than 2–5 years (14%). Other abnormalities such as cigarette cells, target cells, teardrop cells, and stomatocytes were also more frequent in the long-term exposure group. Pencil cells showed equal distribution (4.7%) in both groups.

DISCUSSION

The data indicate that most children residing near ASGM in Sepang Simin exhibit microcytic hypochromic RBC morphology, with boys showing slightly more abnormalities, and those with >5 years of residence exhibiting the highest prevalence. Microcytic hypochromic morphology refers to small-sized RBCs with pale centers due to low hemoglobin content, commonly associated with iron deficiency anemia, anemia of inflammation, thalassemia, Hb E disease or trait, and sideroblastic anemia (Keohane et al., 2016).

Similar findings were reported in lead-exposed children in Shandi Pura, where the predominant RBC morphology was microcytic hypochromic(Shah et al., 2025). According to Balali-Mood et al. (2021), heavy metals like mercury, lead, chromium, cadmium, and arsenic induce erythrocyte toxicity through shared mechanisms including reactive oxygen species (ROS) generation, antioxidant depletion, enzyme inactivation, and oxidative stress—factors that drive morphological changes (Balali-Mood et al., 2021).

ASGM activities are known to release elemental mercury vapor into the air and contaminate surface water, soil, and the food chain, especially fish. Consequently, not only miners but also their families and children living nearby are exposed (Wu et al., 2024). Mercury and cyanide levels in the Kahayan River—a major river in Sepang Simin linked to ASGM—have exceeded class-2 river water quality standards (Abigani et al., 2023). Hair mercury levels in children from ASGM areas were mostly above international health exposure limits (1–2 µg/g), correlating with anemia, altered hematological parameters, neurocognitive impairment, and growth disturbances (Weinhouse et al., 2017).

This study also found that children who had lived >5 years near ASGM sites exhibited higher proportions of all RBC abnormalities. Boys were more likely to show ovalocytes, elliptocytes, and stomatocytes, while girls showed higher frequencies of pear-shaped, teardrop, target, and cigarette cells. The abundance of abnormal RBC morphologies suggests chronic exposure to mining-

related contaminants, especially mercury (Hg), in children residing near ASGM activities in Sepang Simin.

In vitro studies have demonstrated that mercury induces structural and metabolic alterations in RBCs, including modifications to hemoglobin tetramers (Hg-Hb complexes) and membrane proteins such as cytoskeletal elements—leading to morphological deformation (Notariale et al., 2022). Mercury-induced oxidative stress damages membrane proteins (e.g., Band 3, spectrin/ankyrin), reducing RBC deformability and shifting cell shapes into abnormal forms (Perrone et al., 2023).

CONCLUSION

This study revealed abnormal erythrocyte morphology in children living near artisanal gold mining areas (ASGM). Predominantly showing microcytic hypochromic cell with ovalocytes and elliptocytes as the main findings. In additional this condition may also be associated with iron deficiency, nutritional disorders, or underlying infections which require further evaluation.

ACKNOWLADGEMENT

This study expresses sincere gratitude to SDN 2 Sepang Simin, the Coordinator of the Sepang Simin Education Region, and the entire research team for their valuable scientific contributions.

CONFLICT OF INTEREST

This study has not conflict of interest.

REFERENCE

Abigani, R., Wartono, S., Indrajaya, F., & Kristiawan, J. (2023). Analisis Pengaruh Pertambangan Emas Tanpa Izin Berdasarkan Data Mutu Air Sungai Kahayan Pada Dinas Lingkungan Hidup Provinsi Kalimantan Tengah. *JURNAL TEKNOLOGI MINERAL FT UNMUL*, *11*, 1. https://doi.org/10.30872/jtm.v11i2.12916

Ajsuvakova, O. P., Tinkov, A. A., Aschner, M., Rocha, J. B. T., Michalke, B.,

Skalnaya, M. G., Skalny, A. V, Butnariu, M., Dadar, M., Sarac, I., Aaseth, J., & Bjørklund, G. (2020). Sulfhydryl groups as targets of mercury toxicity. *Coordination Chemistry Reviews*, *417*, 213343. https://doi.org/10.1016/j.ccr.2020.213343

Al osman, M., Yang, F., & Massey, I. Y. (2019). Exposure routes and health effects of heavy metals on children. *BioMetals*, *32*(4), 563–573. https://doi.org/10.1007/s10534-019-00193-5

Balali-Mood, M., Naseri, K., Tahergorabi, Z., Khazdair, M. R., & Sadeghi, M. (2021). Toxic Mechanisms of Five Heavy Metals: Mercury, Lead, Chromium, Cadmium, and Arsenic. *Frontiers in Pharmacology*, *12*, 643972. https://doi.org/10.3389/fphar.2021.643972

Capitão, C., Martins, R., Santos, O., Bicho, M., Szigeti, T., Katsonouri, A., Bocca, B., Ruggieri, F., Wasowicz, W., Tolonen, H., & Virgolino, A. (2022). Exposure to heavy metals and red blood cell parameters in children: A systematic review of observational studies. *Frontiers in Pediatrics*, *10*. https://doi.org/10.3389/fped.2022.921239

Elaine M Keohane, L. J. S. J. (2016). *Rodak's Hematology Clinical Principles And Applications Fifth*. Elsevier.

Heng, Y. Y., Asad, I., Coleman, B., Menard, L., Benki-Nugent, S., Were, F. H., Karr, C. J., & McHenry, M. S. (2022). Heavy Metals and Neurodevelopment of Children in Low and Middle-Income Countries: A Systematic Review. *Plos One*, *17*(3), e0265536. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0265536

Notariale, R., Längst, E., Perrone, P., Crettaz, D., Prudent, M., & Manna, C. (2022). Effect of Mercury on Membrane Proteins, Anionic Transport and Cell Morphology in Human Erythrocytes. *Cellular Physiology and Biochemistry : International Journal of Experimental Cellular Physiology, Biochemistry, and Pharmacology*, *56*(5), 500–513. https://doi.org/10.33594/000000572

Perrone, P., Spinelli, S., Mantegna, G., Notariale, R., Straface, E., Caruso, D., Falliti, G., Marino, A., Manna, C., Remigante, A., & Morabito, R. (2023). Mercury Chloride Affects Band 3 Protein-Mediated Anionic Transport in Red Blood Cells: Role of Oxidative Stress and Protective Effect of Olive Oil Polyphenols. *Cells*, *12*(3). https://doi.org/10.3390/cells12030424

Shah, F. A., Munir, R., Iqbal, A., Shoaib, N., Jamil, N., Batool, R., Lutfi, A., & Zaidi, N. (2025). Poisoned in their homes - Red blood cell abnormalities in lead-exposed residents of a Pakistani Industrial Zone. *Environmental Monitoring and Assessment*, *197*(2), 197. https://doi.org/10.1007/s10661-025-13643-0

Weinhouse, C., Ortiz, E. J., Berky, A. J., Bullins, P., Hare-Grogg, J., Rogers, L.,

Morales, A.-M., Hsu-Kim, H., & Pan, W. K. (2017). Hair Mercury Level is Associated with Anemia and Micronutrient Status in Children Living Near Artisanal and Small-Scale Gold Mining in the Peruvian Amazon. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, *97*(6), 1886–1897. https://doi.org/10.4269/ajtmh.17-0269

Wu, Y. S., Osman, A. I., Hosny, M., Elgarahy, A. M., Eltaweil, A. S., Rooney, D. W., Chen, Z., Rahim, N. S., Sekar, M., Gopinath, S. C. B., Mat Rani, N. N. I., Batumalaie, K., & Yap, P. S. (2024). The Toxicity of Mercury and Its Chemical Compounds: Molecular Mechanisms and Environmental and Human Health Implications: A Comprehensive Review. *ACS Omega*, *9*(5), 5100–5126. https://doi.org/10.1021/acsomega.3c07047

ASSOCIATION BETWEEN DENGUE VIRUS NS1 ANTIGEN AND INTERLEUKIN-6 (IL-6) LEVELS AS A PREDICTOR OF INFLAMMATORY RESPONSE IN DENGUE HEMORRHAGIC FEVER

Galuh Prapita Sari[1] · Ichwan Baihaki[2] · Soraya[1]

[1]Medical Laboratory Technology Programme, Politeknik Kesehatan Genesis Medicare, Depok, Indonesia
[2]Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jakarta, Indonesia

e-Mail: galuhprapitasari11@gmail.com

ABSTRACT

***Introduction**: Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) is a tropical infectious disease that often causes systemic inflammation. Interleukin-6 (IL-6) is a key inflammatory mediator in dengue virus infection, and detection of Nonstructural 1 (NS1) protein is widely used as an early marker of DHF. This study aimed to analyze IL-6 levels in DHF patients and examine the relationship between NS1 protein presence and IL-6 levels. **Methods**: IL-6 levels were measured using the immunofluorescence assay method. An independent T-test was used to compare IL-6 levels between DHF patients and non-DHF controls, and regression analysis was performed to assess the relationship between NS1 protein presence and IL-6 levels. **Results**: Among NS1-positive DHF patients, 82% (23/28) exhibited abnormal IL-6 levels, while 18% (5/28) had normal IL-6 levels, resulting in a sensitivity of 82%. The mean IL-6 level in DHF patients was 17.50, compared to 2.00 in the non-DHF group. Independent T-test analysis revealed a significant difference between the two groups ($P < 0.05$). Regression analysis demonstrated a positive correlation between NS1 protein presence and elevated IL-6 levels in DHF patients. **Conclusion**: IL-6 levels are significantly increased in DHF patients compared to healthy individuals, and the presence of NS1 protein is positively correlated with IL-6 levels. IL-6 may serve as a potential inflammatory biomarker for the diagnosis and clinical monitoring of DHF.*
***Keywords**: Dengue Hemorrhagic Fever (DHF), Interleukin-6 (IL-6), Inflammatory response.*

INTRODUCTION

Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) is a mosquito-borne viral disease caused by the dengue virus (DENV), transmitted primarily through *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* vectors. It remains a major public health concern globally, particularly in tropical and subtropical regions (Dirjen P2P Kementerian Kesehatan RI, 2019). Since early 2024, over 14 million dengue cases and more than 10,000 deaths have been reported worldwide. The World Health Organization (WHO) documented over 12 million cases in 2024, with 53% confirmed by laboratory testing and more than 7,000 associated deaths (European Centre For Disease Prevention And Control, 2024).

In Indonesia, the Ministry of Health reported 53,131 dengue cases and 404 deaths as of March 2024. These figures increased to 60,296 cases and 455 deaths in the following month. In Jakarta alone, 1,729 cases were reported, with the highest

incidence in West Jakarta (562 cases), followed by South Jakarta (450), East Jakarta (395), Central Jakarta (115), and the Thousand Islands (13) (Dinas Kesehatan Provinsi DKI Jakarta, 2024).

Dengue virus is a positive-sense single-stranded RNA virus from the *Flaviviridae* family, comprising 5'UTR, an open reading frame (ORF), and 3'UTR. The ORF encodes three structural proteins (C, prM, and E) and seven non-structural proteins (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5) (Harapan et al., 2020).Among these, NS1 is of particular interest due to its unique secretion into the bloodstream during infection, contributing to viral pathogenesis (Bhatt et al., 2021). NS1 exists both as a membrane-associated form (mNS1) and a secreted soluble form (sNS1), with elevated sNS1 levels during the acute phase correlating with disease severity (Dhole et al., 2024). NS1 is known to disrupt endothelial cell integrity by triggering inflammatory cytokine production via Toll-like receptor 4 (TLR-4) activation on macrophages and mononuclear cells (Bhatt et al., 2021).

Although the exact pathogenesis of DENV infection and DHF progression is not fully understood, it is widely accepted that the host immune response plays a critical role. Severe manifestations tend to arise when the immune system actively clears the virus. Disease severity is influenced by both viral and host-related factors. Host factors include age, sex, and immune responses such as autoimmunity, T-cell activation, and antibody-dependent enhancement (ADE), all of which may contribute to cytokine storms (Bhatt et al., 2021). Viral factors include serotype, genotype, and soluble mediators such as NS1 (Kularatne & Dalugama, 2022).

A key contributor to disease severity is immune overactivation, leading to cytokine storm syndromes and increased vascular permeability. This vascular leakage results in plasma loss, hemorrhage, shock, and potentially organ failure (Patro et al., 2019). Pathogenesis involves complex immune dysregulation, including the interplay of cellular immunity, complement activation, and ADE (Bhatt et al., 2021).

Cytokine dysregulation has been shown to play a pivotal role in DHF and dengue shock syndrome (DSS) (Masyeni et al., 2024).Key pro-inflammatory cytokines such as TNF-α, IL-6, and IL-17 are significantly elevated in severe cases (Liu et al., 2021; Puc et al., 2021). Anti-inflammatory cytokines such as IL-10 and TGF-ß are also elevated, suggesting a dual cytokine response. Early identification of pro- and

anti-inflammatory cytokines could help predict disease severity and guide clinical decisions (Fiestas Solórzano et al., 2022).

IL-6 is a multifunctional cytokine with various immunological effects, particularly in inducing acute-phase inflammatory responses (Irawan et al., 2021). Recent studies by Prajapati et al. (2024) identified IL-6 as the most elevated pro-inflammatory cytokine in DHF patients (Prajapati et al., 2024). IL-6 levels were significantly higher in DHF compared to classic dengue fever, especially in patients presenting with shock (Masyeni et al., 2024). These findings highlight the potential of IL-6 as a predictive biomarker for dengue severity.

Given these observations, investigating the relationship between NS1 antigen and IL-6 levels in DHF patients is essential to explore their potential as combined biomarkers for assessing the severity of the inflammatory response.

METHODES

This case-control study was conducted at the Clinical Laboratory of Yarsi Hospital between January 2024 and April 2025. The research aimed to examine the relationship between dengue virus NS1 antigen and interleukin-6 (IL-6) levels in patients with Dengue Hemorrhagic Fever (DHF), exploring IL-6 as a potential biomarker for cytokine storm and disease severity. Ethical approval was obtained from the Yarsi University Ethics Committee (approval number: 043/A/DIRUT/RSY/III/2025).

2.1 Study Design and Participants

A purposive sampling technique was used to recruit study participants. The total sample consisted of 56 individuals, divided into two groups: 28 DHF patients with confirmed NS1-positive results and 28 healthy individuals as controls. The minimum sample size was determined based on the Krejcie and Morgan formula, using a population proportion of 0.5, a confidence level of 95%, and a margin of error of 0.05.

2.2 Detection of Dengue NS1 Antigen

NS1 antigen detection was performed using a rapid immunochromatographic test. In this assay, NS1 antigens present in the serum or plasma react with anti-dengue NS1 antibodies immobilized on the test strip. This interaction forms an

antigen-antibody complex that migrates along the membrane, producing a visible test line that indicates a positive result.

2.3 Interleukin-6 Levels

IL-6 levels were measured using the Chemiluminescence Immunoassay (CLIA) method in a lateral flow format. In this procedure, serum or plasma samples were mixed with a buffer solution and applied to a cartridge. IL-6 in the sample binds to anti-IL-6 monoclonal antibodies labeled with fluorescent microspheres, forming antigen–antibody complexes. These complexes migrate along a nitrocellulose membrane and are captured by immobilized anti-IL-6 antibodies at the test region, producing a fluorescent signal directly proportional to IL-6 concentration.

2.4 Data Collection, Processing, and Statistical Analysis

Data were collected through direct observation of IL-6 test results. The independent variable was the presence of dengue NS1 antigen, while the dependent variable was the plasma IL-6 concentration. All IL-6 examination results were documented and processed statistically. IL-6 levels in the DHF and control groups were compared using an independent-samples t-test. A regression analysis was also conducted to assess the predictive relationship between NS1 antigen presence and IL-6 concentration. Statistical significance was set at $p < 0.05$.

RESULT AND DISCUSSION

This study evaluated the relationship between the presence of dengue virus NS1 antigen and serum IL-6 levels in patients with Dengue Hemorrhagic Fever (DHF). A total of 56 samples were analyzed, consisting of 28 NS1-positive DHF patients and 28 healthy controls. IL-6 levels were measured using the Chemiluminescence Immunoassay (CLIA) method during the acute phase of infection when NS1 levels are known to peak. The primary aim was to assess whether NS1 presence could be linked to increased IL-6 levels, indicating a heightened inflammatory response.

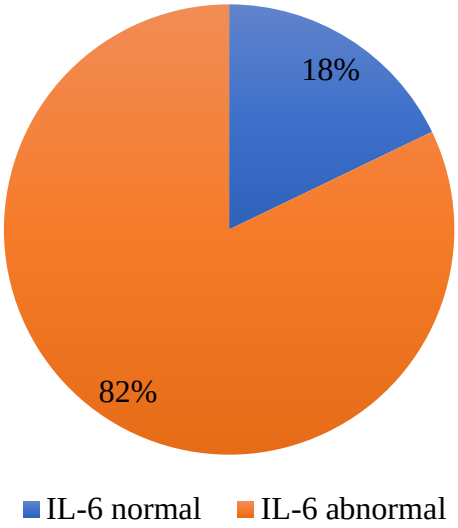


Figure 1. Distribution of IL-6 Levels in NS1-Positive Dengue Patients.

This figure illustrates the proportion of DHF patients with abnormal versus normal IL-6 levels. Among the 28 NS1-positive patients, 82% (23 patients) exhibited elevated IL-6 levels, while 18% (5 patients) had IL-6 within the normal range. These results indicate a high prevalence of IL-6 elevation in NS1-positive cases, suggesting that IL-6 may serve as a reliable inflammatory marker during the acute phase of dengue infection.

Table 1. Independent T-Test Analysis of IL-6 Levels Between DHF and healthy Patients

IL-6 Values	*X*	*SD*	*P*
DHF Patients	17.50	13.34	0,00
Healthy Patients	2.00	1.83	

An independent T-test demonstrated a statistically significant difference in IL-6 levels between DHF patients (mean: 17.50 ± 13.34 pg/mL) and the healthy control group (mean: 2.00 ± 1.83 pg/mL), with $p < 0.001$. These results strongly support the presence of systemic inflammation in NS1-positive dengue patients.

Table 2. Regression analysis between NS1 antigen and IL-6 levels

Variables	*P*	*R*
NS1 Antigen IL-6 levels	0.00	0.41

To further explore the relationship between NS1 antigen presence and IL-6 concentration, a regression analysis was conducted. The test showed a statistically significant correlation ($p < 0.05$) with a correlation coefficient of $R = 0.41$. This

indicates that 41% of the variability in IL-6 levels can be attributed to the presence of NS1 antigen, signifying a moderate but meaningful association. These findings are in line with previous studies, such as those by Dayarathna et al. (2020) and Malavige et al. (2020), which demonstrated increased levels of IL-6 during the early phase of dengue infection due to innate immune activation. IL-6 is a key mediator in the cytokine cascade and plays a central role in the acute phase of inflammation. Its elevation during early dengue infection may reflect the body's attempt to mount a rapid defense against viral replication. Dayarathna et al. (2020) observed that IL-6 levels were significantly higher in patients with more severe clinical presentations (Dayarathna et al., 2020), while Malavige et al. (2020) highlighted that the innate immune system, particularly monocytes and dendritic cells, can be rapidly activated upon viral entry, triggering IL-6 production as part of a systemic inflammatory response (Malavige et al., 2020).

IL-6 is a pro-inflammatory cytokine that plays a pivotal role in the pathophysiology of severe dengue infections. Elevated IL-6 levels have been reported to be associated with vascular permeability, plasma leakage, and progression to severe clinical manifestations. The early presence of NS1 antigen may contribute to this cytokine surge by activating the complement system, particularly through the formation of the membrane attack complex (MAC), which in turn stimulates macrophages to release IL-6 and other inflammatory mediators (Pang et al., 2017). This mechanism suggests a cascade effect where NS1 indirectly drives the severity of the immune response through complement activation and cytokine release.

Consistent with our findings, Masyeni et al. (2024) also reported significantly higher levels of IL-6 in DHF patients compared to non-dengue individuals (Masyeni et al., 2024). Similarly, Findings from this study are further supported by previous investigations, including those by Mehta et al. (2017) and Priyadarshini et al. (2019), which demonstrated significantly elevated levels of IL-6, along with other pro-inflammatory cytokines such as IL-8 and TNF-α, in patients with severe dengue. These elevated cytokine levels are strongly associated with the pathophysiological mechanisms underlying dengue severity, particularly in cases progressing to Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) or Dengue Shock Syndrome (DSS) (Mehta et al., 2017; Priyadarshini et al., 2019).

Increase of IL-6 has been implicated as a key driver of systemic inflammatory responses in viral infections, including dengue. In severe cases, excessive production of IL-6 and related cytokines can lead to a "cytokine storm," which contributes to endothelial dysfunction and increased vascular permeability—hallmarks of severe dengue.

Chaturvedi et al. (2010) provided critical insights into the downstream effects of elevated IL-6, highlighting its potential role in triggering coagulopathy and vascular instability. The study emphasized that IL-6 may be involved in the activation of coagulation cascades, contributing to complications such as disseminated intravascular coagulation (DIC), a severe condition frequently observed in critical dengue cases. The cytokine-mediated activation of endothelial cells and platelets further exacerbates vascular leakage and hemorrhagic tendencies, which are central to the clinical deterioration in DHF/DSS (Chaturvedi et al., 2010). Taken together, the consistent elevation of IL-6 observed in this and prior studies reinforces its role not only as a biomarker of dengue severity but also as an active participant in disease progression, particularly in triggering inflammatory and coagulation pathways that can lead to life-threatening outcomes.

CONCLUSION

This study demonstrates that IL-6 levels are markedly elevated in patients with Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) who are positive for NS1 antigen. The presence of NS1 antigen is associated with increased IL-6, suggesting its role in triggering early immune responses. Elevated IL-6 may serve as a potential predictor of cytokine storm and reflect the severity of dengue infection. These findings highlight the utility of IL-6 as an early biomarker for identifying patients at risk of developing severe dengue complications, supporting its integration into clinical monitoring and management strategies.

ACKNOWLADGEMENT

The authors would like to express their sincere gratitude to the management and laboratory staff of Yarsi Hospital for their support and cooperation throughout the data collection and sample analysis process. Special thanks are extended to the patients and control subjects who participated in this study. We also acknowledge the Faculty of Medicine at Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jakarta for their guidance and academic support. This research was conducted with adherence to ethical principles, and we are grateful to the institutional ethics committee for their approval and oversight.

REFERENCE

Bhatt, P., Sabeena, S. P., Varma, M., & Arunkumar, G. (2021). Current Understanding of the Pathogenesis of Dengue Virus Infection. *Current Microbiology*, *78*(1), 17–32. https://doi.org/10.1007/s00284-020-02284-w

Chaturvedi, U. C., Agarwal, R., Elbishbishi, E. A., & Mustafa, A. S. (2010). Cytokine cascade in dengue hemorrhagic fever: implications for pathogenesis. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, *28*(3), 183–188. https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2000.tb01474.x

Dayarathna, S., Jeewandara, C., Gomes, L., Somathilaka, G., Jayathilaka, D., Vimalachandran, V., Wijewickrama, A., Narangoda, E., Idampitiya, D., Ogg, G. S., & Malavige, G. N. (2020). Similarities and differences between the "cytokine storms" in acute dengue and COVID-19. *Scientific Reports*, *10*(1), 19839. https://doi.org/10.1038/s41598-020-76836-2

Dhole, P., Zaidi, A., Nariya, H. K., Sinha, S., Jinesh, S., & Srivastava, S. (2024). Host Immune Response to Dengue Virus Infection: Friend or Foe? *Immuno*, *4*(4), 549–577. https://doi.org/10.3390/immuno4040033

Dinas Kesehatan Provinsi DKI Jakarta. (2024). *Pemberantasan Sarang Nyamuk Efektif Tekan Kasus DBD*. https://dprd-dkijakartaprov.go.id/pemberantasan-sarang-nyamuk-efektif-tekan-kasus-dbd/

Dirjen P2P Kementerian Kesehatan RI. (2019). Kesiapsiagaan Mengahdapi Peningkatan Kejadian Demam Berdarah Dengue Tahun 2019. *Kemenkes RI*.

European Centre For Disease Prevention And Control. (2024). *Gambaran umum demam berdarah di seluruh dunia*.

Fiestas Solórzano, V. E., de Lima, R. C., & de Azeredo, E. L. (2022). The Role of Growth Factors in the Pathogenesis of Dengue: A Scoping Review. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, *11*(10). https://doi.org/10.3390/pathogens11101179

Harapan, H., Michie, A., Sasmono, R. T., & Imrie, A. (2020). Dengue: A minireview. *Viruses*, *12*(8), 1–35. https://doi.org/10.3390/v12080829

Irawan, R., Mahmudiono, T., & Martiana, T. (2021). Interleukin-6 as immune system and inflammation biomarker on the response of basic pencak silat exercise in perguruan pencak silat perisai diri, bojonegoro. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, *9*(T6), 179–183. https://doi.org/10.3889/oamjms.2021.7303

Kularatne, S. A., & Dalugama, C. (2022). Dengue infection: Global importance, immunopathology and management. *Clinical Medicine, Journal of the Royal College of Physicians of London*, *22*(1), 9–13. https://doi.org/10.7861/clinmed.2021-0791

Liu, C., Chu, D., Kalantar-Zadeh, K., George, J., Young, H. A., & Liu, G. (2021). Cytokines: From Clinical Significance to Quantification. *Advanced Science (Weinheim, Baden-Wurttemberg, Germany)*, *8*(15), e2004433. https://doi.org/10.1002/advs.202004433

Malavige, G. N., Jeewandara, C., & Ogg, G. S. (2020). *Dysfunctional Innate Immune Responses and Severe Dengue*. *10*(October), 1–9. https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.590004

Masyeni, S., Wardhana, I. M. W., & Nainu, F. (2024). Cytokine profiles in dengue fever and dengue hemorrhagic fever: A study from Indonesia. *Narra J*, *4*(1), 8–13. https://doi.org/10.52225/narra.v4i1.309

Mehta, V. K., Verma, R., Garg, R. K., Malhotra, H. S., Sharma, P. K., & Jain, A. (2017). Study of interleukin-6 and interleukin-8 levels in patients with neurological manifestations of dengue. *Journal of Postgraduate Medicine*, *63*(1), 11–15. https://doi.org/10.4103/0022-3859.188545

Pang, X., Zhang, R., & Cheng, G. (2017). Progress towards understanding the pathogenesis of dengue hemorrhagic fever. *Virologica Sinica*, *32*(1), 16–22. https://doi.org/10.1007/s12250-016-3855-9

Patro, A. R. K., Mohanty, S., Prusty, B. K., Singh, D. K., Gaikwad, S., Saswat, T., Chattopadhyay, S., Das, B. K., Tripathy, R., & Ravindran, B. (2019). Cytokine Signature Associated with Disease Severity in Dengue. *Viruses*, *11*(1). https://doi.org/10.3390/v11010034

Prajapati, H., Kumar, V., Mittal, G., & Saxena, Y. (2024). Pro- and anti-inflammatory cytokines signatures at different severity of dengue infection. *Journal of Family Medicine and Primary Care*, *13*(5). https://journals.lww.com/jfmpc/fulltext/2024/13050/pro__and_anti_inflammatory_cytokines_signatures_at.56.aspx

Priyadarshini, D., Gadia, R. R., Tripathy, A., Gurukumar, K. R., Bhagat, A., Patwardhan, S., Mokashi, N., Vaidya, D., Shah, P. S., & Cecilia, D. (2019). Clinical findings and pro-inflammatory cytokines in dengue patients in Western India: a facility-based study. *PloS One*, *5*(1), e8709. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008709

Puc, I., Ho, T.-C., Yen, K.-L., Vats, A., Tsai, J.-J., Chen, P.-L., Chien, Y.-W., Lo, Y.-C., & Perng, G. C. (2021). Cytokine Signature of Dengue Patients at Different Severity of the Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(6). https://doi.org/10.3390/ijms22062879

DETECTION OF HNF1A GENE MUTATION RELATED TO MATURITY-ONSET DIABETES OF THE YOUNG (MODY) IN A DIABETES MELLITUS PATIENT USING SEQUENCING

Larasati Putri Maynar[1*] · Fusvita Merdekawati[1] · Betty Nurhayati[1] · Asep Iin Nur Indra[1]

[1]Medical Laboratory Technology, Bandung Ministry of Health Polytechnic, Bandung, Indonesia

e-Mail: larasatiputri.d4tlm1a@student.poltekkesbandung.ac.id
No Tlp WA : 087789617115

Abstract

Maturity-Onset Diabetes of the Young (MODY) is a monogenic form of diabetes caused by genetic mutations, including those in the HNF1A gene, and is often misdiagnosed as type 1 or type 2 diabetes. This study aims to detect HNF1A gene mutations in patients suspected of having MODY using Sanger sequencing to support a more specific diagnosis. The research methods include DNA isolation from two patient samples, followed by amplification of ten exons of the HNF1A gene using conventional PCR, analysis of amplification results using agarose gel electrophoresis, and and sequence analysis of Sanger sequencing results. Sequencing results were analyzed using BioEdit and ClustalW software to identify mutations relative to the HNF1A gene reference sequence (NM_001306179.2). Six point mutations were identified in the HNF1A gene, distributed across exons 7, 9, and 10, consisting of one silent mutation (p.Leu459Leu), four missense mutations (p. Gln460His, p.Ser486Asn, p.Ser581Gly, and p.Val705Leu). The identified mutations have the potential to affect the structure and function of the HNF1A protein, including the transcription activation domain, which is crucial in regulating the expression of target genes. This study demonstrates that the detection of genetic mutations, especially in HNF1A, is important in accurately diagnosing MODY as well as determining appropriate theraphy approaches, such as the use of sulfonylureas as an alternative to insulin.

Keyword: Gene Mutation; HNF1A; MODY; Monogenic Diabetes; Sanger Sequencing

INTRODUCTION

Diabetes mellitus (DM) is a chronic disease that occurs when blood sugar levels are too high. According to the International Diabetes Federation (IDF), in 2021 there were approximately 536.6 million cases of diabetes in the world, with Indonesia ranking fifth (19.5 million cases) and expected to increase to 28.6 million by 2045. In addition to type 1 and 2 DM, there are monogenic diabetes such as Neonatal Diabetes Mellitus (NDM) and Maturity-onset Diabetes of the Young (MODY) caused by genetic mutations (IDF, 2021; Li et al., 2022).

MODY typically presents before the age of 25, is inherited in an autosomal dominant manner, and accounts for approximately 1-5% of diabetes mellitus (DM)

cases. MODY is characterized by impaired pancreatic ß-cell function and insulin secretion (Kant et al., 2022). MODY is often misdiagnosed as type 1 or 2 DM, so an accurate diagnosis is necessary. Biomarkers such as C-peptide, hs-CRP, ApoM, and autoantibodies, as well as lipid profiles, can aid in differentiation. However, genetic testing is highly recommended for confirming the diagnosis and improving the prognosis (Satman, 2023).

To date, 14 MODY-causing genes have been identified. The most common type is MODY3, which is caused by a mutation in the HNF1A gene (Jang, 2022). The HNF1A gene consists of ten exons, and mutations are most commonly found in exons two and four. Mutations in exons 8–10 are associated with a later onset than mutations in exons 1–6 (Pollack-Schreiber et al., 2023). Reported mutations include c.872C>G (p.Pro291Arg) (Iafusco et al., 2021) and c.758G>A (p.G253E) (Mohammadi et al., 2019). Specific detection of the HNF1A gene is essential for proper diagnosis and therapy. Sanger sequencing is the gold standard for identifying mutations because it can detect various DNA base changes, including missense, nonsense, silent mutations, insertions, deletions, and splicing (Ellard et al., 2013; Gomes & Korf, 2017).

This study was conducted to detect HNF1A gene mutations related to MODY in patients with diabetes mellitus using sequencing methods to provide an early indication for more accurate diagnosis and appropriate treatment.

MATERIALS AND METHODS

This study is an exploratory descriptive study with the aim of detecting HNF1A gene mutations in DM patients suspected of having MODY. Analysis was carried out on the target gene in exons 1-10 through a series of stages, including DNA isolation, amplification of the target gene, agarose gel electrophoresis, sequencing, and analysis of sequencing results to identify mutations.

The study sample was whole blood from one DM patient suspected of MODY. Given the limitations of the study, only one sample with ten treatments

representing each exon of the HNF1A gene was used. DNA isolation was carried out using the Promega Wizard® Genomic DNA Purification Kit, then the target gene in 10 exons was prepared using the Promega GoTaq® Green Master Mix kit protocol with forward and reverse primers for each exon and continued amplification using Conventional PCR. Amplification products were then examined using 1.5% agarose gel electrophoresis to confirm the presence of the target band. PCR products that were successfully amplified were then sent to PT Genetika Science Indonesia for analysis using Sanger sequencing. Sequencing data in the form of FASTA files were visualized using BioEdit for chromatogram analysis, while identification of the location and type of mutation was carried out with ClustalW through comparison to the HNF1A gene reference sequence.

RESULT

The visualization results of agarose gel electrophoresis performed using UV transilluminator are shown in Figure 1.

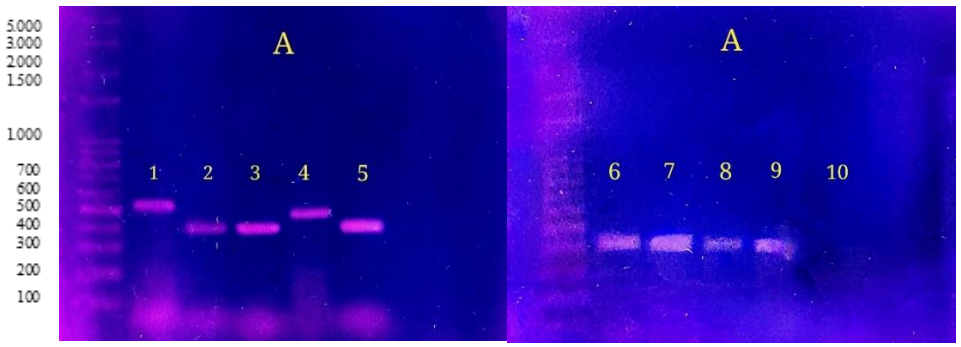


Figure 1. Sample electrophoresis results for exons 1-10

Figure 1 shows clear DNA bands in lanes 1 to 9 measuring 536 bp, 395 bp, 387 bp, 464 bp, 391 bp, 400 bp, 397 bp, 389 bp, and 375 bp, respectively. All bands appear single and clear, indicating successful amplification. However, no DNA bands were detected in lane 10, so the process was repeated using primers from a different brand to ensure accuracy.

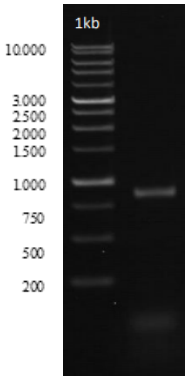


Figure 2. Repetition results of sample electrophoresis for exon 10

The results of the repetition are shown in Figure 2, where the exon 10 DNA bands are clearly visible at about 800 bp. The presence of these bands corresponds to the target size of each fragment, indicating successful and specific amplification.

Further analysis was conducted using ClustalW software to compare the nucleotide sequence of the sample to the reference sequence (NM_001306179.2) from NCBI to identify possible mutations.

```
NM_001306179.2_1536-1727      CCGGTCATCAACAGCATGGGCAGCAGCCTGACCACCCTGCAGCCCGTCCA
5374432_A7_7F                 CCGGTCATCAACAGCATGGGCAGCAGCCTGACCACCTTGCATCCCGTCCA
                              ************************************ **** ********
```

Figure 3. Exon 7 alignment results (1)

```
NM_001306179.2_1536-1727      TGCAGAGCCATGTGACCCAGAGCCCCTTCATGGCCACCATGGCTCAGCTG
5374432_A7_7F                 TGCAGAGCCATGTGACCCAGAACCCCTTCATGGCCACCATGGCTCAGCTG
                              ******************** ****************************
```

Figure 4. Exon 7 alignment results (2)

```
NM_001306179.2_1850-2015      CCCCAGCCAGGACCCTGCCAGCATCCAGCACCTGCAGCCGGCCCACCGGC
5374436_A9_9F                 CCCCAGCCAGGACCCTGCCGGCATCCAGCACCTGCAGCCGGCCCACCGGC
                              ******************** ****************************
```

Figure 5. Exon 9 alignment result

```
NM_001306179.2_2016-3463      CCAACCCGTGGAGGCTGCTCGGGGTGCACAGGAGGGGGTCGTGGAGAGCT
5426859_A10_10_F              CCAACCCGTGGAGGCTGCTCGGGTTGCACAGGAGGGGGTCGTGGAGAGCT
                              ********************** *************************
```

Figure 6. Exon 10 alignment result

DNA sequencing analysis of the target gene revealed five mutations spread across three different exons (7, 9, and 10), as shown in Figures 3, 4, 5, and 6. The mutations consist of five substitution mutations.

Table 1. Nucleotide base mapping results

No	Exon	Reference Nucleotide	Sample Nucleotide	Base Point	Type of Mutation	Description
1.	7	C	T	1375	Substitution (Transition)	Similar base changes
2.	7	G	T	1380	Substitution (Transversion)	Different base changes
3.	7	G	A	1460	Substitution (Transversion)	Similar base changes
4.	9	A	G	1741	Substitution (Transition)	Similar base changes
5.	10	G	T	2114	Substitution (Transversion)	Different base changes

Based on Table 1, three substitution mutations were identified in exon 7. A transitional substitution mutation occurred at position 1375 (C>T) indicating a change of pyrimidine base (cytosine) to pyrimidine (thymine). A transversion substitution mutation occurred at position 1380 (G>T) indicating a change of purine base (guanine) to pyrimidine (thymine). A transitional mutation occurred again at position 1460 (G>A) indicating a change in purine (guanine) base to purine (adenine). In exon 9, one substitution mutation was identified at position 1741 (A>G) which is a transitional mutation of purine (adenine) base change with purine (guanine). In exon 10, one substitution mutation was identified at position 2114 (G>T) which is a transversion mutation of purine (guanine) base change with pyrimidine (thymine).

Table 2. DNA and protein level base change mapping results

No	Exon	DNA Level Change	Codon	Protein Level Change	Type of Mutation	Description
1.	7	c.1375C>T	CTG>TTG	p.Leu459Leu	Silent	No amino acid changes
2.	7	c.1380G>T	CAG>CAT	p.Gln460His	Missense	Amino acid changes
3.	7	c.1460G>A	AGC>AAC	p.Ser486Asn	Missense	Amino acid changes
4.	9	c.1741A>G	AGC>GGC	p.Ser581Gly	Missense	Amino acid changes
5.	10	c.2114G>T	GTG>TTG	p.Val705Leu	Missense	Amino acid changes

Analysis of the sequencing results showed the presence of five protein changes spread across several exons, namely exons 7, 9 and 10 shown in Table 2. Of the five changes, four of them are missense mutations, which are mutations that cause changes in amino acids, and one mutation is classified as a silent mutation, which is a base change that does not cause changes in amino acids.

The mutation was found in exon 7 with a change in c.1375C>T, which causes a change in the CTG codon to TTG, but the two codons both code for leucine (Leu), so there is no change in amino acids (p.Leu459Leu) so it is classified as a silent mutation. The other four mutations in sample A showed amino acid changes and were categorized as missense mutations. Mutation in exon 7 (c.1380G>T) causes a change from glutamine (Gln) to histidine (His) at position 460 (p.Gln460His). Mutation in exon 7 (c.1460G>A) changes serine (Ser) to asparagine (Asn) at position 486 (p.Ser486Asn). Mutation in exon 9 (c.1714A>G) causes a change from serine (Ser) to glycine (Gly) at position 581 (p.Ser581Gly). Mutation in exon 10, c.2114G>T, leading to substitution of valine (Val) to leucine (Leu) at position 705 (p.Val705Leu).

DISCUSSION

All samples that had gone through the isolation process and produced pure DNA were then amplified using specific primers from the ten exons of the HNF1A gene. The amplification results in the form of template DNA amplicons were then analyzed using agarose gel electrophoresis to ensure the success of the amplification process and estimate the fragment size. Several important factors influence the process of DNA migration in agarose gel electrophoresis: the electric current used, the size of the DNA molecule, the concentration of the agarose gel, DNA conformation, the presence of dyes in the gel or buffer solution, the type of agarose used, and the type and concentration of the buffer solution (Green & Sambrook, 2019). In this study, a 1.5% agarose gel was used because this concentration is ideal for separating DNA fragments with sizes ranging from 80 bp to 4,000 bp (Green & Sambrook, 2019). This is in accordance with the size of the target fragments in the study, which is around 300 to 800 bp. Therefore, the selection of the right agarose gel concentration is an important factor to obtain optimal gel resolution tailored to the size of the DNA fragments to be analyzed (Jyoti Chutia & Kumara, 2019).

In this study, BioEdit software was used as a tool in the sequencing data

analysis stage to review the quality of the sequencing chromatogram. In addition, this software is also used to obtain files in FASTA format that will be aligned with the HNF1A gene reference sequence (RefSeq: NM_001306179.2). The Sanger sequencing process produced neat and sharp peaks. A successful sequencing reaction is characterized by a clear and regular signal reading pattern on the chromatogram. Characteristics of a good chromatogram include well-defined, clear peaks and a strong signal-to-noise ratio (Al-Shuhaib & Hashim, 2023).

Next, an analysis was conducted using ClustalW as a bioinformatics tool to perform multiple sequence alignment (MSA) between the DNA sequences of the HNF1A gene sequencing results from patient samples and reference sequences obtained from the GenBank database. This alignment aims to identify any nucleotide variations, such as point mutations, deletions or insertions, that may affect the structure and function of the protein encoded by the gene. DNA molecules are double-stranded. If a mutation occurs and one base is replaced by another, the DNA molecule will temporarily contain mismatched bases. When DNA undergoes replication, complementary base pairs will be synthesized opposite to the mismatched base pairs. As a result, one wild-type (normal) DNA molecule and one DNA molecule containing the mutation will be formed (Clark et al., 2019).

The six mutations identified consisted of one silent mutation and four missense mutations. One mutation found in exon 7 is a silent mutation, which is a nucleotide change c.1375C>T that produces a new codon TTG from the initial codon CTG, but both still encode the amino acid leucine (Leu). Therefore, this mutation does not change the amino acid sequence at position 459 (p.Leu459Leu). Silent mutations generally have no impact on protein structure or function because they do not alter the polypeptide chain (Dickson & Hyman, 2013). In addition, four mutations were found that fall into the missense category, which is a mutation that occurs when a base sequence change alters a codon so that one amino acid in the protein is replaced by another amino acid. The severity of missense mutations depends on the location

of the change and the nature of the replaced amino acid (Clark et al., 2019). Two missense mutations were found in exon 7, namely mutations c.1380G>T;p.Gln460His, and c.1460G>A;p.Ser486Asn. In exon 9, one missense mutation c.1741A>G;p.Ser581Gly was found and in exon 10 a missense mutation c.2114G>T;p.Val705Leu was also found. Among the various mutations found in diabetes-related genes, the HNF1A gene is the most promising candidate. In the patient studied, four nonsynonymous mutations were clustered, namely Ile27Leu (rs1169288), Ser487Asn (rs2464196), Leu551Ser (rs1169304), and Ser581Gly (rs587778398). Based on previous reports, mutations occurring in exons 8-10, which are only present in the longest isoform of the HNF1A gene, are associated with a slower onset of MODY. Therefore, the Leu551Ser and Ser581Gly mutations are thought to play an important role in the manifestation of the observed clinical phenotypes (Sekiya et al., 2020).

MODY3 is caused by mutations in the HNF1A gene, which is a gene that produces proteins expressed in the liver, kidney, intestine, and pancreatic beta cells. The HNF1A protein functions in regulating insulin gene expression and plays a role in controlling the expression of glucose transport genes, such a GLUT2 (Younis et al., 2022). One of the compensatory mechanisms regulated by HNF1A is an increase in the transcription and expression of the Sodium-Glucose Cotransporter 2 (SGLT2) gene. This mechanism helps to keep blood glucose levels relatively normal (euglycemia) for a period of time, especially in the early phase of metabolic disorders. However, in individuals with mutations in HNF1A, the expression of SGLT2 is drastically decreased, which results in a reduced ability of glucose reabsorption in the proximal tubules of the kidney. This leads to a decrease in the recovery efficiency of glucose filtered by the kidney, and eventually contributes to an increase in blood glucose levels (Sanyoura et al., 2018). The mutations found in this study, such as silent, missense, and nonsense have the potential to cause disruption in the structure and function of HNF1A. These mutations can inhibit the amino-terminal domain that plays a role in dimerization and DNA binding and can inhibit the transactivation domain, thereby disrupting the transcription of various target

genes, including genes important in glucose uptake by cells, hepatic glucose metabolism, and insulin secretion by pancreatic ß-cells (Miyachi et al., 2022).

Thus, the mutations found in exons 7, 9 and 10 in this study not only alter the structure of the HNF1A protein, but may also affect its function in regulating glucose metabolism. Impaired function in the HNF1A gene can lead to disruption in the expression of important genes that play a role in the process of glucose uptake by cells and insulin production. As a result, there is a decrease in insulin secretion and the body's response to glucose becomes suboptimal. This condition may explain the appearance of diabetic symptoms in patients suspected of having MODY. One of the most important and distinctive features of MODY3 patients is sensitivity to sulfonylurea drugs, which are the first-line therapy for MODY3 cases. This has significant clinical implications, especially for patients previously misdiagnosed as type 1 diabetes (T1DM), as patients can discontinue insulin therapy and switch to sulfonylurea treatment, even after a long period of insulin therapy. Children who were previously on oral hypoglycemic drugs or low doses of insulin may also discontinue insulin therapy and switch directly to low-dose sulfonylureas. The dose can be titrated gradually to achieve optimal glycemic control. Meanwhile, for patients who are on full-dose insulin therapy (replacement dose), it is recommended to reduce basal insulin by at least 50% and stop bolus insulin when starting sulfonylurea therapy (Sanyoura et al., 2018).

CONCLUSIONS

Based on the results of the research and analysis that has been carried out, it can be concluded that in the HNF1A gene, mutations were found in exons 7, 9, and 10 in the samples of diabetic patients suspected of MODY. Overall, five substitution mutations were identified, consisting of two transversion mutations (c.1380G>T and c.2114G>T) and three transition mutations (c.1375C>T, c.1460G>A, and c.1741A>G). These mutations were characterized as silent and missense. One silent mutation was identified in exon 7 (p.Leu459Leu), while the

other four mutations were missense, namely p.Gln460His and p.Ser486Asn in exon 7, p.Ser581Gly in exon 9, and p.Val705Leu in exon 10. These findings confirm the existence of genetic variations in HNF1A that could potentially play a role in the pathogenesis of MODY in the patients studied.

ACKNOWLEDGMENTS

Thank you to the Bandung Ministry of Health Polytechnic for helping and supporting this research.

CONFLICTS OF INTEREST

There is no conflict of interest in this research.

REFERENCES

Al-Shuhaib, M. B. S., & Hashim, H. O. (2023). Mastering DNA chromatogram analysis in Sanger sequencing for reliable clinical analysis. In *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* (Vol. 21, Issue 1). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. https://doi.org/10.1186/s43141-023-00587-6

Clark, D. P., Pazdernik, N. J., & McGehee, M. R. (2019). Mutations and Repair. In *Molecular Biology* (pp. 832–879). Elsevier. https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813288-3.00026-4

Dickson, E. T., & Hyman, P. (2013). Mutation, Silent. In *Brenner's Encyclopedia of Genetics: Second Edition* (pp. 553–555). Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374984-0.01008-1

Ellard, S., Lango Allen, H., De Franco, E., Flanagan, S. E., Hysenaj, G., Colclough, K., Houghton, J. A. L., Shepherd, M., Hattersley, A. T., Weedon, M. N., & Caswell, R. (2013). Improved genetic testing for monogenic diabetes using targeted next-generation sequencing. *Diabetologia*, *56*(9). https://doi.org/10.1007/s00125-013-2962-5

Gomes, A., & Korf, B. (2017). Genetic Testing Techniques. In *Pediatric Cancer Genetics* (pp. 47–64). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-323-48555-5.00005-3

Green, M. R., & Sambrook, J. (2019). Analysis of DNA by agarose gel electrophoresis. *Cold Spring Harbor Protocols*, *2019*(1), 6–15. https://doi.org/10.1101/pdb.top100388

Iafusco, F., Maione, G., Mazzaccara, C., Di Candia, F., Mozzillo, E., Franzese, A., & Tinto, N. (2021). NGS analysis revealed digenic heterozygous GCK and HNF1A variants in a child with mild hyperglycemia: A case report. *Diagnostics*, *11*(7). https://doi.org/10.3390/diagnostics11071164

IDF. (2021). International Diabetes Federation Atlas 10th Edition 2021. *Internasional Diabetes Federation*, *7*(2).

Jang, K. M. (2022). Monogenic diabetes: recent updates on diagnosis and precision treatment: A narrative review. *Precision and Future Medicine*, *6*(4). https://doi.org/10.23838/pfm.2022.00121

Jyoti Chutia, S., & Kumara, R. (2019). *FUNDAMENTALS OF AGAROSE GEL ELECTROPHORESIS*. www.aquastarmagazine.com

Li, L. M., Jiang, B. G., & Sun, L. L. (2022). HNF1A : From Monogenic Diabetes to Type 2 Diabetes and Gestational Diabetes Mellitus. In *Frontiers in Endocrinology* (Vol. 13). https://doi.org/10.3389/fendo.2022.829565

Miyachi, Y., Miyazawa, T., & Ogawa, Y. (2022). HNF1A Mutations and Beta Cell Dysfunction in Diabetes. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(6). https://doi.org/10.3390/ijms23063222

Mohammadi, A., Eskandari, A., Sarmadi, A., Rahimi, M., Iraj, B., Hashemipour, M., Chaleshtori, M. H., & Tabatabaiefar, M. A. (2019). Genetic Study of Hepatocyte Nuclear Factor 1 Alpha Variants in Development of Early-Onset Diabetes Type 2 and Maturity-Onset Diabetes of the Young 3 in Iran. *Advanced Biomedical Research*, *8*(1). https://doi.org/10.4103/abr.abr_54_19

Pollack-Schreiber, N., Nwosu, B. U., & Salemi, P. (2023). Genetic testing for maturity-onset diabetes of the young resulting in an upgraded genetic classification of an HNF1A gene variant: a case report. *Frontiers in Endocrinology*, *14*. https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1173471

Sanyoura, M., Philipson, L. H., & Naylor, R. (2018). Monogenic Diabetes in Children and Adolescents: Recognition and Treatment Options. In *Current Diabetes Reports* (Vol. 18, Issue 8). Current Medicine Group LLC 1. https://doi.org/10.1007/s11892-018-1024-2

Satman, İ. (2023). Clinical Manifestations and Biomarkers of the Maturity-Onset Diabetes of the Young. In *Endocrinology Research and Practice* (Vol. 27, Issue 2). https://doi.org/10.5152/erp.2023.253

Sekiya, M., Matsuda, T., Yamamoto, Y., Furuta, Y., Ohyama, M., Murayama, Y., Sugano, Y., Ohsaki, Y., Iwasaki, H., Yahagi, N., Yatoh, S., Suzuki, H., & Shimano, H. (2020). Deciphering genetic signatures by whole exome sequencing in a case of co-prevalence of severe renal hypouricemia and

diabetes with impaired insulin secretion. *BMC Medical Genetics*, *21*(1). https://doi.org/10.1186/s12881-020-01031-z

Younis, H., Ha, S. E., Jorgensen, B. G., Verma, A., & Ro, S. (2022). Maturity-Onset Diabetes of the Young: Mutations, Physiological Consequences, and Treatment Options. In *Journal of Personalized Medicine* (Vol. 12, Issue 11). https://doi.org/10.3390/jpm12111762

PERBEDAAN EKSPRESI GEN VDR PADA PENDERITA DIABETES MELLITUS TIPE 2 TERKONTROL DAN TIDAK TERKONTROL DENGAN METODE *REAL-TIME* PCR

Sri Darmawati[1] · I. Edward KSL[2] · Nirmala Putri[1]

[1]Program Studi Pascasarjana Laboratorium Ilmu Klinis, Fakultas Pascasarjana Universitas Muhammadiyah Semarang, Jawa Tengah, Indonesia.
[2]Staf Pengajar Ilmu Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia

e-Mail: ciciekdarma@unimus.ac.id

ABSTRAK

Diabetes Mellitus tipe 2 (DMT2) merupakan penyakit metabolik kronik yang ditandai dengan hiperglikemia akibat gangguan sekresi atau kerja insulin. DMT2 menjadi masalah kesehatan utama di Indonesia dengan prevalensi dan tingkat komplikasi yang tinggi. Pemeriksaan HbA1c digunakan untuk memantau kontrol glikemik, dimana nilai HbA1c <7% menandakan DMT2 terkontrol dan nilai HbA1c ≥7% menandakan DMT2 tidak terkontrol. Gen VDR adalah gen yang menghasilkan reseptor vitamin D, protein penting yang mengatur kerja vitamin D dalam tubuh, termasuk pengaruhnya pada metabolisme, sistem imun, dan pengaturan insulin. Ekspresi gen VDR dapat dianalisis menggunakan metode *Real-Time* PCR yang memiliki sensitivitas dan spesifisitas tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan ekspresi gen VDR pada penderita DMT2 terkontrol dan tidak terkontrol di Klinik Delima Sehat Semarang. Metode penelitian ini menggunakan *cross sectional* dengan menggunakan teknik *consecutive sampling* dengan jumlah responden (15 responden DMT2 terkontrol dan 15 DMT2 tidak terkontrol). Hasil penelitian metode *Real-Time* PCR didapatkan dari perhitungan rumus livak (*Relative Quantification)* yaitu Ekspresi gen VDR pada penderita Diabetes Mellitus tipe 2 terkontrol dan tidak terkontrol 1,45 ; 2,27 yang dapat dikatakan bahwa ekspresi gen VDR pada penderita Diabetes Mellitus tipe 2 terkontrol lebih rendah, dibandingkan dengan penderita Diabetes Mellitus tipe 2 tidak terkontrol.

Kata kunci : DMT2 terkontrol dan tidak terkontrol, gen VDR, dan *Real-Time* PCR

PENDAHULUAN

Diabetes Mellitus (DM) adalah suatu penyakit metabolik kronik yang ditandai adanya hiperglikemia. Penyakit DM dapat memberikan dampak komplikasi serius terhadap kualitas hidup individu penyandangnya. DM merupakan masalah kesehatan karena tingkat morbiditas dan mortalitasnya yang tinggi. DM berdasarkan etiologinya diklasifikasikan menjadi empat kelompok, yaitu Diabetes Mellitus Tipe 1 (DMT1), Diabetes Mellitus Tipe 2 (DMT2), DM gestasional dan DM tipe lain. DMT2 merupakan penyakit kronik yang terjadi ketika pankreas tidak dapat lagi memproduksi insulin dalam jumlah yang cukup atau dapat juga disebabkan oleh berkurangnya kemampuan tubuh untuk merespon kerja insulin secara efektif (Fatimah, 2020).

Berdasarkan survei data Kementerian Kesehatan RI yang dilakukan tahun 2019, kematian yang berhubungan dengan DM menempati urutan ketiga di Indonesia yaitu

sekitar 57,42 kematian per 100.000 penduduk, setelah stroke dan penyakit jantung. Sebanyak 90% dari total kasus DM adalah DMT2, sehingga DMT2 merupakan salah satu masalah kesehatan dunia. Indonesia menempati urutan keempat terbesar di dunia untuk penyandang DM, diperkirakan akan terdapat 21,3 juta penyandang DM di Indonesia pada tahun 2030 (Khairani, 2019).

Hiperglikemia pada diabetes melitus dimulai dengan pembentukan Hemoglobin A1c (HbA1c) yang menyebabkan pembuluh-pembuluh darah kecil mengalami penyumbatan Hiperglikemia ditandai dengan peningkatan kadar glukosa dalam darah melebihi batas normal. Ketika kondisi tersebut dibiarkan akan menyebabkan komplikasi makrovaskular dan mikrovaskular (Ing, 2020). Komplikasi akut dapat terjadi terutama pada kelompok penderita DM tidak terkontrol. Diabetes Mellitus juga dapat menyebabkan nefropati diabetik, retinopati diabetik, stroke, penyakit kardiovaskular, dan penyakit pembuluh darah perifer (Wang, 2020). Proses inflamasi kronis awal diprakarsai oleh akumulasi lemak di adiposit. Sementara aktivasi peradangan terus meningkat, sel-sel inflamasi terutama makrofag akan masuk ke jaringan adiposa. Makrofag bertanggungjawab untuk memproduksi dan mensekresi sitokin inflamasi seperti IL-6 dan TNF-α (Gregor, 2019). Peningkatan kadar sitokin ini memiliki pengaruh langsung pada intensitas sinyal insulin berkontribusi terhadap resistensi insulin (Phosat *et al*., 2017).

Resistensi insulin tidak terlepas dari peran Tumor Necrosis Factor-a (TNF-a). Beberapa penelitian yang mengevaluasi fungsi imun pada pasien DM tipe 2, terdapat gangguan imunitas alami maupun imunitas adaptif. Beberapa gangguan tersebut antara lain berupa penurunan sekresi sitokin interleukin 1 (IL-1) dan interleukin 6 (IL-6) oleh sel neutrofil maupun monosit, penurunan mobilisasi, kemotaksis dan fagositosis oleh sel-sel fagosit, penurunan respons sel T, peningkatan jumlah TNF-a, dan gangguan imunitas humoral. Sehingga terganggunya sistem pengaturan kadar glukosa darah dan dapat terjadi *down-regulation enzim phosphoenolpyruvate carboxykinase* yang diperlukan pada glukoneogenesis, sehingga terjadi peningkatan glukoneogenesis di hati (Lestari, 2021).

Kondisi Diabetes Mellitus terkontrol dan tidak terkontrol dapat ditentukan berdasarkan kadar HbA1c. HbA1c mencerminkan kadar glukosa darah rata-rata selama 2-3 bulan terakhir dan direkomendasikan sebagai pemeriksaan penunjang diagnosis dan monitoring DM. Berdasarkan nilai HbA1c, DMT2 diklasifikasikan

menjadi dua kelompok, yaitu DMT2 terkontrol (HbA1c <7%) dan tidak terkontrol (HbA1c ≥7%). Pasien dengan DMT2 tidak terkontrol berisiko lebih tinggi mengalami komplikasi dibandingkan pasien dengan DMT2 terkontrol. Pemeriksaan laboratorium ini salah satu yang direkomendasikan oleh Pengurus Pusat Perkumpulan Endokrinologi Indonesia (PP Perkeni) sebagai pemeriksaan penunjang untuk mendiagnosis Diabetes Mellitus (Walraven *et al.*, 2019).

Reseptor vitamin D (Vitamin D Receptor/VDR) merupakan reseptor inti yang mengatur transkripsi gen setelah diaktifkan oleh 1,25dihidroksivitamin D (kalsitriol), VDR ditemukan hampir di seluruh jaringan tubuh, termasuk sel ß pankreas yang berperan dalam sintesis dan sekresi insulin. Defisiensi vitamin D dan gangguan ekspresi gen VDR telah dikaitkan dengan peningkatan resistensi insulin serta risiko terjadinya DMT2. Konsentrasi kalsitriol dan kalsifediol juga berkorelasi signifikan dengan resistensi insulin, dan defisiensi vitamin D diketahui mempercepat terjadinya resistensi insulin (Stefíkova *et al.*, 2018).

VDR terdapat hampir di semua jaringan, termasuk sel ß pankreas. Hal ini sesuai dengan banyaknya peranan vitamin D termasuk regulasi sintesis dan sekresi insulin serta modifikasi respon imun yang dapat melindungi individu dari perkembangan DM. Jumlah gen VDR yang ada di dalam tubuh tergantung pada gen VDR yang diekspresikan di dalam sel. Untuk menentukan ekspresi gen VDR secara molekuler bisa menggunakan metode *Real-Time* PCR (Vural & Maltas, 2017).

Ekspresi gen VDR di dalam sel menentukan seberapa efektif respon tubuh terhadap vitamin D. Penelitian menunjukkan bahwa pada penderita DMT2, ekspresi gen VDR cenderung meningkat dibandingkan individu normal, meskipun terdapat variasi yang cukup besar antar individu. Salah satu metode yang banyak digunakan untuk mengukur ekspresi gen VDR adalah *Real-Time* PCR, karena memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi serta mampu mendeteksi perubahan ekspresi gen secara kuantitatif dalam waktu singkat. Penelitian-penelitian sebelumnya telah menggunakan *RealTime* PCR untuk mengukur ekspresi gen VDR pada pasien DMT2, namun hasilnya menunjukkan variasi yang besar dan belum dapat dirata-ratakan. *Real-Time* PCR merupakan salah satu teknik amplifikasi asam nukleat in vitro yang paling banyak dipelajari dan digunakan secara luas. PCR digunakan untuk menggandakan jumlah molekul DNA pada target tertentu dengan menganalisis

molekul DNA baru yang berkomplemen dengan molekul DNA target melalui enzim dan oligonukleotida sebagai primer dalam suatu thermocycle (Yusuf, 2021).

Salah satu jenis metode pendeteksi ekspresi gen VDR pada penelitian ini menggunakan *Real-Time* PCR, karena memiliki tingkat sensitivitas dan spesifitas yang tinggi, serta dapat mendeteksi sampel dalam jumlah yang banyak dan waktu yang singkat dibandingkan dengan metode lainnya. Pengujian menggunakan *Real-Time* PCR telah dilakukan pada penelitian sebelumnya, seperti penelitian (Vural & Maltas, 2017) Uji RT-qPCR pada gen reseptor vitamin D pada pasien Diabetes mellitus tipe 2 dan hipertensi di Turki. Penelitian (Ainun *et al*., 2021) Kuantifikasi gen VDR pada penderita Diabetes mellitus tipe 2 dengan metode *Real-Time* PCR. Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat dihitung peningkatan jumlah gen VDR pada penderita Diabetes Mellitus tipe 2, namun tidak dapat di rata-ratakan jumlah gen VDR, karena terdapat variasi jumlah peningkatan gen VDR, oleh karena itu metode menggunakan *Real-Time* PCR pada ekspresi gen VDR telah banyak dilakukan pada penelitian sebelumnya, namun minimnya penelitian mengenai deteksi ekspresi gen VDR pada penderita DMT2 terkontrol dan tidak terkontrol sehingga perlu dilakukan pengembangan penelitian.

Meskipun telah banyak dilakukan penelitian mengenai ekspresi gen VDR pada pasien DMT2, sangat sedikit studi yang secara khusus membandingkan ekspresi gen VDR antara pasien DMT2 terkontrol dan tidak terkontrol. Padahal, perbedaan ekspresi gen VDR pada kedua kelompok ini dapat memberikan wawasan baru mengenai mekanisme molekuler yang mendasari perbedaan status kontrol glikemik dan potensi pengembangan biomarker molekuler untuk monitoring serta prognosis DMT2.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian mengenai perbedaan ekspresi gen VDR pada penderita DMT2 terkontrol dan tidak terkontrol dengan metode *Real-Time* PCR sangat penting untuk dilakukan. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan pemahaman tentang peran VDR dalam patofisiologi DMT2 dan membuka peluang pengembangan strategi diagnosis melalui pemeriksaan berbasis molekuler untuk pengelolaan DMT2 yang lebih baik.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian yang digunakan oleh peneliti adalah observasional analitik serta melalui rancangan *cross-sectional*. Rancangan *crosssectional* merupakan rancangan penelitian yang melakukan pengukur atau pengamatan pada saat yang bersamaan dalam sekali waktu. Bertujuan untuk mengukur gen VDR pada penderita DMT2 terkontrol dan tidak terkontrol dengan metode *RealTime* PCR.

Pengambilan Darah Vena

Pengambilan sampel dilakukan pada darah vena mediana cubiti, dengan tahapan sebagai berikut :

Peneliti menyiapkan alat serta melabel tabung darah dengan jelas dan terbaca. Selanjutnya salah satu tangan responden diletakkan lurus diatas meja dan dipasangkan *torniquet* kira-kira tiga jari diatas siku, tangan responden diminta untuk digenggam, kemudian dicari area untuk penusukan spuit, lalu area tersebut difiksasi menggunakan alkohol *swab* dengan arah melingkar dari dalam keluar dan ditunggu hingga alkohol menguap. Spuit ditusukan pada area yang sudah disiapkan dengan sisi miring jarum menghadap keatas dengan sudut ±25 derajat. Saat Penusukan sudah benar maka akan keluar sedikit darah diujung spuit lalu hisap darah sedikit kemudian genggaman tangan responden dibuka dan *torniquet* dilepas, selanjutnya hisap darah sampai spuitnya penuh, kemudian letakan kapas diatas jarum dan tarik spuit secara perlahan hingga terlepas, lalu tutup area tusukan tadi dengan plester. Darah yang diperoleh dipindahkan dari spuit ketabung darah sebanyak 3ml secara perlahan sampai habis. Tabung yang berisi darah kemudian disimpan pada suhu 2-8^{o}C sampai proses selanjutnya dilakukan (Nugraha, 2018).

Ekstraksi RNA (*column*)

RNA diekstraksi menggunakan metode *column* dengan tahapan sebagai berikut, darah vena yang sudah diambil dan disimpan ke tabung vakum tutup ungu, kemudian dipipet sebanyak 300 µL dan ditambahkan *RBC Lysis Buffer* 1 ml pada masing-masing microtube. inkubasi 10 menit kemudian disentrifuge dengan kecepatan 3.000 rpm selama 5 menit, setelah itu dibuang supernatannya, lalu bagian bawah yang putih diambil (leukosit), sisa leukosit ditambah RB Buffer 400 µL sama *ß-mercaptoethanol* 4 µL, kemudian dihomogenkan dengan pipet, inkubasi 5 menit, kemudian disentrifuge dengan kecepatan 12.000 rpm selama 2 menit, kemudian dipindahkan

supernatan ke microtube yang baru sebanyak 1,5 ml. Tambahkan *70% RNAse free ethanol* 1 ml, kemudian pindahkan kedalam RB column, disentrifuge dengan kecepatan 12.000 rpm selama 2 menit, lalu buang larutan yang dibawah. Tambahkan *W1 buffer* 400 µL, lalu sentrifuge lagi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 2 menit, buang larutan yang dibawah, tambahkan *wash buffer* 600 µL kedalam RB column, lalu disentrifuge lagi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 2 menit, buang larutan yang dibawah. Setelah itu mengeringkan column disentrifuge dengan kecepatan 12.000 rpm selama 3 menit, lalu pindahkan RB column ke microtube 1,5 ml, kemudian tambahkan *Elution Buffer* 50 µL inkubasi 3 menit, baru disentrifuge lagi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 3 menit. Setelah itu diuji kuantitatif RNA diukur menggunakan *Spektrofotometer nanodrop* sedangkan untuk kualitatif RNA diperiksa menggunakan *Elektroforesis*. RNA hasil ektraksi dari leukosit kemudian disimpan pada *freezer* -80°C.

Optimasi PCR

Primer di*spindown* hingga turun ke dasar tabung kemudian ditambahkan TE *buffer* ke masing-masing primer sesuai dengan berat molekul masingmasing primer, lalu di*vortex*. Primer kemudian dipindahkan ke dua tabung masing-masing sebanyak 90 µL dan 10 µL. Pindahkan 4 µL *primer forward* dan *reverse* ke *microtube* baru. GoTag Green ditambahkan kedalam *microtube* kemudian ditambahkan 38 µL NFW dan 4 µL sampel human ke dalam microtube lalu homogenkan. Pindahkan masingmasing 25 µL ke dalam *microtube* baru hingga menjadi 4 *microtube*. Suhu TM *Primer* dihitung (TM (*Primer Forward* + TM *Primer Reverse*):2) yaitu (58,15+59,4):2= 58,77 jadi TM 59°C. Selanjutnya setiap tabung dioptimasi pada 3 suhu yaitu 57°C, 59°C, 60°C selama 1 jam 4 menit. Pembuatan agar untuk *elektroforesis* menggunakan *agarose* 0,5 gram dilarutkan dengan TAE *buffer* 25 ml, homogenkan dengan cara dipanaskan menggunakan *microwave*, sesudah larut ditambahkan *Florosafe* DNA *Stain* 0,5 µL Setelah suhu agar menjadi suam-suam kuku tuangkan kedalam cetakan, tunggu hingga agar mengeras 5-10 menit. Kemudian dipipet ke dalam setiap sumur loading dye 1 µL dan sampel RNA 5 µL, lalu tunggu proses *elektroforesis* selama 20 menit. Baca hasil dari *elektroforesis* menggunakan *Geldoc*. Hasil *elektroforesis* yang terbaca disimpan sebagai acuan untuk kualitas RNA.

Ekspresi gen VDR

RNA yang telah disimpan dilakukan pengenceran menggunakan NFW untuk mendapatkan konsentrasi yang sama yaitu 50ng/µL dengan volume 30 µL. Selanjutnya dilakukan pemipetan sebagai berikut kedalam masing-masing lubang PCR *plate*, 10 µL *Sensi Fast Sybr*, 0,8 µL *Primer Forward* 10 µM, 0,8 µL *Primer Reverse* 10 µM, 0,2 µL *Reverse Transcriptase*, 0,4 *Ribosafe* RNAse

Inhibitor, 3,8 µL H_2O dan 4 µL RNA 50ng/ µL. Pemipetan dilakukan selang seling dengan *primer* GAPDH dan VDR secara bergantian masingmasing sampel kemudian ditutup menggunakan *optical seal*. Setelah selesai dipipet ke masing-masing lubang plate kemudian di sentrifus menggunakan *centrifuge plate*. Plate kemudian dimasukkan ke mesin PCR, diatur pada komputer dengan suhu 45°C 10 menit, 95°C 2 menit (Pre Denaturasi), 95°C 5 detik (Denaturasi), 60°C 30 detik(Annealing), dan 72°C 5 detik (Extention), dilakukan 40 siklus selama 1 jam lebih. *Plates* yang selesai di PCR akan nengeluarkan hasil data berupa *amplification plot, melt curve*, dan CT.

Analisis Data

Analisis data ekspresi gen VDR menggunakan rumus livak, pertama CT target gen dinormalisasi dengan CT *housekeeping gene* menghasilkan △CT yang selanjutnya akan digunakan untuk menghitung △△CT dinormalisasi dengan kelompok kontrol. △△CT yang didapat digunakan untuk mendapatkan *relative quantification* dengan rumus $2^{-\triangle\triangle CT}$. *Relative quantification* yang didapat akan dilakukan uji statistik dengan SPSS (*Statistical Product and Service Solution*), yaitu dilakukan uji normalitas menggunakan *ShapiroWilk* karena sampel berjumlah <50. Data diuji normalitasnya, hasil analisis data pada kelompok DMT2 terkontrol didapatkan distribusi yang tidak normal dengan nilai p = 0,003 (p < 0,05). Sedangkan pada kelompok DMT2 tidak terkontrol, data berdistribusi normal dengan nilai p = 0,540 (p > 0,05). Berdasarkan hasil tersebut, uji yang digunakan selanjutnya adalah uji *Mann Whitney*. Hasil uji menunjukkan nilai p = 0,001 (p < 0,05), sehingga disimpulkan bahwa data tersebut berdistribusi normal. Artinya, terdapat perbedaan ekspresi gen VDR pada penderita Diabetes Mellitus Tipe 2 terkontrol dan tidak terkontrol di Klinik Delima Sehat Semarang.

HASIL

Penelitian yang berjudul "Perbedaan Ekspresi gen VDR pada Penderita Diabetes Mellitus tipe 2 terkontrol dan tidak terkontrol dengan Metode *Real-Time* PCR" telah

disetujui oleh Lembaga Komisi Etik dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhamamdiyah Semarang No.065/KE/01/2025 pada tanggal 31 Januari 2025. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei 2025 di Laboratorium Biologi Molekuler Universitas Muhammadiyah Semarang dan Laboratorium Riset Terpadu FK-KMK Universitas Gadjah Mada. Pengambilan sampel darah pada penderita Diabetes Mellitus tipe 2 terkontrol dan tidak terkontrol di Klinik Delima Sehat Semarang sebanyak 30 orang.

Tabel 1. Hubungan jenis kelamin DMT2 dengan ekspresi gen VDR

No.	Jenis Kelamin	Rerata ± SB	Median (Minimal;Maksimal)
1.	Perempuan	2,98± 1,15	1,42 ; 5,2
2.	Laki-laki	0,74 ± 0,39	0,17 ; 1,36

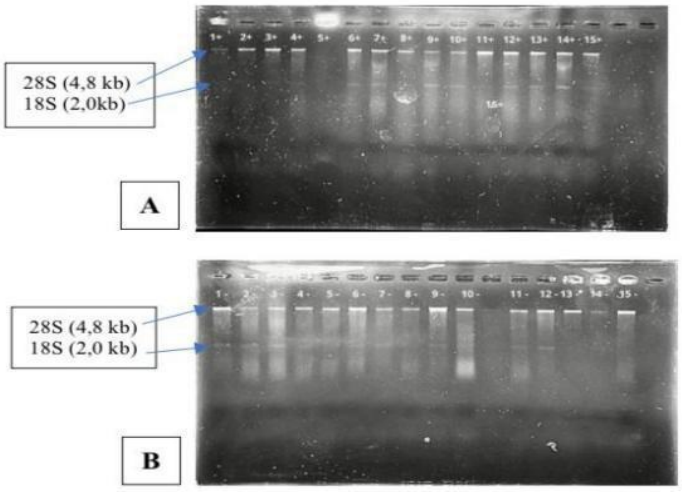
Berdasarkan hasil penelitian didapatkan bahwa pada jenis kelamin perempuan dengan nilai rerata (1,01) sedangkan jenis kelamin laki-laki dengan nilai rerata (0,26) yang dapat dikatakan bahwa pada jenis kelamin perempuan ekspresi gen VDR lebih tinggi dibandingkan dengan jenis kelamin laki-laki, berarti terdapat hubungan jenis kelamin dengan ekspresi gen VDR. Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Nuryah (2017) tentang hubungan karakteristik dengan kejadian DM, menemukan bahwa kejadian DM lebih banyak terjadi pada jenis kelamin perempuan (0,65) dibandingkan dengan jenis kelamin laki-laki (0,35). Berdasarkan analisis antara jenis kelamin dengan kejadian DM, prevalensi kejadian DM pada wanita lebih tinggi dari pada laki-laki.

Wanita lebih berisiko mengidap diabetes karena secara fisik wanita memiliki peluang peningkatan indeks masa tubuh yang lebih besar. Sindroma siklus bulanan (premenstrual syndrome), pascamenopouse yang membuat distribusi lemak tubuh menjadi mudah terakumulasi akibat proses hormonal tersebut sehingga wanita berisiko menderita diabetes mellitus (Nuryah, 2017).

Data penelitian ini disajikan dalam bentuk narasi, tabel, dan gambar. Tahapan penelitian ini meliputi, pengisian *informed consent* dan kuesioner, pengambilan darah sebanyak 3cc, ekstraksi RNA, dan ekspresi gen VDR menggunakan *Real-Time* PCR.

Ekstraksi RNA

Ekstraksi RNA, darah atau whole blood dilisiskan menggunakan *RBC lysis buffer* untuk mendapatkan leukosit selanjutnya diekstraksi menggunakan metode *column* untuk memurnikan asam nukleat dari protein terkait dan kontaminan lainnya, DNA akan tertahan dalam fase organik dan RNA akan tetap berada dalam fase berair (Mohabty *et al.*, 2019), kemudian diambil supernatan dengan hati-hati agar diperoleh RNA murni kemudian ditambahkan *RB buffer* dan *Bmerchaptoethanol* untuk mengendapkan RNA yang telah diekstraksi, lalu dicuci menggunakan *70% RNAse free ethanol*. RNA yang diperoleh kemudian dipindahkan ke *RB column* lalu dilarutkan dengan *W1 buffer , wash buffer, RNAse free water* dan disimpan pada *freezer* -80°C (Guzman *et al.*, 2023). Hasil ekstraksi RNA dilihat kualitasnya dengan elektroforesis agarose 1%, pada Gambar 5 tampak 2 band rRNA 28S (4,8kb) dan 18S (2,0 kb). Kuantitas RNA diukur konsentrasinya dengan rasio absorbansi, nilai rasio kuantitas RNA yang didapat pada A260/280 adalah 1,8-2,0 dan A260/230 >1,8, nilai rasio ini termasuk dalam kuantitas RNA dengan kemurnian yang baik (Taylor *et al.*, 2010). Pada uji kuantitas didapatkan juga nilai konsentrasi RNA (Lampiran 5), yang kemudian digunakan untuk menyiapkan RNA konsentrasi 50ng/µL.



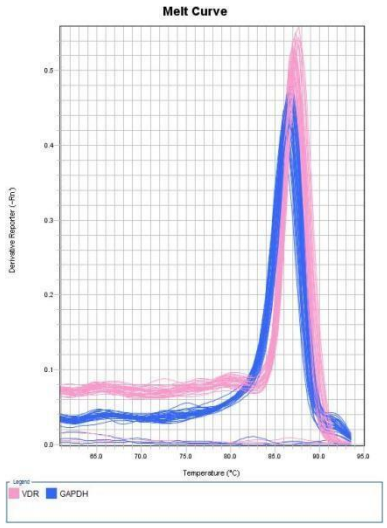
Gambar 1. Hasil Elektroforesis RNA Total (A. RNA responden DMT2 terkontrol, dan B. RNA responden tidak terkontrol)

Isolat RNA total yang diperoleh dalam penelitian ini mempunyai kualitas yang baik, ditunjukan dengan flourosensi pita 18S dan 28S rRNA dengan ketebalan dan ketajaman yang baik. rRNA adalah penyusun ribosom yang mengikat mRNA dan tRNA selama proses sintesis protein, serta merupakan jenis RNA yang paling besar sehingga paling dominan menjadi tampilan hasil elektroforesis (Felipe *et al.*, 2023).

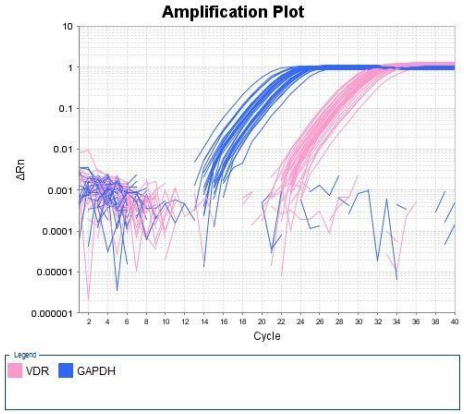
Kemurnian RNA ditunjukkan pada Absorbansi A260/280 dan A260/230. Absorbansi A260 digunakan untuk melihat serapan asam nukleat, A280 untuk melihat ada tidaknya protein, fenol, atau kontaminan lain, dan A230 untuk melihat serapan terhadap karbohidrat, fenol dan kontaminan (Leninger, A., 1975).

Ekspresi gen VDR

Ekspresi gen VDR diukur menggunakan *Real-Time* PCR atau qPCR dengan metode *one step* yaitu, proses pembentukan cDNA dan proses *amplifikasi* dilakukan di tabung dan waktu yang sama. Kurva qPCR berupa *melting curve* dan *amplification plot*. *Melting curve* digunakan untuk melihat spesifitas primer yang ditunjukkan pada Gambar 6 terdapat 1 peak suhu *melt curve* yang berarti *amplification plot* yang didapat valid berasal dari satu target *amplifikasi*. *Amplification plot* dalam tampilan log ditunjukkan pada Gambar 7.



Gambar 2. *Melting Curve* GADPH dan Gen VDR dari *Real-Time PCR*



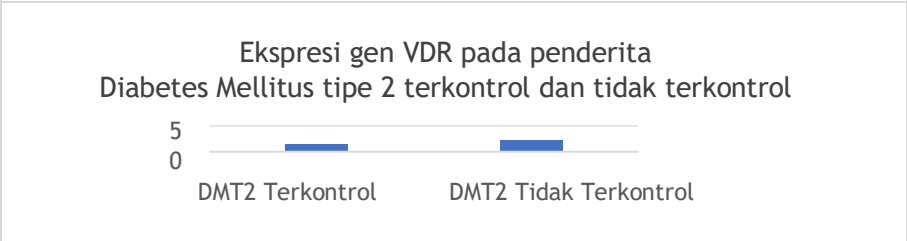
Gambar 3. *Amplification Plot* GADPH dan Gen VDR dari *Real-Time* PCR

Hasil *amplification plot* digunakan untuk mendapatkan nilai CT. Nilai CT akan dinormalisasi dengan menggunakan *housekeeping gene* atau GAPDH (*glyceraldehyde-*

3phosphate dehydrogenase) untuk mendapatkan nilai delta CT. Nilai delta CT digunakan untuk menghitung *relative quantification*. *Relative quantification* dihitung menggunakan rumus livak 2-ΔΔCT (Lampiran 6). Data distribusi hasil pemeriksaan ekspresi gen VDR pada Diabetes Mellitus tipe 2 terkontrol dan tidak terkontrol dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 1. Distribusi hasil pemeriksaan ekspresi gen VDR berdasarkan dengan rumus livak

No.	Kasus DM	Rerata ± SB	Median (Minimal;Maksimal)
1.	Terkontrol	1,45 ± 1,31	0,16 ; 5,19
2.	Tidak terkontrol	2,27 ± 1,39	0,18 ; 4,70



Gambar 4. Grafik *Relative Quantification* Ekspresi gen VDR pada Diabetes *Mellitus* tipe 2 terkontrol dan tidak terkontrol

Grafik *Relative Quantification* Ekspresi gen VDR pada Diabetes Mellitus tipe 2 terkontrol dan tidak terkontrol didapatkan dari perhitungan rumus livak pada hasil akhir yaitu *Relative Quantification* (Lampiran 6). Data ditunjukkan pada Tabel 5. Ekspresi gen VDR pada penderita Diabetes Mellitus tipe 2 terkontrol dan tidak terkontrol 0,50 : 0,77 yang dapat dikatakan bahwa ekspresi gen VDR pada penderita Diabetes Mellitus tipe 2 terkontrol lebih rendah, dibandingkan dengan penderita Diabetes Mellitus tipe 2 tidak terkontrol. Grafik perbandingan Ekspresi gen VDR pada Penderita Diabetes Mellitus tipe 2 terkontrol dan tidak terkontrol ditunjukkan pada Gambar 8.

Data hasil *relative quantification* digunakan untuk uji statistik menggunakan SPSS. Pertama dilakukan uji normalitas, yang digunakan adalah uji *Saphiro Wilk* karna data <50 dasar pengambilan keputusan dapat dilihat pada nilai p. pada tabel uji normalitas: jika p > 0,05 maka data berdistribusi normal, dan jika p < 0,05 maka data tidak berdistribusi normal. Hasil uji normalitas penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 2. Uji Normalitas Data DMT2 terkontrol dan tidak terkontrol

Data	Uji *Saphiro Wilk*
	p
DMT2 Terkontrol	0,003
DMT2 Tidak terkontrol	0,540

Tabel 6. menunjukan hasil uji *Saphiro Wilk*, data pada DMT2 terkontrol didapatkan distribusi yang tidak normal (nilai p = 0,003 < 0,05) sedangkan pada data DMT2 tidak terkontrol berdistribusi normal (nilai p = 0,540 > 0,05). Dari data tersebut dapat disimpulkan uji yang dipakai untuk pemeriksaan ekspresi gen VDR dari sampel penderita DMT2 terkontrol dan tidak terkontrol adalah uji *Mann Whitney*.

Tabel 3. Uji *Mann Whitney* DMT2 terkontrol dan tidak terkontrol

Variabel		Uji *Mann Whitney*
		p
DMT2	Terkontrol dan DMT2 Tidak Terkontrol	0,001

Tabel 7. menunjukan hasil Uji *Mann Whitney*, ekspresi gen VDR dari sampel penderita DMT2 terkontrol dan tidak terkontrol nilai p yaitu 0,001 dimana nilai p <0,05 yang berarti ada perbedaan ekspresi gen VDR pada penderita Diabetes Mellitus tipe 2 terkontrol dan tidak terkontrol di Klinik Delima Sehat Semarang.

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan ekspresi gen VDR pada penderita DMT2 terkontrol dan tidak terkontrol di klinik Delima Sehat Semarang, didapatkan hasil bahwa ekspresi gen VDR pada penderita DMT2 terkontrol lebih rendah dibanding DMT2 tidak terkontrol, namun secara statistik tidak terdapat perbedaan yang bermakna.

DMT2 merupakan penyakit kronis yang tidak menular dan berlangsung lambat karena etiologi yang multifaktorial. Hiperglikemia adalah faktor utama yang berperan penting dalam menyebabkan kerusakan jaringan tubuh pada penderita DM, yang disebabkan oleh peningkatan stres oksidatif (Hameed *et al.*, 2015). Resistensi insulin, gangguan sekresi insulin dan hiperglukagonemia merupakan determinan penting dalam perjalanan alamiah dan patogenesis hiperglikemia pada DMT2, sejumlah penelitian telah menunjukkan bahwa peradangan subklinis memainkan

peran penting dalam patogenesis resistensi insulin dan DMT2. DMT2 berubah dari gangguan metabolisme menjadi peradangan sebagai efek dari sitokin pro inflamasi seperti TNF-α dan IL-6 yang telah dilaporkan dalam jalur sinyal insulin dan akhirnya mengembangkan resistensi insulin di sel pankreas yang memperburuk DMT2 (Daniele *et al*., 2016).

Studi terbaru melaporkan vitamin D reseptor (VDR) berkontribusi dengan munculnya DMT2. Peran yang ditunjukan oleh kehadiran vitamin D antara lain memperbaiki fungsi pankreas dan sensitivitas insulin. Peran vitamin D terhadap kejadian DM sebagai bentuk aktif vitamin D berfungsi mengatur sirkulasi kadar glukosa yang beredar melalui mekanisme VDR dari sel ß pankreas dan memodulasi sekresi insulin, bentuk aktif vitamin D meningkatkan sentivitas insulin melalui menstimulasi reseptor insulin dan meningkatkan respon insulin untuk transportasi glukosa, bentuk aktif vitamin D juga mengatur keseimbangan kalsium dalam ektraselular dan intraselular sel ß pulau Langerhans di pankreas, yang penting dalam proses mediasi proses intraseluler insulin responsif jaringan.

Dengan kata lain, ada hubungan antara metabolisme glukosa dengan jalur vitamin (Vitamin D *pathway*) (Betty & Elly, 2021). Gen VDR merupakan faktor determinan sekresi insulin yang berfungsi mengaktifkan atau mengubah vitamin D menjadi bentuk aktif. Sel ß memerlukan reseptor yang spesifik untuk mengaktifkan hormon 1,25-dihidroksivitamin D ($1,25(OH)_2D$). Vitamin D yang cukup dapat menghentikan diferensiasi sel ß pankreas. Diferensiasi merupakan salah satu penyebab kegagalan sel ß pankreas dalam memproduksi hormon insulin. Pada awal perkembangan diabetes mellitus, sel ß memiliki gangguan sekresi insulin fase pertama, yang mana produksi insulin tidak dapat mengompensasi resistensi insulin sel target. Jika hal ini tidak ditangani dengan baik, kemungkinan rusaknya sel ß pankreas akan meningkat dalam waktu dekat dan berakibat pada turunnya kemampuan sel ß dalam memproduksi hormon insulin (Betty & Elly, 2021).

Gen yang terlibat dalam jalur metabolisme insulin dianggap sebagai kandidat yang baik untuk patogenesis diabetes tipe 1 dan tipe 2. Salah satu gen ini adalah gen reseptor vitamin D (VDR). VDR tersebar di berbagai jenis sel, termasuk otak, prostat, payudara, plasenta, dan kekebalan tubuh. Selain itu, vitamin D telah diduga memiliki sejumlah fungsi lain di luar sistem kerangka. Polimorfisme gen VDR berperan dalam patogenesis DMT2. Varian gen reseptor vitamin D (VDR) dapat berperan pada

munculnya DMT2 melalui perubahan metabolisme kalsium dan modulasi sekresi insulin (Betty & Elly, 2021).

Sangat penting untuk produksi bentuk aktif dari vitamin D, setelah diambil oleh sel target, vitamin D3 mengikat reseptor yang sesuai VDR. VDR aktif mengikat elemen respon vitamin D (VDREs) yang terletak di daerah promotor gen target, sehingga mengontrol transkripsi (Wu S, *et al*., 2012). Disfungsi VDR dan defisiensi vitamin D3 dapat menyebabkan perkembangan tulang yang buruk dan kesehatan yang buruk, serta meningkatkan risiko banyak penyakit kronis, termasuk diabetes tipe 1, artritis reumatoid, penyakit Crohn, penyakit menular, dan kanker (Holick, 2010). Para peneliti menemukan bahwa vitamin D dapat merawat sel beta pankreas dari proses diferensiasi melalui peningkatan ekspresi gen pada reseptor vitamin D di dalamnya.

Penelitian Erkus *et al*., (2019) di Turki menyatakan bahwa kadar vitamin D ditemui lebih tinggi secara signifikan pada pasien DMT2 yang terkontrol bila dibandingkan dengan pasien DMT2 yang tidak terkontrol. Penelitian ini juga menjelaskan bahwa kadar vitamin D memiliki hubungan yang kuat dan terbalik dengan kadar HbA1c. Kadar vitamin D diketahui lebih rendah pada pasien yang memiliki kadar HbA1c yang tinggi. Penelitian Abdo *et al.,* (2023) di Yaman dan Penelitian Felicio (2021) di Brazil juga menyatakan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara kadar vitamin D dengan kadar HbA1c pada penderita Diabetes Mellitus tipe 2. Pasien

DMT2 dengan kadar HbA1c ≥7% memiliki kadar vitamin D yang lebih rendah bila dibandingkan dengan pasien yang memiliki kadar HbA1c <7%. Studi di Indonesia yang menggunakan *Real-Time* PCR untuk mengukur ekspresi gen VDR pada DMT2 belum banyak dilakukan. Penelitian sebelumnya menunjukkan adanya peningkatan ekspresi gen VDR pada DMT2 secara umum, namun variasi antar individu sangat besar dan belum dapat dirata-ratakan secara pasti, yang menunjukkan bahwa ekspresi gen ini cenderung meningkat pada pasien DMT2 dibandingkan kelompok normal, dengan variasi antar individu yang besar. Seperti pada penelitian Vural & Maltas (2017) menyatakan bahwa ekspresi gen VDR pada DMT2 bervariasi, belum spesifik pada kelompok terkontrol atau tidak, penelitian Ainun *et al* (2021) menyatakan bahwa ekspresi gen VDR pada DMT2 cenderung meningkat (nilai CT lebih rendah), variasi besar. Sampai saat ini, belum ditemukan penelitian yang secara spesifik

membandingkan ekspresi gen VDR antara pasien DMT2 terkontrol dan tidak terkontrol dengan metode *RealTime* PCR. Penelitian lebih lanjut dengan desain yang membedakan secara jelas antara kelompok terkontrol dan tidak terkontrol masih sangat dibutuhkan untuk menjawab penelitian seperti hal ini secara spesifik.

Analisa uji statistik menggunakan Uji *Mann Whitney* terhadap perbedaan ekspresi gen VDR pada Penderita Diabetes Mellitus tipe 2 terkontrol dan tidak terkontrol dengan metode *Real-Time* PCR didapatkan hasil dengan nilai p 0,001 dimana nilai p <0,05 maka dapat disimpulkan bahwa Minor diterima dan Mayor ditolak, yang berarti ada perbedaan Ekspresi gen VDR pada Penderita Diabetes Mellitus tipe 2 terkontrol dan tidak terkontrol dengan metode *Real-Time* PCR. Menurut penelitian yang dilakukan oleh (Angria, 2024) menunjukan bahwa 27% dari seluruh sampel DMT2 memiliki mutasi pada salah satu alel gen VDR *Fok1* yang akan berpengaruh pada ekspresi gen VDR.

Keterbatasan dalam Penelitian ini menggunakan *Real-Time* PCR mengukur ekspresi gen tingkat mRNA, sedangkan proses dalam tubuh diatur oleh protein aktif. Proses translasi mRNA menjadi protein merupakan proses yang panjang dengan faktor-faktor epigenetik yang dapat berpengaruh pada proses translasi. Selain itu, penelitian ini terfokus dengan ekspresi gen VDR tanpa memeriksa kadar vitamin D pasien, pada penelitian ini juga tanpa pemeriksaan gen VDR *Fok1*.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa ekspresi gen VDR pada penderita DMT2 terkontrol lebih rendah dibanding DMT2 tidak terkontrol, namun tidak terdapat perbedaan yang bermakna. Berdasarkan hasil dari penelitian yang telah dilakukan, saran yang diharapkan dari penelitan ini adalah :

1. Disarankan untuk melakukan pemeriksaan polimorfisme genetik VDR, terutama varian *Fok1*, dengan metode PCRRFLP guna mengetahui ada atau tidaknya mutasi pada gen VDR.
2. Disarankan adanya pemeriksaan vitamin D dan faktor epigenetik yang berperan dalam proses translasi sampai menjadi protein aktif.

REFRENSI

Ainun, F., Wasdili, Q., Romlah, S., & Novianty, S. (2021). Kuantifikasi Gen VDR Pada Diabetes Melitus Tipe 2 Dengan Metode *Real-Time Polymerase Chain Reaction*: Jurnal Ilmiah Analis Kesehatan, 7(1), 1–8.

Abdo, B., Abdullah, M., AlShoaibi, I. A., Ahmed, F., Alawdi, R., Alzanen, K., & Algaadi, K. (2023). *Relationship Between Glycated Hemoglobin (HbA1c) and Vitamin D Levels in Type 2 Diabetes Patients*: A Retrospective Cross-Sectional Study.

Angria, Nirmawati. (2024). *Polimorfisme Gen Vdr Fok1* Pada Penderita Diabetes Melitus Menggunakan *Pcr-Rflp*: Jurnal Ilmiah Analis Kesehatan, 9 (2), 259-267.

Betty, N., & Elly, M. (2021). Peran Vitamin D Receptor (VDR) dalam Patogenesis Diabetes Mellitus Tipe 2. Jurnal Kesehatan Medik, 11(2), 123134.

Betty Yosephin Simanjuntak & Nur Elly. (2021). Bahaya Kekurangan Vitamin D :40-43. Yogyakarta.

Elsandra, N., K. Romlah, S. & Ainun, f., Wasdili, Q. (2020). Optimasi Suhu Annealing Gen Vitamin D Receptor (Vdr) Pada Diabetes Mellitus Tipe 2 Dengan Metode Real-Time Polymerase Chain Reaction (RT- PCR). Technology in Medical Laboratory for Environmental Disease. Vol. 1. N.2. Diakses pada September 2020.

De Graaf, C., Donnelly, D., Wootten, D., Lau, J., Sexton, P. M., Miller, L. J., Wang, M.-W. (2016). *Glucagon-Like Peptide1 and Its Class B G Protein- Coupled Receptors: A Long March to Therapeutic Successes*. Pharmacological Reviews, 68(4), 954-1013.

Dowd, D. R., Macdonald, P. N., & Second, C. (2016). *Molecular and Cellular Endocrinology Handbook of Immunohistochemistry and in situ Hybridization of Human* (Vol. 25).

Erkus, E., Aktas, G., Kocak, M. Z., Duman, T. T., Atak, B. M., & Savli, H. (2019). *Diabetic regulation of subjects with type 2 diabetes mellitus is associated with serum vitamin D levels*. Revista da Associacao Medica

Brasileira (1992), 65(1), 51–55. Guzman-Lorite M L, Munoz-Moreno. (2023). *Extraction, Detection and Determination Of Dietary microRNA*: A review. Elseiver : Vol. 135 : 215-233.

Felipe S M D S, Pacheco C, Martins J E R, Freitas R. M. D., Oliveira, P. E. G. D., Mendes, S. V. D, & Ceccatto, V. M. (2023). *Optimization of RNA Extraction Protocol for Rat Skeletal Muscle Samples*. Journal of Applied Life SciencesInternational, 26(1), 10-16.

Felicio,J.,S. (2021). *Association Between 25(OH)Vitamin D, HbA1c and Albuminuria in Diabetes Mellitus*: Data From a Population-Based Study (VIDAMAZON). Frontiers in endocrinology, 12, 723502.

Gregor MF, Hotamisligil GS.(2019). Inflammatory mechanisms in obesity. Annu Rev Immunol.;29:415–45. Hameed I, Masoodi SR, Mir SA, Nabi

M, Ghazanfar K, Ganai BA.(2015). Type 2 diabetes mellitus: From a metabolic disorder to an inflammatory condition. World J Diabetes.;6(4):598.

Holick, MF. (2010). Vitamin D dan kesehatan: evolusi, fungsi biologis, dan asupan makanan yang direkomendasikan untuk vitamin D. Dalam: Holick, MF., editor. Vitamin D. New York, AS: Humana Press; hlm. 3-33.

Idf.org: Total cases of diabetes in Indonesian adults [Internet]. Belgium: International Diabetes Federation [Tanggal diperbaharui 14 Mei 2020; tanggal disitasi 5 September 2020].

Indra, T. A., Lydia, A., Purnamasari, D., & Setiati, S. (2017). Asosiasi antara Status Vitamin D 25(Oh)D dengan Albuminuria pada Pasien Diabetes Melitus Tipe 2. Jurnal Penyakit Dalam Indonesia, 4(1), 16.

Ing, T. S. et al. (2020). *The Corrected Serum Sodium Concentration in Hyperglycemic Crises: Computation and Clinical Applications, Frontiers in Medicine*, 7(August), pp. 1–15.

Joyal, C. C., Black, D. N., & Dassylva, B. (2017). *Critical Factor for Successful Real-Time PCR*. *Sexual Abuse: Journal of Research and Treatment*, *19*(2), 155–173.

Kaplan, J.I., Homeier, B.P., (2019). *The Merck Manual: Home Health. Handbook*, 3rd Ed., John Wiley & Sons, Inc., Philadelphia:, p. 245.

Kementerian Kesehatan Republik Indonesa . Hasil utama Riskesdes. (2018). Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.

Khairani. (2019). Hari Diabetes Sedunia Tahun 2018. Pusat Data dan Informasi Kementrian Kesehatan RI, 1–8.

Kurniawan, L. B., Bahrun, U., & Darmawaty. (2020). Hubungan Kadar Transaminase terhadap Mortalitas dan Lama Perawatan

Pasien Infark Miokard Correlation between Serum Transaminase and Mortality and Length of Hospitalization in Myocardial Infarction Patients. *Jurnal Kedokteran Yarsi*, *20*(1), 29–35.Laboratoriumnya. *Repositori Unud.Ac.Id*, *1*(2), 2–3.

Leninger, A. L. (1975). *Biochemistry*, 2nd ed. New York : Worth Publishers.

Nugraha, G. (2018). Panduan Pemeriksaan Laboratorium Klinik Dasar. Jakarta Timur: CV. Trans Info Media.

Mark G. Anderson, Masaki Nakane, Xiaoan Ruan Paul E. Kroeger, J. Ruth Wu-Wong. (2017). *Expression of VDR and CYP24A1 mRNA in human tumors*, 57: 234–240.

Mutia, L., Meutia, N., Ichwan, M., Sari, M. I., & Siregar, Y. (2019*). Polimorfisme Gen Reseptor Vitamin D Cdx* 2 (11568820) pada Penderita Kanker Payudara di Rumah Sakit Umum Pusat Haji Adam Malik Medan. Majalah Kedokteran Nusantara: The Journal of Medical School, 52(3), 95–101.

Oentari, W., Roesyanto-Mahadi, I. D., & Siregar, Y. (2021). ApaI Vitamin D *ReceptorGene Polymorphisms in Psoriasis*. Buletin Farmatera, 6(1), 40.

Perkeni. Pedoman Pengelolahan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 Dewasa di Indonesia. Jakarta: Perkeni. 2019.

Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI (2019). Hari Diabetes Sedunia Tahun 2018. ISSN 2442-7659.

Phosat C, Panprathip P, Chumpathat N, Prangthip P, Chantratita N, Soonthornworasiri N.(2017). Elevated C-reactive protein, interleukin 6, tumor necrosis factor alpha and glycemic load associated with type 2 diabetes mellitus in rural Thais: A crosssectional study. BMC Endocr Disord.;17(1):1–8.

Rahmannezhad, G.; Mashayekhi, FJ; Goodarzi, MT; Rezvanfar, MR; Sadeghi, A. (2016). Hubungan antara reseptor vitamin D ApaI dan polimorfisme gen TaqI dengan diabetes melitus gestasional pada populasi wanita hamil Iran.*Gen*.

Sugiyono. (2022). Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif, *Dan R&D*. Bandung: ALFABETA.

Stefíkova, K., Spustova, V., Krivosikova, Z., Oksa, A., Gazdikova, K., Fedelesova, V., & Dzúrik, R. (2018). *Insulin resistance and vitamin D deficiency in patients with chronic kidney disease stage* 23. Physiological Research, 60(1), 149–155.

Taylor, S., Wakem, M., Dijkman, G., Alsarraj, M., & Nguyen, M. 2010. *A practical approach to RT-qPCR— publishing data that conform to the MIQE guidelines*. Methods, 50(4), S1S5.

Vural, H. C., & Maltas, E. (2017). *RTqPCR assay on the vitamin D receptor gene in type 2 diabetes and hypertension patients in Turkey*. *Genetics and molecular research : GMR*, *11*(1), 582–590.

Wang, J. R. (2020). *Association between neutrophil-tolymphocyte ratio, platelet-tolymphocyte ratio, and diabetic retinopathy among diabetic patients without a related family history', Diabetology and Metabolic Syndrome*, 12(1), pp. 1–10.

Wu S, Liao AP, Xia Y, Li YC, Li JD, Sartor RB, Sun J. (2012). Reseptor vitamin D mengatur secara negatif Aktivitas NFkappaB yang distimulasi bakteri di usus. Am J Pathol. 2010 : 177(2):686–697.

Who.int: Diabetes. Swiss: *World Health Organization* [Tanggal diperbaharui 8 Juni 2020; tanggal disitasi 18 September 2020].

Yusuf, Z.K. (2021). *Polymerase Chain Reaction* (PCR), Saintek Vol. 5 No. 6.

Yan, Z., Xiaocai, W. (2019). Hubungan antara polimorfisme gen reseptor vitamin D dan diabetes melitus gestasional di wilayah tertentu. Panduan China Med.

ANALISI JUMLAH MONOSIT PADA SEDIAAN APUS DARAH PENDERITA MALARIA YANG DI CROSS – CHEK UPTD BALAI LABORATORIUM KESEHATAN SULAWESI TENGGARA

Wa Ode Gustiani Purnamasari[1]* · Wira Amridar[1] · Titi Purnama[1]· Asfani Yuhadi[1]· Bonni Rubak[2]

[1]Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas MandalaWaluya, Provinsi Sulawesi Tenggara, Indonesia.
[2] DIV Laboratorium Medis, Politeknik Bina Husada , Kendari, Provinsi Sulawesi Tenggara, Indonesia

e-Mail: lun89tin@gmail.com
No Tlp WA : 082348925069

Abstract

Malaria is a mosquito-borne parasitic disease and is a global problem with deaths reaching 1.5-2.7 million people per year. In malaria infection, hematological changes often occur in the form of anemia, thrombocytopenia, and leukopenia to leukocytosis. Malaria parasites interact with the innate immune system during their life cycle, with monocytes and macrophages playing a major role in tissue-specific inflammatory responses. The purpose of this study was to determine the number of monocytes found in thin blood smears of malaria patients that had been cross-checked by the Southeast Sulawesi Provincial Health Laboratory UPTD. To analyze of monocytes in thin blood smears of 20 samples that were cross-checked by the Southeast Sulawesi Health Laboratory UPTD. The results of the study concluded that monocytosis occurred in blood smears of malaria patients with a total number of monocytes of 273 cells. When compared to the normal value of monocytes, which is 2-8% of 100%, which means 2-8 cells out of 100 cell counts and if totaled 20 of the number of normal smear preparations are at 40-160 cells. So the amount obtained is 1.7 times more than normal. Also an increase of more than 5.65%. The conclusion of the entire smear slide is that 100% monocytosis occurs in malaria patients.
***Keywords**: Malaria, leukocytes, monocytes*

Abstrak

Malaria merupakan penyakit yang ditularkan oleh nyamuk *mosquito-borne parasitic disease* dan menjadi permasalahan global dengan kematian mencapai 1,5-2,7 juta orang per tahun. Pada infeksi malaria sering terjadi perubahan hematologi berupa anemia, trombositopenia, dan leukopenia hingga leukositosis. Parasit malaria berinteraksi dengan sistem kekebalan tubuh bawaan selama siklus hidupnya, dengan monosit dan makrofag memainkan peran utama dalam respon inflamasi spesifik jaringan. Tujuan penelitian untuk mengetahui jumlah monosit yang terdapat pada apusan darah tipis penderita malaria yang telah di-*cross check* UPTD Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Sulawesi Tenggara. Jenis ini penelitian deskriptif untuk menganalisa jumlah monosit pada apusan darah tipis sebanyak 20 sampel yang dicross check UPTD Balai Laboratorium Kesehatan Sulawesi Tenggara. Hasil penelitian dapat disimpulkan terjadinya monositosis pada sediaan apusan darah penderita malaria dengan perolehan jumlah total monosit adalah 273 sel. Jika dibandingkan dengan nilai normal monosit yaitu 2-8% dari 100% yang berarti 2-8 sel dari 100 hitung sel dan jika ditotal 20 dari jumlah sediaan apusan normal berada pada angka 40-160 sel. Maka jumlah yang diperoleh 1,7 kali lipat lebih banyak dari normalnya. Juga peningkatan lebih dari 5,65 %. Kesimpulan dari keseluruan slide apusan terjadi 100% monositosis pada penderita malaria. Diharapkan peneliti selanjutnya dapat melihat perbedaan jenis plasmodium terdapat jumlah leukosit.
Kata kunci: Malaria, lekosit, monosit

PENDAHULUAN

Malaria merupakan penyakit yang ditularkan oleh nyamuk *mosquito-borne parasitic disease* dan menjadi permasalahan global dengan angka kematian mencapai 1,5-2,7 juta orang per tahun. Malaria masih menjadi salah satu masalah kesehatan masyarakat di Indonesia yang dapat menyebabkan kematian terutama pada kelompok risiko tinggi dari bayi, anak balita serta ibu hamil. Sekitar 35% penduduk Indonesia diperkirakan tinggal di daerah yang berisiko tertular malaria. Terdata 484 kabupaten/kota terdapat 338 kabupaten/kota merupakan wilayah endemis malaria(Wahyuni 2018).

World Heath Organization (WHO) bersama Kementerian Kesehatan melakukan estimasi jumlah kasus di tahun 2022 untuk setiap kabupaten/kota yang masih endemis malaria. Hasil estimasi mengindikasikan bahwa terdata 3.885.653 populasi yang merupakan suspek malaria dan 1.700 pupulasi diantaranya merupakan penderita penyakit malaria. Realisasi program malaria menemukan 443.530 (56%) penderita malaria dari 3.358.447 orang (86%) yang diperiksa dan tercatat dalam sistem informasi dan surveilans malaria (Pingkan, Kaunang, and Samahati 2022)

Plasmodium falciparum, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale*, dan *Plasmodium* knowlesi. Plasmodium yang banyak ditemukan di Indonesia yaitu *P. falciparum* (56,97%), *P. Vivax* (35,51%), dan *Mixed infection* (7,37%) adalah spesies Plasmodium yang dapat menginfeksi manusia. *Mixed infection* menandakan terinfeksinya pasien malaria oleh lebih dari satu jenis Plasmodium yang umumnya gabungan dari infeksi *P. falciparum* dan *P. vivax*. Pada infeksi malaria sering terjadi perubahan hematologi seperti penurunan sel darah merah (anemia), penurunan sel trombosit (trombositopenia), dan penurunan sel darah putih (leukopenia) hingga peningkatan sel darah putih (leukositosis). Proses hemolisis atau pemecahan eritrosit yang terinfeksi maupun tidak terinfeksi oleh parasit Plasmodium lah yang menyebabkan perubahan hematologi pada malaria. Selain itu dapat juga disebabkan oleh gangguan pembentukan eritrosit di sumsum tulang. Terdapat 3 parameter hematologi yang menjadi perhatian pada pasien malaria yaitu kadar

hemoglobin, jumlah trombosit, dan jumlah leukosit (Salsabila, Gunawan, and Irawiraman 2021).

Gejala malaria timbul ketika pecahnya sel eritrosit yang mengandung parasit. Demam mulai terjadi bersamaan pecahnya skizon darah yang mengeluarkan macam-macam antigen. Antigen ini akan merangsang makrofag, monosit atau limfosit yang mengeluarkan berbagai macam sitokin, salah satunya *Tumor Necrosis Factor* (TNF)(Salsabila et al. 2021). Ketika nyamuk anopheles menggigit penderita malaria dan parasit malaria yang ada di dalam darah penderita terhisap juga. Parasit malaria tersebut akan berkembang biak di dalam tubuh nyamuk Anopheles (menjadi nyamuk yang infektif). Nyamuk Anopheles yang infektif kemudian menggigit orang yang sehat (belum menderita malaria). Setelah +12-30 hari (bervariasi tergantung spesies parasit) kemudian, bila daya tahan tubuhnya tidak mampu meredam penyakit ini maka orang sehat tersebut berubah menjadi sakit malaria dan mulai timbul gejala malaria(Roach 2012). Sediaan darah tebal digunakan untuk mendeteksi keberadaan parasit malaria, sedangkan sediaan darah tipis digunakan untuk menganalisis jumlah dan jenis sel darah, termasuk monosit. Leukosit di dalam darah rata-rata 4.000-10.000 sel/µ. Peningkatan jumlah leukosit melewati batas tertinggi disebut leukositosis dan penurunan di bawah batas terendah dinamakan leukopenia. Berdasarkan ada atau tidaknya granula di dalam sitoplasma, leukosit dibagi menjadi dua yaitu agranulosit (monosit dan limfosit) serta granulosit (eosinofil, basofil, dan neutrofil). Monosit berperan penting menjadi respon imun didapat non spesifik terhadap parasit malaria, sedangkan limfosit berperan menjadi respon imun spesifik(Herlando Sinaga, Ester Rampa, Tika Romadhonni, Jannete Elisabeth Taroreh 2023).

Menganalisis jumlah monosit pada sediaan darah penderita malaria sangat penting agar dapat mengidentifikasi infeksi dan memberikan pengobatan yang tepat. Selain itu beberapa manfaat dari menganalisis jumlah monosit pada sediaan darah penderita malaria seperti untuk menunjukkan tingkat infeksi malaria karena monosit berperan dalam respon imun terhadap infeksi. Jumlah monosit yang abnormal, sehingga penyedia layanan kesehatan dapat mengambil langkah-langkah yang tepat untuk mengatasi prognosis tersebut.

Di Sulawesi Tenggara terdapat UPTD Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Sulawesi Tenggara dimana menjadi pusat rujukan hasil pemeriksaan dan pemeriksaan kesehatan untuk seluruh bagian kesehatan di Sulawesi Tenggara. Seperti yang tertulis dalam Kepmenkes No.364/menkes/sk/ III /2003 bahwa ”Sarana Kesehatan yang melaksanakan pengukuran, penetapan dan pengujian terhadap bahan yang berasal dari manusia untuk penentuan jenis penyakit, penyebab penyakit kondisi kesehatan atau faktor yang dapat berpengaruh pada kesehatan perorangan dan masyarakat“. Salah satu pemeriksaan yang dilakukan dan menjadi rujukan yang paling sering dilakukan adalah pemeriksaan malaria. Karena kasus malaria di Sulawesi Tenggara masih tergolong banyak maka sebagian besar badan kesehatan di Sulawesi Tenggara yang mendapati sampel malaria mengirim sampel hasil pemeriksaan malaria kepada UPTD Balai Laboatorium Kesehatan Provinsi Sulawesi Tenggara. Pengiriman sampel bertujuan agar dapat divalidasi hasil pemeriksaan.di UPTD dengan cara *cross check* sampel.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini mengguakan desain deskriptif untuk menganalisa jumlah monosit pada apusan darah tipis yang di*cross-check* UPTD Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Sulawesi Tenggara. Jumlah sampel yang diperiksa sebnyak 20 slide dengan metode purposive sampling. Sampel yang periksa telah memenuhi syarat kriteria inkulusi yaitu sediaan apus darah penderita malaria yang telah di*cross-check* di UPTD Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Sulawesi Tenggara.

Alur penelitian dimulai dari pemeriksaan mikroskopis malaria oleh *cross-check* UPTD Balai Laboratorium Kesehatan, setelah itu ketika hasil didapatkan positif parasite malaria di lanjutkan dengan hitung jenis leukosit, setelah itu dilakukan perhitungan jumlah monosit, lalu hasil pemeriksaan dilakukan pengolahan dan analisis data.

HASIL

1. Rata – rata dan jumlah monosit dari jenis *Plasmodium*

Berdasarkan peneilitian yang dilakukan di UPTD Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Sulawesi Tenggara terhadap 20 slide yang telah di*cros-chek* yang telah memenuhi kriteri sampel. Dari sedian darah tipis pada Tabel 1 diperoleh jumlah monosit pada penderita malaria sebanyak 273 sel. Hal ini menunjukkan jika dibandingkan dengan nilai normal monosit yaitu 2 – 8 % dari 100 % yang berati 2 – 8 sel dari 100 hitung sel dan jika ditotal 20 dari jumlah sediaan apusan normal berada pada angka 40 – 160 sel. Maka jumlah yang diperoleh 1,7 kali lipat lebih banyak dari normalnya.

Tabel 1. Rata – rata dan jumlah monosit dari jenis *Plasmodium* yang telah di*cros-chek* UPTD Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Sulawesi Tenggara.

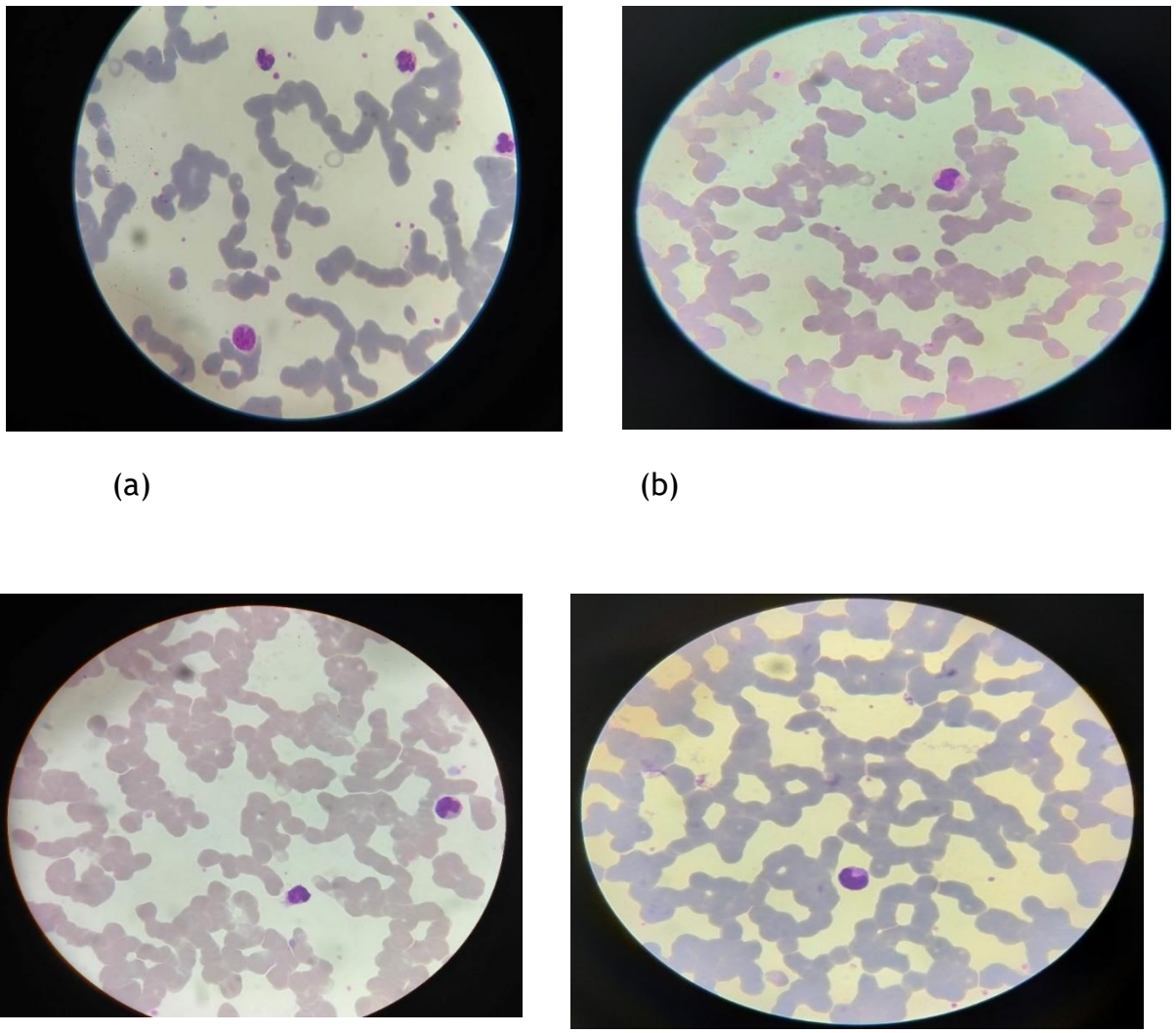
No	Jenis Malaria	Jumlah Sampel	Jumlah Total Monosit (Sel)	Rata-Rata	Nilai Normal Monosit (%)
1	*Plasmodium vivax*	8	110	13,75	2-8
2	*Plasmodium falciparum*	8	115	14,37	2-8
3	*Plasmodium malariae*	2	23	11,5	2-8
4	*Plasmodium falciparum dan vivax*	2	25	12,5	2-8
Total		20	273		

2.Jumlah sampel monosit yang mengalami peningkatan, normal dan penurunan.

Tebel 2 menunjukkan presntase monosit pada jumlah setiap jenis plasmodium 100% di nilai meningkat tanpa adanya sampel yang normal ataupun menurun. Nilai monosit pada sampel yang meningkat menandakan monosit mengalami peningkatan atau terjadinya monositosis. Peran monosit dalam melawan infeksi menambah gagasan bahwa monositosis dapat terjadi pada pasien penderita malaria.

Jenis Plasmodium	Jumlah Sampel	Jumlah Sampel Meningkat(%)	Jumlah Sampel Normal(%)	Jumlah Sampel Menurun(%)
Plasmodium vivax	8	8	0	0
Plasmodium falciparum	8	8	0	0
Plasmodium malariae	2	2	0	0
Plasmodium falciparum dan vivax	2	2	0	0
Total	20	100	0	0

3.2 Proses Endositosis *Plasmodium* Pada Eritrosit



(a) (b)

(c) (d)

Gambar 1. (a) Monosit pada sediaan apusan *Plasmodium falciparum* (b) Monosit pada sediaan apusan *Plasmodium vivax* (c) Monosit pada sediaan apusan *Plasmodium malariae* (d) Monosit pada sediaan apusan *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium vivax*.

Dalam gambar 1(a) memperlihatkan monosit pada sediaan *pasmodium falcifarum* (b) Monosit pada sediaan apusan *Plasmodium vivax* (c) Monosit pada sediaan apusan *Plasmodium malariae* (d) Monosit pada sediaan apusan *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium vivax*. Daur hidup parasit malaria dalam tubuh manusia dimulai ketika nyamuk betina Anopheles Spmengigit manusia dan melepaskan sporozoit stadium infektif plasmodium ke dalam darah melalui pembuluh darah kapiler subkutan.Sebagian besar sporozoit kemudian mencapai parenkhim hati dan bermultiplikasi menjadi ribuan merozoit didalam sel hepatosit. Setelah 6-16 hari, sel-sel hepar yang terinfeksi akan pecah dan ribuan merozoit bebas memasuki sirkulasi dan segera menginvasi sel darah merah(Inderiati et al. 2022).

DISKUSI

Tabel 1 menunjukkan rata – rata dan jumlah monosit dari jenis *Palsmodium* yang telah di periksa diperoleh 8 sampel apusan darah penderita malaria jenis *Plasmodium vivax* mengalami peningkatan. Rata – rata monosit berada pada angka 13,75%. Jika nilai normal rata – rata monosit adalah 8% maka nilai yang diperoleh berada di atas nilai normal. Sedangkan jenis *Plasmodium falciparum* mengalami peningkatan rata – rata monosit sebesar 14,37%. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang menyatakan penderita malaria falciparum ditemukan mengalami peningkatan 84% limposit dari nilai rujukkan. Selain itu peningkatan jumlah leukosit pada malaria berat terjadi karena peningkatan jumlah monosit. Jumlah monosit yangmelebihi nilai rujukkan mentukan tingkat mortilitas penserita malaria(. 2017). Monosit adalah sel radang yang berbentuk inti selnya masuk dalam mononuclear. Jenis sel agranulosit ini berjumlah sekitar 3 – 8 % dari seluruh leukosit. Sel ini merupakan sel yang terbesar di antara sel lekosit karena diameternya sekitar 12 – 15 µm. Bentuk inti dapat berbentuk oval, seperti tapal kuda atau tampak seakan – akan terlipat – lipat. Sitoplasma monosit tampak bewarna biru abu – abu. Dalam jaringan monosit berunagmenjadi sel magrofag atau sel – sel lain yang diklasifikasikan sebagai sel fagositik(Wahyuni 2018).

Presentase monosit yang diperoleh dari 2 sampel apusan darah penderita malaria jenis *Plasmodium malariae* mengalami peningkatan. Rata – rata monosit berada pada angka 11,5 %. Jika nialai normal rata – rata monosit adalah 8 %, maka nialai yang diperoleh di atas nilai normal. Sedangkan presentase monosit yang diperoleh dari 2 sampel apusan darah penderita malaria *mixed* jenis *Plamodium falcufarum* dan *vivax* mengalami peningkatan. Rata – rata monosit berada pada angka 12,5%. Hasil ini sesuai dengan yang menyatakan terjadinya monositosis di mana jumlah monosit di atas 0,8x109/L. infeksi P*lasmodium falcifarum* menyebabkan pengeluaran sitokin yang salah satunya diproduksi oleh monosit dan magrofag yaitu TNF – α dan IL – 1. Sitokin ini akan menginduksi pelepasan sitokin pro-inflamasi lain. Eritrosit yang terinfeksi pelepasan dari TNF oleh monosit melalui interaksi sitoadherens atau pelepasan PfEMP – 1. Selain itu parasite ini juga dapat melepaskan Hemozoin. Hemozoin adalah suatu produk metabolic yang dihasilkan selama proses penghancuran hemoglobin,leukosit atau prekusor eritrosit. Fagositosis pigmen hemozoin oleh sel monosit, neutrophil dan magrofag dapat mensimulasi respon imun alamiah sehingga terjadi monosotosis pada pasien malaria(Meilani Sayangbati et al. 2023).

Sporozoit ketika masuk ke dalam sirkulasi darah segera dihadapi oleh respon imun non spesifik yang terutama dilakukan oleh magrofag dan monosit, yang menghasilkan sitokin – sitokin seperti TNF *(Tumor Necrosos Factor)*, IL1*(Interleukin 1),* IL2 *(Interleukin 2)*, IL4 *(Interleukin 4)* , IL6 *(Interleukin 6)*, IL8 *(Interleukin 8)* ,IL610*(Interleukin 10)*, secara langsung menghambat pertumbuhan parasite, membunuh parasite (sitotoksik)(Roach 2012).

Parasit malaria berinteraksi dengan system kekebalan tubuh bawaan selama siklus hidupnya, dengan monosit dan magrofag memainkan peran utama dalam respon inflamasi spesifik jaringan. Selama infeksi malaria akut, monosit direkrut dalam jumlah besar dari sumsum tulang. Ketika monosit berimigrasi ke jaringan, monosit ini berdeferensiasi menjadi magrofag atau DC, yang meningkatkan kemampuan presentasi fagositik dan atntigen. Monosit berimigrasi melalui aliran darah antara sumsum tulang dan organ target. Setelah diaktifkan, monosit membantu mengurangi beban parasite melalui

fagositosis, produkdi sitokin, dan presentasi antigen. Merozoite dilepaskan dari iRBC ketika iRBC pecah kemudian diserah oleh antibobi dan mengaktifkan monosit/magrofag melalui interaksi FcγR(Xuan et al. 2023).

Endositosis adalah suatu proses untuk memperoleh substrat dalam hal ini adalah hemoglobin yang berasal dari sitoplasma eritrosit untuk masuk ke dalam sel tanpa melalui membran sel. Parasit ketika berada dalam eritrosit mengendositosis sejumlah bahan nutrisi yang sebahagian besar adalah hemoglobin dari sitosol eritrosit. Endositosis terjadi melalui proses invaginasi dari membran plasma parasit yang dikenal dengan sitostoma. Setelah proses endositosis selesai, leher dari sitostoma dicopot untuk melepaskan membran ganda vesikel endositik yang berisi sitoplasma sel darah merah. Proses pencernaan sitoplasma eritrosit diduga sudah dimulai oleh enzim pencernaan proteolitik dalam membran ganda transport vesikel. Membran ganda transport vesikel diduga berasal dari invaginasi membran plasma parasit sebagai lapisan terluar dan membran *parasitophoruos vacuole* sebagai lapisan dalam. Hasil dari dalam eritrosit, lalu diakhiri dengan smenutupi kembali eritrosit(Safarianti et al. 2018).

Merozoit di dalam eritrosit bentuknya membulat dan semua organelnya hilang, dan parasit berada dalam parasitophorous vacuoleyang tampak berbentuk cincin.Parasit kemudian terus tumbuh dari stadium cincin menjadi tropozoit dan skizon. Pertumbuhan parasit ini membutuhkan bahan glukosa/fruktosa dan asam amino, namun parasit Plasmodiumyang berada dalam eritrosit hidup di lingkungan yang terpisah dari suplai nutrisi sirkulasi darah, oleh karena itu parasit mengembang mekanisme baru untuk memperoleh nutrisi dari sitosol eritrosit sel host yaitu endositosis. endositosis sitoplasma host(60%-80% hemoglobin) kemudian akan diangkut oleh transport vesikel ke dalam vakuola makanan dan dicerna pada pH antara 5-5(Hoppe et al. 2004).

KESIMPULAN

Hasil menelitian menunjukkan bahwa terjadi monositosis pada sediaan apusan darah penderita malaria dengan perolehan jumlah total monosit adalah 273 sel.jika dibandingkan dengan nilai normal monosit yaitu 2-8% dari 100% yang berarti 2-8 sel dari 100 hitung sel dan dan jika di total 20 dari jumlah sediaan apusan normal berada pada angka 40-160 sel.maka jumlah yang diperoleh 1,7 kali lebih banyak dari normalnya.juga peningkatan lebih dari 5,65% dan dari keseluruhan slide apusan terjadi 100% peningkatan tanpa adanya angka normal atau penurunan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada pihak UPTD Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Sulawesi Tenggara dalam memberikan izin untun pengambilan data dan sampel serta kepada Prodi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medik Fakultas Sains dan Teknologi dan Lembaga Penelitian Dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Mandala Waluya.

KONFLIK KEPENTINGAN

Pada penelitian ini tidak ada konflik kepentingan dengan instansi/perorangan manapun.

REFRENSI

Rahayu. 2017. “Malaria Serebral.” *Saintika Medika* 7(2):1–21. doi: 10.22219/sm.v7i2.4069.

Herlando Sinaga, Ester Rampa, Tika Romadhonni, Jannete Elisabeth Taroreh, Yusuf Pare. 2023. “Kadar Hemoglobin , Leukosit Dan Trombosit Penderita Keerom Papua Levels of Hemoglobin , Leukocytes and Platelets of Patients With Tropical Malaria + 3 and + 4 At the Kwaingga Hospital.” 1–8.

Hoppe, Heinrich C., Donelly A. Van Schalkwyk, Ursula I. M. Wiehart, Sandra A. Meredith, Joanne Egan, and Brandon W. Weber. 2004. “Antimalarial Quinolines and Artemisinin Inhibit Endocytosis in Plasmodium Falciparum.” *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 48(7):2370–78. doi: 10.1128/AAC.48.7.2370-2378.2004.

Inderiati, Dewi, Sarwo Handayani, Danesya Syaeptiani, and Ni Putu Aryadnyani. 2022. "IDENTIFIKASI Plasmodium Vivax Menggunakan Metode Nested Pcr Di Wilayah Endemis Malaria Provinsi Nusa Tenggara Timur." *Journal of Indonesian Medical Laboratory and Science* 3(1):38–50.

Meilani Sayangbati, Rosalia, Lucia Sincu Gunawan, Rumeyda Chitra Puspita, Analis Kesehatan, and Fakultas Ilmu Kesehatan. 2023. "Perbedaan Jumlah Total Leukosit Dan Jenis Leukosit Pada Penderita Malaria Falciparum Dan Malaria Vivax Di Rsud Kabupaten Manokwari." 365–74.

Pingkan, Wulan, Julia Kaunang, and Virginia Samahati. 2022. "Epidemiologi Penyakit Menular 'Malaria Disease.'" (December).

Roach, Richard R. 2012. "Malaria." *Tropical Pediatrics: A Public Health Concern of International Proportions* 4(2):83.

Safarianti, Safarianti, Muhsin Muhsin, Maryatun Maryatun, and Soraya Rezeki. 2018. "Mekanisme Endositosis, Degradasi Hemoglobin Dan Detoksifikasi Heme Parasit Malaria." *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala* 18(1):56–60. doi: 10.24815/jks.v18i1.11214.

Salsabila, Annisa, Carta A. Gunawan, and Hadi Irawiraman. 2021. "Profil Hematologi Pasien Malaria Rawat Inap Di RSUD Panglima Sebaya Kabupaten Paser Periode Januari 2015-Maret 2018." *Jurnal Sains Dan Kesehatan* 3(4):551–57. doi: 10.25026/jsk.v3i4.535.

Wahyuni, Sri. 2018. "Polimorfisme Gen Pada Penyakit Malaria." *AVERROUS: Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan Malikussaleh* 2(1):35. doi: 10.29103/averrous.v2i1.411.

Xuan, Keh Min, Nurhidanatasha Abu Bakar, Khairul Mohd Fadzli Mustaffa, and Maryam Azlan. 2023. "The Role of Monocytes in Malaria Infection." *Central European Journal of Immunology* 48(1):54–62. doi: 10.5114/ceji.2023.126650.

PENGARUH HIPERTENSI TERHADAP KADAR PROTEIN URINE DAN GLUKOSA URINE IBU HAMIL TRIMESTER II DAN III PADA INDIKASI PREEKLAMSIA DI PUSKESMAS WONGGEDUKU

Erick Erianto Arif[1*] · Rasdiana[1] · Juslan[1]

[1]D4 Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Mandala Waluya, Provinsi Sulawesi Tenggara, Indonesia.

e-Mail: arifericker ianto@gmail.com
No Tlp WA : 085214902659

Abstract

Preeclampsia is a widespread disorder of vascular endothelial malfunction resulting in vasospasm (narrowing of blood vessels) after 20 weeks of gestation which can result in decreased organ function and endothelial activation which causes hypertension, edema, proteinuria and urine glucose. Preeclampsia generally occurs in the second trimester and third trimester of pregnancy. This study aims to determine the effect of hypertension on urine protein and urine glucose levels of second and third trimester pregnant women in preeclampsia indications at Wonggeduku Health Center. This study included analytic observational research with Cross-sectional design. this research was conducted in April-May 2023. The population in this study were pregnant women in the second trimester and third trimester with blood pressure ≥ 140/90 mmHg in the Wonggeduku Health Center working area, totaling 28 people with a sample of 28 respondents with total sampling technique. Sample examination was carried out using a urine analyzer. The analysis method uses the Mann Whitney statistical test. The results showed that there was an effect of hypertension on urine protein levels and urine glucose of third trimester pregnant women (urine protein p-value = 0.01. urine glucose p-value = 0,000) and there was no effect of hypertension on uerine protein levels and urine glucose of second trimester pregnant women (urine protein p-value = 0.169. urine glucose p-value = 0.08). Where p-value < a indicates there is a significant effect. Based on the results of the study, it can be concluded that there is an effect of hypertension on urine protein and urine glucose levels in third trimester pregnant women. It is expected for health care institutions and related health workers to screen pregnant women in the form of urine protein and urine glucose examination in order to minimize the risk of preeclampsia cases.

Keywords : Hypertension, Urine protein, Urine Glucose, PregnantMother Second Trimester Pregnant Women, Third Trimester Pregnant Women, Preeclampsia.

Abstrak

Preeklamsia adalah kelainan malfungsi endotel pembuluh darah yang menyebar luas sehingga terjadi vasospasme (penyempitan pembuluh darah) setelah usia kehamilan 20 minggu yang dapat mengakibatkan terjadinya penurunan fungsi organ dan pengaktifan endotel yang menimbulkan terjadinya hipertensi, edema, proteinuria dan glukosa urine. Preeklamsi umumnya terjadi pada usia kehamilan trimester II dan trimester III. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh hipertensi terhadap kadar protein urine dan glukosa urine ibu hamil trimester II dan III pada indikasi preeklamsia di Puskesmas Wonggeduku. Penelitian ini termasuk penelitian observasional analitik dengan desain *Cross-sectional*. penelitian ini telah dilaksanakan pada April-Mei 2023. Populasi dalam penelitian ini adalah ibu hamil trimester II dan trimester III dengan tekanan darah ≥ 140/90 mmHg di wilayah kerja Puskesmas Wonggeduku yang berjumlah 28 orang dengan sampel 28 responden dengan teknik total sampling. Pemeriksaan sampel dilakukan dengan menggunakan alat urine analyser. Metode analisis menggunakan uji statistik *Mann Whitney*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ada pengaruh hipertensi terhadap kadar protein urine dan glukosa urine ibu hamil trimester III (protein urine *p-value* = 0,01, glukosa urine *p-value* = 0,000) dan tidak terdapat pengaruh hipertensi pada kadar protein uerine dan glukosa urine ibu hamil trimester II

(protein urine *p-value* = 0,169. Glukosa urine *p-value* = 0,08). Dimana *p-value* < α menunjukkan ada pengaruh yang signifikan.Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ada pengaruh hipertensi terhadap kadar protein urine dan glukosa urine ibu hamil trimester III. Diharapkan bagi institusi pelayanan kesehatan dan tenaga kesehatan yang terkait agar melakukan skrining terhadap ibu hamil berupa pemeriksaan protein urine dan glukosa urine guna meminimalisir resiko terjadinya kasus preeklamsia.
Kata Kunci : Hipertensi, protein Urine, Glukosa Urine, Ibu Hamil trimester II, Ibu Hamil Trimester III, Preeklamsia

PENDAHULUAN

Preeklamsia adalah kelainan malfungsi endotel pembuluh darah yang menyebar luas sehingga terjadi vasospasme (penyempitan pembuluh darah) setelah usia kehamilan 20 minggu yang dapat mengakibatkan terjadinya penurunan fungsi organ dan pengaktifan endotel yang menimbulkan terjadinya hipertensi, edema, proteinuria dan glukosa urine (Wulandari dkk, 2022). Preeklamsia umumnya terjadi pada usia kehamilan trimester II dan trimester III (Safitri, 2017). Preeklampsia dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti umur, hipertensi karena kehamilan, riwayat melahirkan, keturunan, riwayat kehamilan dan riwayat preeklamsia (Wardani dkk, 2019).

Menurut data *World Health Organization* (WHO) tahun 2020 diperkirakan setiap hari terdapat 934 kasus preeklampsia terjadi di seluruh dunia. Kondisi ini bisa meliputi preeklamsia, eklamsia, hipertensi gestasional, dan hipertensi kronis. Preeklmpsia termasuk dalam tiga penyebab utama kompliksi selama kehamilan maupun dalam persalinan, yang pertama yaitu perdarahan (30%), preeklampsia/eklampsia (25%), dan infeksi (12%) (WHO, 2020). Insidensi preeklamsia ditemukan lebih tinggi pada wanita nullipara (3–7%) daripada wanita multipara (1–3%) *(*ACOG, 2020).

Berdasarkan Survei Angka Sensus pada tahun 2015, Angka kematian ibu di Indonesia sebesar 305 per 100.000 kelahiran hidup. Sedangkan, proyeksi angka kematian neonatal, bayi dan balita berdasarkan Survey Demografi Kesehatan Indonesia (SDKI) tahun 2017 sebesar 15 per 1000 kelahiran hidup. Target angka kematian neonatal pada Survey Demografi Kesehatan Indonesia (SDKI) di tahun 2024 sebesar 11,1% dan target *Sustainable Development Goal*s (SDGs) pada tahun 2030 sebesar 8,6 % (Kementerian Kesehatan, 2019).

Berdasarkan data Dinas Kesehatan Provinsi Sulawesi Tenggara pada tahun 2021, melaporkan bahwa pada tahun 2020 terdapat 61 kasus kematian ibu hamil

yang disebabkan oleh hipertensi dalam kehamilan dan gangguan metabolisme lainnya. Sedangkan data yang diperoleh dari data Puskesmas Wonggeduku bahwa pada periode tahun 2021-2022 kasus preeklamsia berat apa ibu hamil ditemukan sebanyak 6 kasus dan pada tahun 2023 terjadi 1 kasus preeklamsia.

Salah satu indikator untuk mengetahui ibu hamil menderita preeklampsia yaitu menurunnya kadar albumin urin pada ibu hamil yang dapat diperiksa melalui pemeriksaan protein urin. Pemeriksaan protein urin dapat dilakukan untuk mendeteksi adanya preeklampsia baik ringan maupun berat yang dapat mengarah pada keadaan eklampsia. Preeklamsia dapat dideteksi ketika kehamilan ≤ 34 minggu dan ditemukan tekanan darah sistol (>140mmHg) dan tekanan darah diastol (>90mmHg) pada kehamilan disertai dengan proteinuria ≥ 1+ dan ≥ 300 mg/24 jam (Riani dkk, 2020). Hipertensi selama kehamilan menjadi penyebab kedua kematian maternal pada tahun 2020 sebanyak 1.110 kasus (Kementrian Kesehatan, 2021).

Selama masa kehamilan aliran darah ginjal dan kecepatan filtrasi glomerulus meningkat bila dibandingkan dengan kondisi tidak hamil. Keadaan hipertensi pada kehamilan menyebabkan perfusi darah pada ginjal dan kecepatan filtrasi glomerulus menurun secara bervariasi, sehingga protein urine dengan berat molekul besar lolos dari glomerulus dan menyebabkan protein keluar melalui urine (proteinuria). Pada keadaan tidak hamil protein dengan molekul besar tidak dapat melewati filtrasi glomerulus, sedangkan protein dengan berat molekul kecil yang biasanya lolos dari filtrasi akan terabsorpsi kembali, sehingga tidak ditemukan protein dalam urine (Wulandari dkk, 2022).

Deteksi proteinuria sangat penting dalam menegakkan diagnosis dan penanganan hipertensi dalan kehamilan. Proteinuria pada preeklampsia merupakan indikator adanya bahaya pada janin, berat badan lahir rendah, dan meningkatnya risiko kematian perinatal (Masruroh dkk, 2020). Berdasarkan penelitian Kattah (2017) dikemukakan bahwa wanita yang mengalami proteinuria terisolasi atau proteinuria tanpa adanya hipertensi saat melahirkan memiliki peningkatan tekanan darah yang lebih besar daripada wanita tanpa proteinuria dan memiliki fase "mikroalbuminuria" pada awal kehamilan.

Resiko preeklamsia pada ibu hamil juga disebabkan oleh hormonal dan metabolik yang berubah saat kehamilan (Weissgerber, 2015). Fungsi insulin ibu

hamil menjadi tidak maksimal kemudian terjadi resistensi insulin dan menyebabkan kadar glukosa ibu hamil meningkat sehingga memicu diabetes gestasional. Diabetes gestasional dianggap berhubungan dengan kejadian preeklamsia pada ibu hamil (Siahaan dkk, 2019).

Upaya mengurangi angka preeklamsia pada ibu hamil, salah satunya adalah dengan melakukan pemeriksaan protein urine dan glukosaa urine pada ibu hamil trimester II dan III dimana dengan dilakukan pemeriksaan tersebut dapat diketahui adanya kelainan atau kompliksi pada waktu kehamilan secara dini sehingga dapat dilakukan pencegahan agar tidak terjadi komplikasi yang lebih berat dalam masa kehamilan (Riani dkk, 2020).

Salah satu metode pemeriksaan untuk mendeteksi adanya glukosa urine dan protein urine dan glukosa urine dapat dilakukan pemeriksaan dengan metode *optical density* menggunakan alat urine analyze dapat menjamin pengukuran yang lebih cepat serta hasil yang akurat.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Yunita (2017) bahwa terdapat hubungan antara usia, paritas, riwayat penyakit sebelum hamil terhadap kejadian preeklampsia merupakan variabel yang sangat berpengaruh terhadap kejadian preeklampsia di Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Pirngadi Kota Medan Tahun 2015-2016.

Berdasarkan uraian diatas angka kejadian preeklampsia masih tetap tinggi setiap tahunnya, untuk itu peneliti merasa tertarik melakukan penelitian tentang pengaruh hipertensi terhadap kadar protein urine dan glukosa urine pada indikasi preeklamsi di Puskesmas Wonggeduku.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian dengan metode Observasional analitik dengan pendekatan *cross sectional*. Untuk melihat pengaruh hipertensi terhadap kadar protein urine dan glukosa urine ibu hamil trimester II dan trimester III pada indikasi preeklamsia di Puskesmas Wonggeduku.

HASIL

Telah dilakukan penelitian pengaruh hipertensi terhadap kadar protein urine dan glukosa urine ibu hamil trimester II dan III pada indikasi preeklamsia di Puskesmas Wonggeduku pada tanggal 17 April 20 Mei 2023 di Laboratorium Puskesmas Wonggeduku.

1. Karakteristik responden

a. Distribusi frekuensi responden berdasarkan Umur

Pada saat penelitian berlangsung diperoleh hasil penelitian yang menujukkan bahwa karakteristik responden yang banyak berumur 20-29 tahun di bandingkan 60-69 tahun.

Tabel 1. Distribusi responden berdasarkan umur pasien infeksi saluran kemih di RSUD kota kendari pada bulan Juni- Agustus 2022

Kriteria Usia	Frekuensi	Persentase (%)
< <20 tahun	2	7,14%
30-35 tahun	21	75%
>35 tahun	5	17,86%
Total	**28**	**100%**

Sumber : Data Primer 2023

Pada tabel 1 nampak hasil penelitian menunjukkan bahwa responden yang berusia 20-35 tahun lebih banyak jumlahnya yakni 21 orang (75%), yang berusia >35 tahun berjumlah 5 orang (17,86%), dan usia < 20 tahun berjumlah 2 orang (7,14%).

b) Distribusi frekuensi responden berdasarkan gravida.

Tabel 2. Distribusi Frekuensi Responden berdasarkan gravida

Status Gravida	Frekuensi	Persentase(%)
Primigravida	8	28,71%
Multigravida	20	71,43%
Total	**28**	**100%**

Sumber : Data Primer 2023

Dari hasil penelitian juga diperoleh karakteristik reponden dilihat dari gravidanya pada tabel 4.2. Rata-rata responden yang diteliti merupakan ibu hamil dengan multi gravida yakni berjumlah 20 orang (71.43%). Sedangkan sisanya merupakan ibu hamil primigravida atau ibu hamil dengan kehamilan pertama yang berjumlahnya 8 orang (28,71%).

c. Distribusi frekuensi responden berdasarkan adanya edema

Tabel 3. Distribusi Frekuensi Responden berdasarkan tanda Edema

Tanda Edema	Frekuensi	Persentase (%)
Edema	3	10,71%
Tidak ada edema	25	89,29%
Total	**28**	**100%**

Sumber : Data Primer 2023

Ada tidaknya tanda terjadinya edema (pembengkakakan) pada responden juga dapat dilihat pada hasil penelitian yang menjadi karakteristik responden. Hampir semua dari responden tidak mengalami tanda edema yakni sebanyak 25 orang (89,28%) dan hanya 3 orang (10.71%) yang mengalami edema hal itu nampak pada tabel 4.3 diatas.

2. **Pengaruh hipertensi terhadap kadar protein urine dan glukosa urine ibu hamil trimester II dan III**

Tabel 4. Distribusi Frekuensi hasil pemeriksaan sampel urine

Trimester	Hasil Pemeriksaan							
	Protein urine				Glukosa urine			
	Positif	%	Negatif	%	Positif	%	Negatif	%
II	3	21,43	11	78,57	1	7,14	13	92,86
III	8	57,14	6	42,86	2	14,29	12	85,71

Sumber : Data Primer 2023

Pada table 4 disajikan data hasil pemeriksaan laboratorium pada sampel yang digunakan dari responden trimester II dan III. Hasil pemeriksaan protein urine pada trimester II terdapat 3 sampel positif (21,43%) dan sampel hasil protein urine yang negatif sebanyak 11 sampel (78,57%). Sedangkan untuk trimester III diperoleh 8 sampel (57,14%) positif dan yang negatif protein urine berjumlah 6 sampel (42,86%).

Parameter pemeriksaan glukosa urine pada trimester II diperoleh positif sebanyak 1 sampel (7,14%) dan yang negatif glukosa urine sebanyak 13 sampel

(92,86%). Pada trimester III parameter glukosa urine yang menunjukkan hasil positif ada 3 sampel (21,43%) dan 11 sampel (78,57%) yang hasil pemeriksaan glukosa urinenya negatif.

Pada penelitian ini data yang diperoleh merupakan data *independen* dari 2 kelompok yang tidak berpasangan serta tidak berdisitribusi normal sehingga analisis hasil penelitian dilakukan menggunakan uji *Mann-Whitney* dengan nilai alfa (α) sebesar 0,05. Dapat dilihat pada tabel berikut ini :

Tabel 5. hasil uji Statistik

Trimester	Protein Urine		Glukosa Urine	
	N	p-value	N	p-value
II	14	0,169	14	0,08
III	14	0,01	14	0,000

Sumber : Data Primer 2023

Berdasarkan tabel 4.5 hasil uji *Mann-Whitney* pada sampel ibu hamil trimester II diperoleh nilai *p-value* protein urine sebesar 0,169 dan *p-value* glukosa urine sebesar 0,08. Untuk sampel ibu hamil trimester III diperoleh hasil uji *Mann -Whitney* untuk parameter protein urin dengan nilai *p-value* = 0,01 dan untuk parameter glukosa urine nilai *p-value* = 0,000.

DISKUSI

Pada penelitian ini pemeriksaan protein urine dan glukosa urine bertujuan untuk mengetauhi pengaruh hipertensi pada kadar protein urine dan glukosa urine pada ibu hamil trimester II dan III pada indikasi preeklamsia di Puskesmas Wonggeduku. Sampel urine yang digunakan merupakan urine sewaktu yang baru saja dikeluarkan dari ibu hamil yang menjadi responden.

Responden pada penelitian ini merupakan ibu hamil trimester II dan III dengan beberapa karakteristik yakni dilihat dari umur responden, status gravida pada responden dan adanya tanda edema yang dijumpai pada responden. Dalam penelitian ini jumlah ibu hamil yang berisiko (usia < 20 tahun dan >35 tahun) yang menunjukkan protein urine positif lebih banyak dibandingkan yang menunjukkan hasil negatif hal ini dapat kita lihat pada tabel 4.1. hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Setyawan dkk (2019) dimana ibu hamil dengan usia < 20 tahun dan >35 tahun menunjukkan hasil protein yang positif.

Sejalan dengan teori yang dikemukakan astuti (2015) yang menyatakan bahwa umur merupakan bagian dari status reproduksi yang penting. Umur berkaitan dengan peningkatan atau penurunan fungsi tubuh sehingga mempengaruhi status kesehatan. Pada kehamilan usia < 20 tahun, keadaan reproduksi yang belum siap untuk menerima kehamilan sedangkan pada usia > 35 tahun akan terjadi perubahan jaringan dan alat reproduksi serta jalan lahir yang tidak lentur lag. Oleh karena itu usia yang baik untuk hamil adalah 20 tahun sampai denagn 35 tahun.

Responden dengan kehamilan multi gravida pada penelitian ini lebih banyak jumlahnya dibandingkan dengan primigravida dapat kita lihat pada tabel 4.2 berdasarkan hasil penelitian hasil positif urine lebih sedikit, dimana hasil protein positif di dominasi oleh responden dengan multigravida. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun secara teori mengatakan bahwa primigravida lebih beresiko mengalami preeklamsia akan tetapi terjadinya preeklamsia bukan hanya terjadi pada primigravida akan tetapi pada kenyataannya ibu hamil dengan multigravidapun juga dapat beresiko mengalami preeklamsia.

Pada responden penelitian ini terdapat 3 responden yang menunjukkan adanya edema seperti yang disajikan pada tabel 4.3. Adanya edema merupakan salah satu tanda adanya gejala preeklamsia pada penelitian ini responden dengan tanda adanya edema yang diikuti dengan hipertensi semuanya menunjukkan hasil protein urine yang positif yakni sebanyak. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Nurhasanah (2019) menunjukkan adanya hubungan edema terhadap proteinuria pada preeklamsia dan dikatakan bahwa edema dan proteinuria dijadikan sebagai gambaran atau tanda adanya preeklamsa. Edema pada ibu hamil sering terjadi adalah di kaki diatas tulang kering. Penyebab adanya edema pada kehamilan terjadi akibat tekanan hidrostatik di dalam pembuluh darah dan merupakan faktor predisposisi pada preeklamsia ibu hamil yang didukung oleh proteinuria.

Berdasarkan hasil pemeriksaan protein urine terhadap 28 sampel ibu hamil. Pada tabel 4.3 dapat dilihat bahwa pada ibu hamil trimester III lebih banyak mengalami protein urine positif dibandingkan dengan ibu hamil trimester II. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Arsani dkk (2017) yang menerangkan bahwa ibu hamil dengan usia kehamilan

trimester III lebih banyak mengalami proteinuria dibandingkan ibu hamil trimester II.

Berdasarkan teori yang dikemukakan oleh Arsani dkk (2017) bahwa seiring bertambahnya usia kehamilan akan membuat kondisi reaktivitas vaskular dimulai dari umur kehamilan > 20 minggu, meskipun demikian hal ini terdeteksi umumnya pada kehamilan trimester II akan tetapi pemeriksaan lebih sering dilakukan dimasa kehamilan trimester III guna memantau lebih teliti setiap pertumbuhan bayi dan kemungkinan yang terjadi pada ibu dan janin dalam persiapan menghadapi proses persalinan.

Untuk parameter glukosa urine menunjukkan bahwa ibu hamil trimester III lebih banyak mengalami glukosa urine positif dibandingkan ibu hamil trimester II. Sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Utari (2022) yang menerangkan bahwa kelompok responden ibu hamil trimester III lebih banyak menunjukkan hasil glukosa urine positif dibandingkan kelompok ibu hamil trimester II.

Berdasarkan teori yang dikemukakan oleh McCowen (2013) yang mengatakan bahwa glukosa didalam urine disebut dengan glokosuria. Glukosuria pada ibu hamil dapat menunjukkan adanya diabetes gestasional pada kehamilan. Pada individu dengan ambang batas ginjal yang rendah, glukosa dapat hadir dalam urine tanpa disertai hiperglikemi. Keadaan ini biasa terjadi pada saat usia kehamilan 24 minggu (trimester III) dan sebagian penderita akan kembali normal setelah melahirkan.

Dari hasil uji hipotesis dengan menggunakan uji *Mann-Whitney* untuk parameter protein urine pada sampel trimester II diperoleh nilai *p-value* > α, sehingga dapat disimpulkan bahwa H0 diterima dan Ha ditolak. Hal ini berarti tidak pengaruh hipertensi terhadap kadar protein urine ibu hamil trimester II di Puskesmas Wonggeduku. Untuk data sampel trimester III diperoleh nilai *p-value* < α ini berarti bahwa H0 ditolak dan Ha diterima. Hal ini menjelaskan ada pengaruh hipertensi terhadap kadar protein urine ibu hamil trimester II dan III.

Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Wulandari dkk (2022) yang menyatakan bahwa ada pengaruh yang signifikan tekanan darah terhadap kadar protein urine pada ibu hamil trimester III sedangkan pada

ibu hamil trimester II tidak terdapat hubungan yang signifikan. Tekanan darah yang tinggi/hipertensi memaksa ginjal untuk bekerja lebih berat sehingga mengakibatkan rusaknya sel ginjal yang ditandai dengan adanya proteinuria. Keadaan hipertensi pada kehamilan menyebabkan perfusi darah pada ginjal dan kecepatan filtrasi glomerulus menurun secara bervariasi, sehingga protein dan glukosa dengan berat molekul besar lolos dari glomerulus dan menyebabkan protein dan glukosa keluar melalui urine.

Hasil uji untuk parameter glukosa urine menunjukkan tidak adanya pengaruh hipertensi terhadap kadar glukosa urine pada trimester II dengan nilai p-value = 0,08 > α. sedangkan di trimester III ada pengaruh hipertensi terhadap kadar glukosa urine hal itu ditunjukkan nilai p-value = 0,000 < 0,05. Hipertensi yang terjadi pada ibu hamil akan menyebabkan komplikasi yang dapat menyerang berbagai target salah satunya adalah ginjal. Jika nilai ambang batas ginjal terlampaui atau daya reabsorbsi tubulus menurun kama akan terjadi glukosuria atau ditemukannya kadar glukosa dalam urine yang dikeluarkan.

Dari pembahasan diatas dapat disimpulkan bahwa ada pengaruh hipertensi terhadap kadar protein urine dan glukosa urine ibu hamil trimester II dan III. Adanya kandungan protein dan glukosa dalam urine ibu hamil yang disertai dengan hipertensi serta adanya edema merupakan tanda atau gejala yang mengarah pada preeklamsia. Oleh karena itu sangat penting bagi ibu hamil untuk melakukan pengecekan tekanan darah serta melakukan rangkaian pemeriksaan *Antenatal Care* (ANC) secara berkala untuk memantau kondisi kesehatan selama masa kehamilannya terutama menjelang persalinan guna meminimalisir resiko terjadinya kasus preeklamsia.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Ada pengaruh hipertensi terhadap kadar protein urine dan glukosa urine ibu hamil trimester III pada indikasi preeklamsia di Puskesmas Wonggeduku.
2. Tidak ada pengaruh hipertensi terhadap kadar protein urine dan glukosa urine ibu hamil trimester II pada indikasi preeklamsia di Puskesmas Wonggeduku

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada pihak Puskesmas Wonggeduku Sulawesi Tenggara dalam memberikan izin untun pengambilan data dan sampel serta kepada prodi D4 Teknologi Laboratorium Medik Fakultas Sains dan Teknologi dan Lembaga Penelitian Dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Mandala Waluya.

KONFLIK KEPENTINGAN

Pada penelitian ini tidak ada konflik kepentingan dengan instansi/perorangan manapun.

REFRENSI

Anggreni, dkk. 2018. Hipertensi Dalam Kehamilan. Mojokerto. Stikes Majapahit Mojokerto

Helen, V. 2017. Buku Ajar Asuhan Kebidanan. Jakarta: Kedokteran EGC.

Mengko, R, Aziz A.W, Thareq, B. (2017). Instrumentasi Laboratorium Klinik. Bandung : Penerbit ITB

Prawirohardjo, sarwono. 2019. Buku Acuan Nasional Pelayanan Kesehatan Maternal dan neonatal. 1st ed. Cetakan kelima abdul Bari Saifuddin, editor. Jakarta: PT Bina Pustaka Sarwo Prawiroharjo.

Rachmadi, A. (2017). Pencegahan dan Penanggulangan Kurang Energi (KEK) dan Anemia Pada Ibu Hamil. CV Budi Utama

Sembiring, J. (2019). Buku Ajar Neonatus, Bayi, Balita, Prasekolah (Pertama). Sleman: CV Budi Utama.

Tyastirin, E& irul H. 2017. Statistik Parametrik Untuk penelitian Kesehatan. Surabaya. Program Studi Arsitektur UIN Sunan Ampel.

Winkjosastro.2018. Ilmu Kebidanan. Jakarta: Yayasan Nina Pustaka Sarwono Prawirohardjo;

Alba, F. 2018. 'Sobrepeso y obesidad como factores de riesgo de los estados hipertensivos del embarazo: estudio de cohortes retrospectivo', *Nutrición Hospitalaria*, 35(4), p. 874. doi: 10.20960/nh.1702.

Cunningham, F. G. 2014. Obstetri William. Edisi 23 Volume 1. Jakarta : EGC

Musa, J. dkk. 2018. 'Incidence and risk factors for pre-eclampsia in Jos Nigeria', 18(3), pp. 584–595.

Phipps, E. A. dkk. 2019.Pre-eclampsia: pathogenesis, novel diagnostics and therapies', *Nature Reviews Nephrology*, 15(5), pp. 275–289. doi: 10.1038/s41581-019-0119-6.

Vidal, J. D. 2017. *The Impact of Age on the Female Reproductive System'*, *Toxicologic Pathology*, 45(1), pp. 206–215. doi: 10.1177/019262331667375.

IDI. 2017. Panduan Praktik Klinis Bagi Dokter di Fasilitas Pelayanan Kesehatan Primer, *Menteri Kesehatan Republik Indonesia*, pp. 162, 364

Kementerian Kesehatan, Indonesia. (2019) *Kementerian Kesehatan Republik Indonesia*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.

Perkumpulan Obstetri Ginekologi (POGI) & Himpunan Kedokteran Feto Maternal (HKFM). Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran (PNPK): Ketuban Pecah Dini. Indonesia: POGI & HKFM. 2016.

UPTD Puskesmas Wonggeduku. 2023. Profil Puskesmas Wonggeduku tahun 2023. Wonggeduku

Ahmad, H. 2017. Perbedaan Hasil Pemeriksaan Glukosa pada Sampel Urin Dengan dan Tanpa Pengawet Toluena yang Ditunda 2 Jam pada Suhu Ruang. Jurnal Repository Universitas Muhammadiyah Semarang.

Alatas,H. 2019. Hipertensi Pada Kehamilan. Herbs-Medicine journal 2(2): 27-51.

Aprianto. 2017. Konsep Harta Dalam Tinjauan Maqashid Syariah. Journal of Islamic: Economics Lariba *3* (2): 65-74.

Arsani, dkk. 2017. Kadar Protein Urine Pada Ibu Hamil Trimester II Dan III Di Puskesmas II Denpasar Barat. Medytori Journal 5(1): 31-44.

Asmayawati, dkk. 2018. Gambaran Protein Urine Pada Penderita Hipertensi Usia 40 Tahun Keatas. Media of Medical Laboratory Science. 2(1): 39-47.

Astuti, D.S. 2017. Urinary Protein Content Using Asetic Acid in Biology Student Semester VI of Teaching and Learning Education Faulty. Jurnal Biologi, Vol 14 No (01): 36- 38.

Chandra dkk. 2020. Prevalensi Proteinuria Dengan Pemeriksaan Dipstik Urin Pada Pasien Hipertensi Di Wilayah Kerja Puskesmas Daerah Terpencil Kabupaten Rote Ndao. Cendana Medical Journal. 20(2): 235-243.

Denantika dkk. 2015. Hubungan Status Gravida dan Usia Ibu Hamil Terhadap Kejadian Preeklamsia Di RSUP Dr. M. Djamil Padang Tahun 2012-2013. Jurnal Kesehatan Andalas 4(1): 212-217.

Febrian, S. dkk. 2018. Pengaruh Kadar Glukosa Urine Metode Benedict, Fehling Dan Stick Setelah Ditambahkan Vitamin C Dosis Tinggi/ 1000 mg. *Jurnal*

Analis Medika Bio Sains Vol.5, No(2), September , 2018 ISSN: 2656-2456 (Online) ISSN: 2356-4075 (Print)

Jannah, IR. 2018. Gambaran Protein Urine Metode Asam Asetat 6% Pada Ibu Hamil Trisemester III di RS TK. II.dr.A.K.Gani. Stikesmas Abdi Nusa Palembang.

Jayanti, dkk. 2022. Determinan Kejadian Hipertensi Pada Ibu Hamil Trimester Kedua dan Ketiga Di Wilayah Puskesmas Tanah Sereal Kota Bogor. Majalah Kesehatan 9(2): 86-91.

Makhfiroh, dkk. 2017. Pemeriksaan Proteim Urine Pada Ibu Hamil Trimester II sebagai Skrining preeklamsia. Jurnal Insan Cendekia 6(1): 41-47.

Marhabatsar, N.S.dan Sijid,ST.A. 2021. Penyakit Hipertensi pada Sistem Kardiovaskular. Jurnal Biologi, November, 2021 ISBN: 987-602-72245-6-8.

Mariati, dkk. 2022. Faktor-faktor Yang Berhubungan Dengan Kejadian Preeklamsia Pada Ibu Hamil Trimester III. Jurnal Aisyiyah Medika 7(2): 246-258.

Mutiara, dkk. 2018. Analisis Faktor Resiko Yang mempengaruhi Tekanan Darah Dan Protein Urine Pada Ibu Dengan Preeklamsia Di RSUD Dr. H. Abdul Moeloek. Jurnal KESMAS (Kesehatan Masyarakat) Katulistiwa 5(2): 48-55.

Nuraini, B. 2015. Risk Factors Of Hypertension. Jurnal Majority 4(5): 10-19.

Nurhasanah. (2019). Edema Pada Ibu Hamil Trimester III Puskesmas Basuki Rahmad kota Bengkulu.

Nurhayati, E. dan Purwaningsih, I, 2018. Gamabaran Protein Urine Dan glukosa Urine Pada Penderita Diabetes Melitus Tipe II Persadia RSU Santo Antonius Pontianak. Jurnal Laboratorium Khatulistiwa 2(2): 104-109.

Nzelu, D., dkk. 2018. Chronic hypertension: first-trimester blood pressure control and likelihood of severe hypertension, preeclampsia, and small for gestational age', *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 218(3), pp. 337.e1-337.e7. doi: 10.1016/j.ajog.2017.12.235

Pangulimang, dkk. 2018. Gambaran Kadar Protein Urin pada Ibu Hamil Trimester III di Rumah Sakit Robert Wolter Mongisidi Manado. Jurnal e-Biomedik *(eBm)*, Vol 6 No (2): 184-188.

Riani, E.N.dan Ambarwati.D.2020. deteksi Dini Protein Urine Sebagai Upaya Pencegahan Preeklamsia. Seminar Nasional LPPM Universitas Muhammadiyah purwokerto. 2020 ISBN:978-602-6697-66-0.

Safitri, dkk. 2022. Hubungan Diabetes Melitus Gestasional Dengan Preeklamsia dan Luaran Neonatal di Rumah Sakit Kristen Mojokrto. Jurnal NJM 8(1), E-ISSN 2686-2565.

Santoso, dkk. 2020. Hubungan Tekanan Darah Dengan Protein Urine Pada Kejadiaan Preeklamsia Di RSU Prima Husada Sidoarjo. Journal of Medical Laboratory Science Technology 3(2): 54-58.

Santoso, dkk. 2020. Hubungan Edema Dengan Protein Urine Pada Ibu Hamil Di RSU Prima Husada Sidoarjo. Journal of Muhammadiyah Medical Laboratory technologist 3(2): 86-93.

Susanti, dkk. 2022. Gambaran Glukosa Urine Dan Keton Urine Pasien Hipertensi Di Rumah Sakit Umum Daerah Kota Kendari.Prodi D3 Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Bina Husada Kendari 4(2): 1-6.

Timothy, dkk. 2020. Gambaran Glukosa Darah Dan Glukosa Urine Pada Dewasa Muda Berat Badan Lebih Dan Obses. Medical Scope Journal (MSJ). 1(2): 56-60.

Utami, dkk. 2020. Hubungan Riwayat Hipertensi Dan Status Gizi dengan Kejadian Preeklamsia Pada Ibu Hamil. Jurnal Ilmu Keperawatan Maternitas 3(2): 23-28.

Wilfried, G. 2019. Materna Venous Hemodynamic Dysfunction in Proteinuric Gestasional Hypertention: Evidence and Implications. Journal Of Clinical Medicine

Wulandari, dkk. 2022. Hubungan Kadar Protein Urin Dengan Tekanan Darah Pada Ibu Hamil Trimester II Dan III Di Puskesmas Madukara 1 Banjarnegara. Jurnal Ilmiah Multidisiplin. 1(10). September, 2022 ISSN:2810-0581(Online).

STUDI KASUS: GAMBARAN KADAR HEMOGLOBIN PADA PASIEN PRE HEMODIALISIS DI RS BHAYANGKARA POLDA DIY

Esty Badzlina Al Ghassani[1]* ·Nazula Rahma Shafriani[2] ·Abing Agandhi Bariel[3] ·Silvani[4] ·Ayuk Pitaloka[5] ·Sofwatul Umami[6] ·Sri Raviani[7] ·Evi Susilowati[8]

[1,2,3,4,5,6,7] **D4 Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta, Indonesia**
[8] **Laboratorium RS Bhayangkara Polda DIY**

e-Mail: nazula.rahma@unisayogya.ac.id
No Tlp WA : 081931198476

Abstract

Hemodialysis is a routine therapy for patients with chronic kidney disease (CKD) that functions to maintain fluid and electrolyte balance as well as remove metabolic waste, thereby prolonging life and improving patient quality of life. The global prevalence of CKD reaches 13.4%, with an increasing number of hemodialysis patients in the Special Region of Yogyakarta. This study aims to describe hemoglobin (Hb) levels in pre-hemodialysis patients at Bhayangkara Hospital Polda DIY during January–March 2025. A descriptive quantitative study was conducted on 45 patients, with Hb measurement using a hematology analyzer. The results showed that the majority of patients were male (64.44%) and of adult age (39–57 years). The average hemoglobin level of pre-hemodialysis patients was 7.8 g/dL, with the lowest value of 5.1 g/dL found in elderly men (>58 years) and the highest value of 10.6 g/dL in adult men (39–57 years).
***Keywords**: Hemodialysis, Hemoglobin, Hematology Analyzer*

Abstrak

Hemodialisis merupakan terapi rutin pada pasien gagal ginjal kronik (GGK) yang berfungsi mempertahankan keseimbangan cairan dan elektrolit serta mengeluarkan sisa metabolisme, sehingga dapat memperpanjang usia dan meningkatkan kualitas hidup pasien. Prevalensi GGK global mencapai 13,4%, dengan peningkatan pasien hemodialisis di Daerah Istimewa Yogyakarta. Penelitian ini bertujuan menggambarkan kadar hemoglobin (Hb) pada pasien pre hemodialisis di RS Bhayangkara Polda DIY selama bulan Januari–Maret 2025. Studi deskriptif kuantitatif dilakukan pada 45 pasien, dengan pengukuran Hb menggunakan hematology analyzer. Hasil menunjukkan mayoritas pasien adalah laki-laki (64,44%) dan berusia dewasa (39–57 tahun). Rata-rata kadar Hb pasien pre hemodialisis adalah 7,8 g/dL, dengan nilai terendah 5,1 g/dL pada pria lansia (>58 tahun) dan tertinggi 10,6 g/dL pada pria dewasa (39-57 tahun).
Kata Kunci : Hemodialisis, Hemoglobin, Hematology Analyzer

PENDAHULUAN

Hemodialisis merupakan salah satu terapi yang rutin dilakukan pada pasien gagal ginjal kronik. Hemodialisis berperan untuk mempertahankan cairan elektrolit dan membuang sisa-sisa metabolisme dari tubuh sehingga dapat memperpanjang umur pasien dan meningkatkan kualitas hidup pasien (Shaleha, *et.al.*, 2023). Prevalensi gagal ginjal kronik (GGK) secara global diperkirakan mencapai 13 %, usia ≥ 60 tahun punya prevalensi lebih tinggi: sekitar 19.3% (Duff *et.al.*, 2024). Daerah Istimewa Yogyakarta menempati urutan ke-12 dengan prevalensi gagal ginjal kronik yang tinggi, yaitu sebesar 4,3% (Siswandi, *et.al.*, 2024). Penegakkan diagnosis gagal ginjal dapat dilakukan melalui pemeriksaan laboratorium dengan menilai kadar hemoglobin. Pemeriksaan kadar hemoglobin untuk pasien pre hemodialisis dilakukan untuk mengetahui proses hemodialisis berjalan baik serta menjamin keselamatan pasien (Indriastutik, *et.al.*, 2022).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Widyantara, *et.al.*, (2023) menyatakan bahwa terdapat penurunan kadar hemoglobin pada pasien pre hemodialisis dengan kadar terendah yaitu sebesar 7,4 g/dL. Terapi hemodialisis juga berpengaruh terhadap jumlah trombosit pra-hemodialisis dan pasca hemodialisis. Penelitian tersebut juga selaras dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Rosdewi, *et.al.*, (2023) bahwa pemberian terapi hemodialisis secara teratur pada pasien pre hemodialisis dapat meningkatkan terjadinya penurunan kadar hemoglobin. Kehilangan darah dalam dialiser dikarenakan beberapa penyebab seperti episode *clotting* selama dialisis dan darah yang tertinggal di mesin dialiser.

Rentang normal kadar hemoglobin pada pria adalah 13,5–17,5 g/dL, dan pada wanita adalah 12,0–15,5 g/dL. Fluktuasi kadar hemoglobin, yang dikenal sebagai variabilitas hemoglobin, merupakan fenomena yang telah banyak didokumentasikan. Kadar hemoglobin dan serum besi yang rendah menunjukkan adanya anemia defisiensi besi. Kadar hemoglobin pasien yang menjalani terapi hemodialisis secara rutin rentan mengalami penurunan kadar

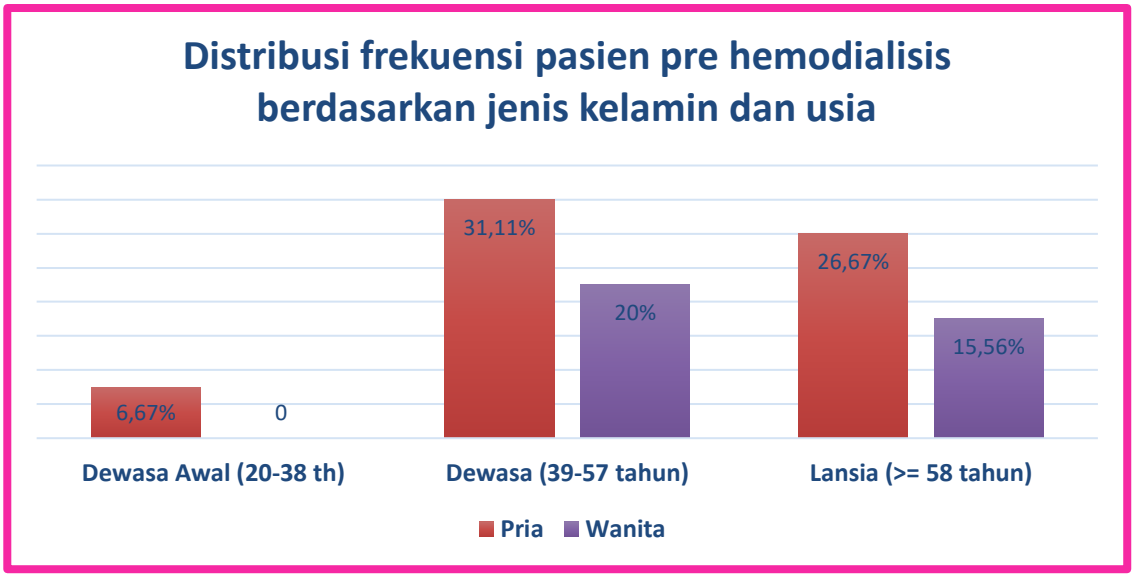
Hb, hal ini bisa disebabkan karena dari proses hemodialisis itu sendiri. Kadar Hb pada pasien setelah menjalani terapi hemodialisis nilainya rata-rata lebih rendah daripada sebelum menjalani proses hemodialisis (pre hemodialisis) (Sadhvi & Suresh, 2020), oleh karena itu dilakukan studi kasus tentang Gambaran hasil kadar hemoglobin pada pasien pre hemodialisis di RS Bhayangkara Polda DIY.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian ini yaitu deskripstif kuantitatif yang bertujuan untuk mengetahui gambaran kadar hemoglobin pasien pre hemodialisis dengan metode studi kasus di Rumah Sakit Bhayangkara POLDA DIY selama bulan Januari-Maret 2025. Populasi penelitian ini adalah seluruh pasien pre hemodialisis yang melakukan pemeriksaan hemoglobin dari bulan Januari-Maret 2025 sebanyak 45 orang. Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini spuit 3cc, torniquet, alkohol swab, kapas kering, handscoon, tabung EDTA, rak tabung, *hematology analyzer*, dan darah vena. Prosedur pemeriksaan diawali dengan mengumpulkan data kadar hemoglobin dari pasien yang berada dalam fase pre hemodialisis termasuk faktor-faktor terkait lainnya (usia, jenis kelamin, riwayat medis), memberikan informasi dan penjelasan kepada pasien mengenai prosedur pengambilan darah untuk mengurangi kecemasan dan mendapatkan persetujuan pasien. Prosedur selanjutnya pengambilan darah vena, dan pemeriksaan kadar hemoglobin menggunakan *hematology analyzer*.

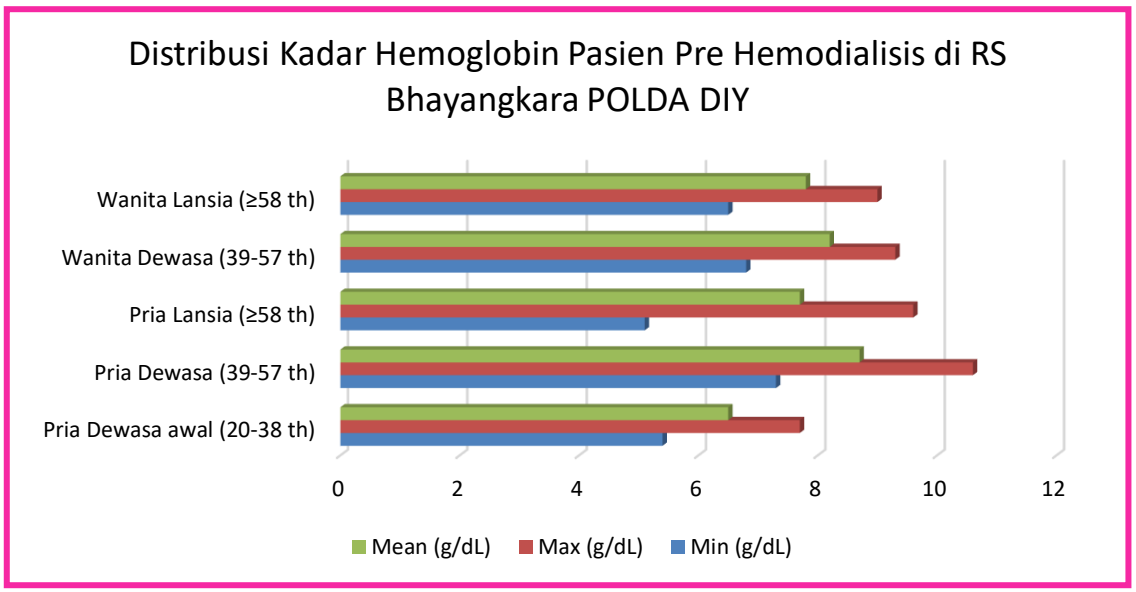
HASIL

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan diperoleh frekuensi pasien pre hemodialisis berdasarkan jenis kelamin dan usia yang melakukan pemeriksaan hemoglobin bulan Januari-Maret 2025 tersaji pada gambar 1 berikut:



Gambar 1. Distribusi Frekuensi berdasarkan jenis kelamin dan usia

Gambar 1 menunjukkan distribusi frekuensi responden dalam penelitian ini yaitu pasien penyakit ginjal kronik yang menjalani hemodialisis di RS Bhayangkara Polda DIY berdasarkan kelompok usia dan jenis kelamin. Pada Gambar 1 distribusi pasien paling banyak yaitu pria usia 39-57 tahun sebesar 31,11%, diikuti pria lansia ≥ 58 tahun sebesar 26,67%.



Gambar 2. Distribusi Nilai Pre Hemoglobin di RS Bhayangkara POLDA DIY

Berdasarkan Gambar 2 didapatkan nilai kadar Hb paling rendah berdasarkan

kategori usia dan jenis kelamin yaitu 5.1 g/dL pada pria lansia (≥ 58 tahun) dan nilai Hb paling tinggi berdasarkan kategori usia dan jenis kelamin yaitu 10.6 g/dL pada pria dewasa (39-57 tahun), sedangkan rata-rata untuk semua kategori yaitu 7,8 g/dL.

DISKUSI

a. Karakteristik pasien berdasarkan Jenis Kelamin dan Usia

Berdasarkan hasil data karateristik pasien pre hemodialisis di RS Bhayangkara Polda DIY berdasarkan jenis kelamin dan usia, didapatkan hasil tertinggi pada jenis kelamin pria sebanyak 29 pasien (64,4%) dan terendah pada jenis kelamin perempuan sebanyak 16 pasien (36,6%). Penelitian ini sejalan dengan Siregar dan Karim (2018), yang menyatakan bahwa penelitian Penyakit ginjal kronis yang melibatkan pasien dengan gangguan urologi menunjukkan bahwa laki-laki lebih mendominasi dibandingkan perempuan.

Pria cenderung mengalami anemia, hiperparatiroidisme, dan kematian kardiovaskular pada tingkat eGFR yang lebih tinggi (fungsi ginjal lebih baik) dibanding wanita, sementara wanita menunjukkan peningkatan anemia yang lebih tajam pada tahap lanjut CKD (Sadhvi & Suresh, 2020). Secara epidemiologis, risiko laki-laki mengalami penyakit ginjal kronis tercatat dua kali lebih tinggi dibandingkan perempuan. Faktor-faktor yang berkontribusi antara lain perbedaan perilaku dalam menjaga kesehatan, kecenderungan konsumsi makanan tinggi natrium, protein hewani, dan purin, serta prevalensi merokok dan alkohol yang lebih tinggi. Sementara itu, perempuan cenderung lebih sadar kesehatan, lebih teredukasi mengenai penyakit kronis, dan mendapat perlindungan hormonal melalui estrogen, yang berperan dalam menurunkan risiko kerusakan ginjal (Kurniawan, 2019).

Berdasarkan frekuensi usia dari responden dalam penelitian pasien penyakit ginjal kronik yang menjalani hemodialisis yaitu usia dewasa awal

(20-38 tahun) sebanyak 3 orang pria (6,7%), usia dewasa (39-57 tahun) 23 orang yang terdiri dari pria (31,11%) dan wanita (20%), serta usia lansia (≥ 58 tahun) terdapat 19 pasien yang terdiri dari 12 pasien pria (26,67%) dan 7 pasien wanita (15,6%).

b. Kadar Hemoglobin Pasien Hemodialisis

Berdasarakan penelitian ini diperoleh nilai rata-rata hemoglobin sebelum hemodialisis pada 45 responden tercatat sebesar 7,8 g/dL. Hasil ini sejalan dengan temuan Rosdewi, et.al., (2023) yang melaporkan kadar hemoglobin pre-dialisis sebesar 7,37 g/dL pada pasien penyakit ginjal tahap akhir (ESRD) di RS Stella Maris.

Proses hemodialisis sendiri melibatkan pertukaran zat antara darah dan cairan dialisat yang menyerupai cairan tubuh, melalui mekanisme difusi dan ultrafiltrasi di dalam dialiser. Prosedur ini penting dilakukan secara memadai untuk mencegah akumulasi toksin dan gejala seperti gatal, mual, muntah, kehilangan nafsu makan, edema, dan sesak napas. Hemodialisis biasanya dilakukan dua hingga tiga kali seminggu, dengan durasi empat hingga lima jam per sesi (Nurwidiyanti, 2021).

KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan mayoraitas pasien hemodialisis adalah pria sebanyak 64,44%, sedangkan berdasarkan usia paling banyak pada dewasa (39-57 tahun). Pemeriksaan Hemoglobin didapatkan hasil yang paling rendah adalah 5.1 g/dL pada pria lansia (≥ 58 tahun) dan tertinggi 10.6 g/dL pada pria dewasa (39-57 tahun) dengan nilai rata-rata untuk semua kategori yaitu 7.8 g/dL.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada RS Bhayangkara Polda DIY atas izinnya untuk pemeriksaan dan pengambilan data hasil pemeriksaan hemoglobin pasien hemodialisis

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan

REFRENSI

Nurwidiyanti, E. (2021). Faktor-Faktor Yang Berhubungan Dengan Kadar Hemoglobin (Hb) Pasien Hemodialisis; STUDI PENDAHULUAN. Jurnal Kesehatan, 8(2); 109–119.

Indriastutik, A., Agustina, W., & Ira, F. 2022. Perbedaan Kadar Hemoglobin Pre Dan Post Hd Pasien *Chronic Kidney Disease* Yang Menjalani Terapi Hemodialisis Dengan Menggunakan Reuse Dializer Di Rsud Dr.Saiful Anwar Malang. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Media Husada*. 11(2); 120-134.

Kurniawan, A. W., & Koesrini, J. (2019). Hubungan kadar ureum, hemoglobin dan lama hemodialisis dengan kualitas hidup penderita PGK. *Jurnal Ners dan kebidanan*, *6*(3); 292-299.

Rosdewi, R., Tola'ba, Y., Syahrul, M., & Tika, D. (2023). Pengaruh Hemodialisis Terhadap Nilai Hemoglobin Pada Pasien End Stage Renal Disease Di Rs. Stella Maris Makassar. *Jurnal Ners*, *7*(1); 68-73.

Shaleha, R. R., Yuliana, A., Amin, S., Pebiansyah, A., Zain, D. N., Hidayat, T., & Alifiar, I. (2023). Penyuluhan Penyakit Gagal Ginjal Kronik Di Puskesmas Rancah Kabupaten Ciamis. *To Maega: Jurnal Pengabdian Masyarakat*, *6*(3); 512-518.

Sadhvi, B., Suresh, V. 2020. Hemoglobin Levels and the Associated Factors in the Patients Visiting A University Hospital in Chennai, India. Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology, 14(4); 5302-5309.

Siswandi, Perwitasari, D.A., Simanjuntak, L.B., Suhendra, G., Wulandari, D., Dania, H., Faridah, I.N., Adnan. 2024.The Quality of Life of Hemodialysis Patients in Yogyakarta, Indonesia. Pharmaciana, 14(1); 46-56.

Siregar, S., Karim, M.I. 2018. Karaktristik Pasien Penyakit Ginjal Kronis yang dirawat di Rumah Sakit Hasan Sadikin Bandung 2018. Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat, 4(4); 82-85.

Widyantara, A. B., & Yaminawati, M. (2023). Literature Rivew: Profil Kadar Hemoglobin Dan Trombosit pada Pasien Gagal Ginjal Kronik (GGK) Pre Dan Post Hemodialisis. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*, *12*(1); 23-29.

PENGARUH VARIASI KONSENTRASI DARAH SITRAT DAN LAMA INKUBASI PEMERIKSAAN *INDIRECT ANTIGLOBULIN TEST* TERHADAP DERAJAT AGLUTINASI

Jembar Mugia Bagja[1]* · Ganjar Noviar[2] · Nina Marliana[3]· Eem Hayati[4]

[1,2,3,4]**Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Bandung, Jawa Barat, Indonesia**

e-Mail : jembarbagjamugia@gmail.com

No Tlp WA : 08986082544

Abstract

The Indirect Antiglobulin Test (IAT) is a pre-transfusion assay used to detect IgG/C3d antibodies in patient serum or plasma, particularly for identifying unbound alloantibodies. In cases of pseudothrombocytopenia (PTCP) caused by EDTA-dependent mechanisms, IAT results may be compromised, and 3,2% sodium citrate anticoagulant can serve as an alternative. This study aimed to determine the effect of varying sodium citrate blood concentrations and incubation times on the agglutination grade in IAT. A quasi-experimental design was applied using 10 PTCP patient samples with a history of repeated transfusions. The samples were tested at sodium citrate concentrations of 1%, 3%, and 5% erytrocyte suspension, and incubated for 5, 10, and 15 minutes. The results showed that sodium citrate concentration significantly affected agglutination grade, with 1% concentration producing an average of 60% 1+ agglutination, while 3% and 5% each produced an average of 90% 2+ agglutination. Incubation time also influenced agglutination, with 5 minutes yielding 57% 2+ agglutination, 10 minutes yielding 80% 2+ agglutination, and 15 minutes yielding 91% 2+ agglutination. Friedman and Wilcoxon tests confirmed a significant effect of both sodium citrate concentration (p=0.000) and incubation time (p=0.000) on agglutination grade. This study recommends using 3% or 5% sodium citrate concentration with a minimum incubation time of 10 minutes to obtain optimal IAT results in PTCP patients.

***Keywords** : IAT, Agglutination Degree, Concentration Variation, Incubation Time*

Abstrak

Indirect Antiglobulin Test (IAT) merupakan uji pra-transfusi untuk mendeteksi antibodi IgG/C3d pada serum atau plasma pasien, terutama untuk mengidentifikasi alloantibodi yang tidak terikat. Pada kasus *pseudotrombositopenia* (PTCP) akibat EDTA-*dependent* terjadi gangguan interpretasi hasil pemeriksaan IAT, sehingga penggunaan antikoagulan Na-sitrat 3,2% digunakan sebagai alternatif. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh variasi konsentrasi darah sitrat dan lama inkubasi pemeriksaan IAT terhadap derajat aglutinasi. Penelitian menggunakan metode quasi experiment dengan 10 sampel pasien PTCP yang telah menjalani transfusi berulang, dibuat variasi konsentrasi suspensi eritrosit darah sitrat 1%, 3%, dan 5%, serta variasi lama inkubasi 5, 10, dan 15 menit. Hasil menunjukkan variasi konsentrasi darah sitrat berpengaruh terhadap derajat aglutinasi, di mana konsentrasi 1% menghasilkan rata-rata 60% aglutinasi 1+, sedangkan konsentrasi 3% dan 5% masing-masing menghasilkan rata-rata 90% aglutinasi 2+. Lama inkubasi berpengaruh terhadap derajat aglutinasi, dengan inkubasi 5 menit menghasilkan 57% aglutinasi 2+, inkubasi 10 menit 80% aglutinasi 2+, dan inkubasi 15 menit 91% aglutinasi 2+. Uji *Friedman* dan *Wilcoxon* menunjukkan pengaruh signifikan variasi konsentrasi (p=0,000) dan lama inkubasi (p=0,000) terhadap derajat aglutinasi. Penelitian ini merekomendasikan penggunaan konsentrasi darah sitrat 3% atau 5% dengan waktu inkubasi minimal 10 menit untuk mendapatkan hasil optimal pada pemeriksaan IAT pada pasien PTCP.

Kata Kunci : IAT, Derajat Aglutinasi, Variasi Konsentrasi, Lama Inkubasi

PENDAHULUAN

Pemeriksaan laboratorium memegang peranan penting dalam mendukung diagnosis, pemantauan terapi, dan penentuan prognosis penyakit di seluruh dunia. Secara global, perkembangan teknologi diagnostik mendorong peningkatan akurasi dan kecepatan pemeriksaan, terutama pada deteksi antibodi terkait transfusi darah. Transfusi dibutuhkan untuk menangani pasien dengan penyakit yang mengakibatkan tubuh pasien tidak optimal dalam memproduksi darah atau komponen darah sebagaimana biasanya (McCullough, 2021). Pasien transfusi darah dapat mengalami reaksi berat akibat ketidakcocokan antibodi. Pemeriksaan kecocokan antigen-antibodi donor pada pasien sebelum dilakukan transfusi bertujuan untuk mencegah risiko morbiditas dan mortalitas dari transfusi. Reaksi transfusi dapat diatasi dengan pemeriksaan uji pra-transfusi untuk menguji kompatibilitas (kecocokan) darah pasien dan donor meliputi uji golongan darah, rhesus, serta uji silang serasi (*crossmatch*) (Andisari, 2021). Salah satu metode yang digunakan secara luas adalah *Indirect Antiglobulin Test* (IAT), yang berperan penting dalam mendeteksi alloantibodi yang tidak terikat pada sel darah merah (Sigdel et al., 2021).

Pelayanan transfusi darah di Indonesia diatur melalui Undang-Undang Nomor 17 Tahun 2023 tentang Kesehatan dan Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 91 Tahun 2015 tentang Standar Pelayanan Transfusi Darah, yang mewajibkan pelaksanaan uji kompatibilitas sebelum transfusi. IAT mampu mendeteksi antibodi yang berpotensi menyebabkan reaksi transfusi (Andisari, 2021). Jenis antikoagulan yang paling baik digunakan untuk pemeriksaan hematologi dan bank darah yaitu antikoagulan Ethylendiaminetetracetic Acid (EDTA) (Caudill et al., 2021). Konsentrasi suspensi eritosit yang dipakai dalam pemeriksaan *crossmatch* menggunakan darah EDTA yaitu 5% (Oktari & Mulyati, 2022). Berdasarkan pedoman *American Association of Blood Bank (2024)* , konsentrasi suspensi eritrosit 3% optimal untuk pemeriksaan serologi. Semakin tinggi konsentrasi suspensi yang digunakan maka semakin tinggi antigen yang akan di deteksi dengan kata lain semakin rendah konsentrasi antigen semakin kecil antigen pada sampel semakin kecil derajat aglutinasi yang dihasilkan (Khoolidah & Qomariyah, 2019).

Pelaksanaan IAT dapat menghadapi hambatan teknis, salah satunya adalah

pseudotrombositopenia (PTCP) akibat EDTA-dependent, yang dapat menyebabkan hasil pemeriksaan menjadi tidak akurat (Reyes et al., 2019). Penggunaan antikoagulan alternatif seperti natrium sitrat (Na-sitrat) 3,2% telah dilaporkan dapat mengurangi efek PTCP dan meningkatkan akurasi hasil. Beberapa kasus di beberapa rumah sakit di Indonesia, termasuk di Bandung, menunjukkan adanya pasien dengan PTCP yang memiliki riwayat transfusi berulang. Kondisi ini menyebabkan clumping trombosit secara in vitro yang mengganggu pembacaan aglutinasi pada IAT. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh variasi konsentrasi darah sitrat dan lama inkubasi terhadap derajat aglutinasi pada pemeriksaan IAT, sehingga diharapkan dapat memberikan rekomendasi teknis yang lebih akurat dan aplikatif bagi laboratorium dan bank darah.

BAHAN DAN METODE

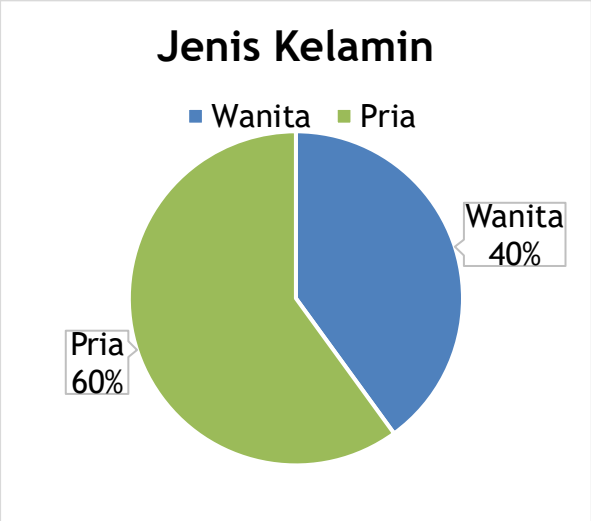
Jenis penelitian ini adalah quasi experiment yang bertujuan menganalisis pengaruh variasi konsentrasi darah sitrat dan lama inkubasi terhadap derajat aglutinasi pada pemeriksaan *Indirect Antiglobulin Test* (IAT) pada pasien *pseudotrombositopenia* (PTCP). Populasi penelitian adalah seluruh pasien yang terdiagnosis PTCP dengan riwayat transfusi berulang. Sampel diambil sebanyak 10 pasien dengan teknik purposive sampling berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditentukan. Data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data primer yang diambil dari hasil uji IAT dengan tahapan prosedur dari mulai pengambilan sampel darah vena sebanyak 3 mL dengan antikoagulan Na.Sitrat 3,2% lalu dibuat suspensi eritrosit konsentrasi 1%, 3% dan 5% dari eritrosit 100%. Pemeriksaan IAT dilakukan dengan variasi waktu inkubasi 5 menit, 10 menit, dan 15 menit. Alat yang digunakan meliputi centrifuge, inkubator, mikropipet, dan tabung reaksi kaca 10 mL. Bahan yang digunakan meliputi reagen antiglobulin IgG/C3d, larutan Na-sitrat 3,2%, dan saline 0,9%. Data hasil pemeriksaan aglutinasi dicatat dan dianalisis menggunakan uji *Friedman* untuk melihat perbedaan antar kelompok perlakuan, dilanjutkan uji *Wilcoxon* untuk analisis post-hoc.

Penelitian ini menerapkan prinsip-prinsip etika penelitian yang meliputi: penghormatan terhadap martabat manusia (*respect for person*), yaitu dengan memberikan kebebasan individu dalam mengambil keputusan secara otonom serta bertanggung jawab atas pilihannya; prinsip berbuat baik (*beneficence*), dengan mengoptimalkan manfaat yang diperoleh sekaligus meminimalisasi potensi kerugian; serta prinsip keadilan (*justice*), yaitu dengan memastikan perlakuan yang setara bagi setiap partisipan berdasarkan norma moral yang layak dan benar dalam pemenuhan hak-haknya.

HASIL

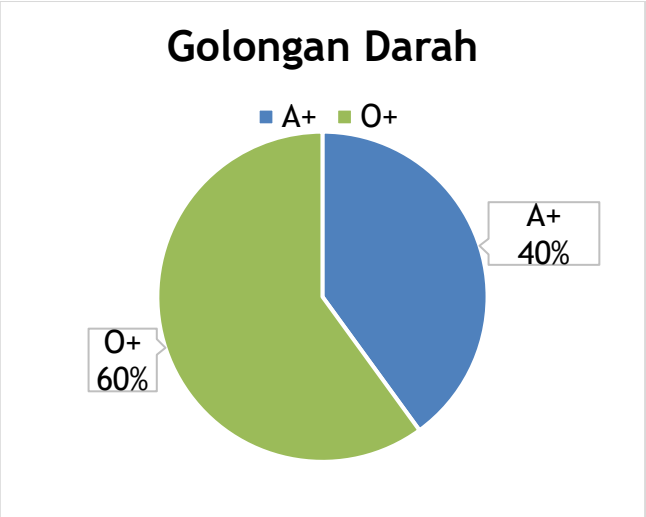
A. Karakteristik Responden

Data karakteristik responden dari populasi dan sampel pada penelitian ini didapatkan 10 responden dengan distribusi frekuensi sebagai berikut :



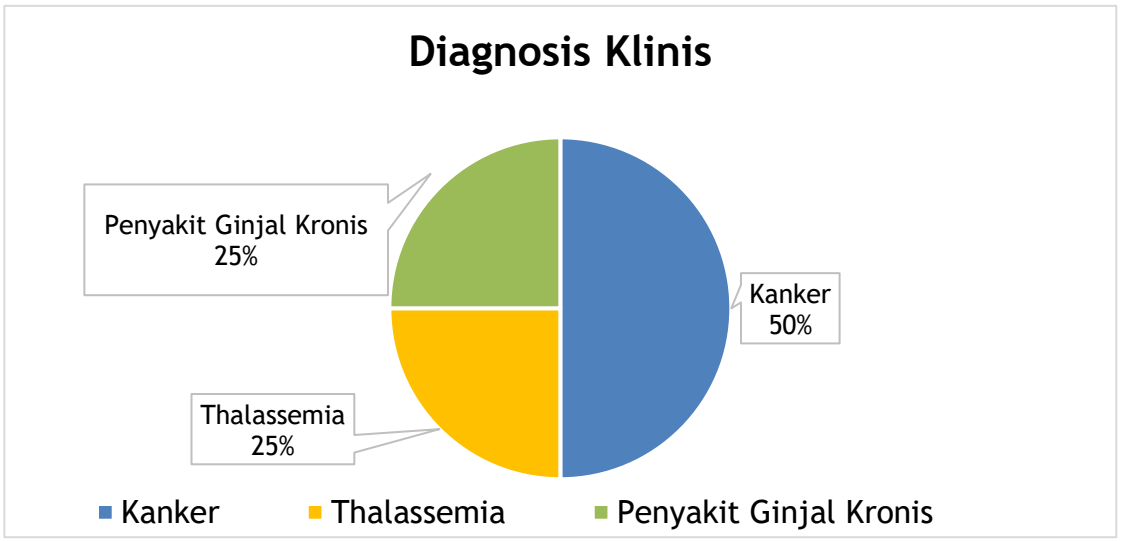
Gambar 1. Presentase Responden Berdasarkan Jenis Kelamin

Sampel yang digunakan adalah 10 pasien dengan kasus *pseudotrombositopenia*. 6 dari sampel yang digunakan bergolongan darah O dengan Rhesus-Positive (60%). Sedangkan, 4 diantaranya mempunyai golongan darah A dengan Rhesus-Positive (40%). Golongan darah O dengan Rhesus-Positive lebih banyak di banding golongan darah lainnya.



Gambar 2. Presentase Responden Berdasarkan Golongan Darah

Sampel yang digunakan adalah 10 pasien dengan kasus *pseudotrombositopenia*. 6 dari sampel yang digunakan bergolongan darah O dengan Rhesus-Positive (60%). Sedangkan, 4 diantaranya mempunyai golongan darah A dengan Rhesus-Positive (40%). Golongan darah O dengan Rhesus-Positive lebih banyak di banding golongan darah lainnya.



Gambar 3. Presentase Responden Berdasarkan Diagnosis Klinis

Sampel yang digunakan yaitu pasien *pseudotrombositopenia* dengan kelainan sistem imun yang menjalani terapi yang berkaitan dengan imunitas pasien seperti transfusi berulang dan kemoterapi. 6 dari sampel memiliki diagnosa klinis Kanker (60%), 2 sampel memiliki diagnosa klinis Penyakit Ginjal Kronis (20%) dan 2 sampel memiliki diagnosa Thalasemia (20%).

B. Analisis Hasil

Pada penelitian ini dilakukan dengan variasi konsentrasi darah sitrat 1%, 3% dan 5% serta lama inkubasi 5 menit, 10 menit dan 15 menit didapatkan hasil sebagai berikut :

Tabel 1. Hasil Data Penelitian

No Sampel	Konsentrasi Darah Na Sitrat								
	1%			3%			5%		
	Lama Inkubasi			Lama Inkubasi			Lama Inkubasi		
	5 Menit	10 Menit	15 Menit	5 Menit	10 Menit	15 Menit	5 Menit	10 Menit	15 Menit
1	1+	1+	1+	2+	2+	2+	2+	2+	2+
2	1+	2+	2+	2+	2+	2+	2+	2+	2+
3	1+	1+	2+	1+	2+	2+	2+	2+	2+
4	1+	2+	2+	2+	2+	2+	2+	2+	3+
5	1+	1+	1+	2+	2+	2+	2+	2+	2+
6	1+	2+	2+	2+	2+	2+	2+	2+	2+
7	1+	1+	2+	2+	2+	2+	2+	2+	2+
8	1+	1+	2+	1+	2+	2+	2+	2+	2+
9	1+	1+	2+	1+	2+	2+	2+	2+	2+
10	1+	2+	2+	2+	2+	2+	2+	2+	2+

Keterangan : 1+ = Aglutinasi rendah; 2+ = Aglutinasi Sedang; 3+ = Aglutinasi Besar (Maharani & Noviar, 2018)

Berdasarkan data hasil penelitian rentang derajat aglutinasi yang didapat yaitu 1+ hingga 3+. Pada konsentrasi 1% dengan lama inkubasi 5 menit menunjukkan derajat aglutinasi 1+ pada seluruh sampel (100%). Pada konsentrasi 1% dengan lama inkubasi 10 menit menunjukkan derajat aglutinasi 1+ pada 6 data (60%) dan 2+ pada 4 data (40%). Pada konsentrasi 1% dengan lama Inkubasi 15 menit menunjukkan derajat aglutinasi 1+ pada 2 data (20%) dan 2+ pada 8 data (80%). Pada konsentrasi 3% dengan lama inkubasi 5 menit menunjukkan derajat aglutinasi 1+ pada 3 data (30%) dan 2+ pada 7 data (70%). Pada konsentrasi 3% dengan lama inkubasi 10 menit menunjukkan derajat aglutinasi 2+ pada seluruh data (100%). Pada konsentrasi 3% dengan lama Inkubasi 15 menit menunjukkan derajat aglutinasi 2+ pada seluruh data (100%). Pada konsentrasi 5% dengan lama inkubasi 5 menit menunjukkan derajat aglutinasi 2+ pada seluruh data (100%). Pada konsentrasi 5% dengan lama

inkubasi 10 menit menunjukkan derajat aglutinasi 2+ pada seluruh data (100%). Pada konsentrasi 5% dengan lama Inkubasi 15 menit menunjukkan derajat aglutinasi 2+ pada 9 data (90%) dan 3+ pada 1 data (10%).

Tabel 2. Hasil Uji Deskriptif

Lama Inkubasi	Mean	Median	Standar Deviasi	Nilai Minimum	Nilai Maximum
5 menit	1.57	2	0.504	1	2
10 menit	1.80	2	0.407	1	2
15 menit	1.97	2	0.320	1	3
Variasi Konsentrasi	**Mean**	**Median**	**Standar Deviasi**	**Nilai Minimum**	**Nilai Maximum**
1%	1.40	1	0.498	1	1
3%	1.90	2	0.305	1	2
5%	2.03	2	0.183	2	3

Dari hasil uji deskriptif didaptkan nilai rata-rata derajat aglutinasi dengan lama inkubasi 5 menit yaitu 1.57. Pada lama inkubasi 10 menit didapatkan nilai rata-rata 1.80 dan pada 15 menit didapatkan nilai rata rata derajat aglutinasi 1.97. Sedangkan pada variabel variasi konsentrasi didapatkan nilai rata-rata derajat aglutinasi konsentrasi 1% yaitu 1.40, pada konsentrasi 3% didapatkan rata rata derajat aglutinasi 1.90 dan pada konsentrasu 5% didapatkan rata-rata derajat aglutinasi adalah 2.03. Dari hasil tersebut menunjukkan adanya kanaikan rata-rata pada setiap variabel Lama Inkubasi dan Variasi Konsentrasi. Semakin tinggi lama inkubasi dan variasi konsentrasi yang dipakai maka semakin tinggi nilai rata-rata derajat aglutinasi yang didapat.

Tabel 3. Hasil Uji Normalitas

	Statistik	df	Sig.
Derajat Aglutinasi	0.579	90	0.000

Uji normalitas penelitian ini menggunakan aturan uji *Shapiro-Wilk* karena sampel yang digunakan ≤50 sampel. Dari hasil uji normalitas didapatkan nilai signifikansi 0.00 (sig <0,05) maka data berdistribusi tidak normal. Data akan diolah menggunakan uji non parametrik *Wilcoxon* untuk menilai ada-tidaknya pengaruh dan *Friedman* untuk mengukur seberapa besar pengaruh.

Tabel 4. Hasil Uji *Friedman*

Variabel	Nilai Sig	Interpretasi Hasil	Chi-Square Hitung	Chi-Square Tabel	df	Kesimpulan
Konsentrasi	0,000	p< 0.05	21.000	5.991 (<Chi-Square hitung)	2	Terdapat pengaruh
Lama Inkubasi	0,000	p< 0.05	32.000	5.991 (<Chi-Square hitung)	2	Terdapat pengaruh

Dari hasil uji hipotesis frieman didapatkan nilai signifikansi pada kedua variabel yaitu sig 0.000 (<0.05). Maka dapat disimpulkan H0 ditolak dan H1 di terima karena nilai signifikansi <0.05. Serta nilai Chi-Square tabel lebih kecil dari nilai Chi-square hitung maka dapat disimpulkan terdapat perbedaan derajat aglutinasi pada variasi konsentrasi dan lama inkubasi. Untuk menilai seberapa besar perbedaan tersebut maka perlu di uji menggunakan uji *Wilcoxon*

Tabel 5. Hasil Uji *Wilcoxon* Lama inkubasi

Variabel	Positive Ranks	Negative Ranks	Ties	Asymp. Sig (2-tailed)
10 Menit – 5 Menit	7	0	23	0.008
15 Menit – 5 Menit	12	0	18	0.001
15 Menit – 10 Menit	5	0	25	0.025

Berdasarkan hasil uji *Wilcoxon* didapatkan pengelompokan ranking untuk melihat besaran perbedaan antara variabel. Dari hasil tersebut didapatkan perbedaan antar kelompok data lama inkubasi antara 10 menit dan 5 menit yaitu 7 data inkubasi 10 menit mempunyai derajat aglutinasi yang lebih besar dibanding 5 menit (10 menit > 5 menit) dan 23 data memiliki derajat aglutinasi yang sama (10 menit = 5 menit) . Pada lama inkubasi antara 15 menit dan 5 menit didapatkan 12 data inkubasi 15 menit lebih besar derajat aglutinasinya dibanding 5 menit (15 menit > 5 menit) dan 18 data memiliki derajat aglutinasi yang sama (15 menit = 5 menit). Pada lama inkubasi 15 menit dan 10 menit didapatkan 5 data inkubasi 15 menit lebih besar derajat aglutinasinya dibanding 10 menit (15 menit > 10 menit) dan 25 data memiliki derajat aglutinasi yang sama (15 menit=10 menit). Berdasarkan nilai signifikansi yang didapat pada semua kolompok data kurang dari 0.05 (sig <0.05) untuk perbandingan 10 menit dan 5 menit (sig. 0.008), 15 dan 5 menit (sig 0.001), serta 15 menit dan 10 menit menit (sig 0.025). Dari nilai signifikansi tersebut dapat disimpulkan bahwa H0

ditolak dan H1 diterima. Maka terdapat pengaruh lama inkubasi pemeriksaan *Indirect Antiglobulin Test* terhadap derajat aglutinasi.

Tabel 6. Hasil Uji *Wilcoxon* Variasi Konsentrasi

Variabel	Positive Ranks	Negative Ranks	Ties	Asymp. Sig (2-tailed)
3% - 1 %	15	0	15	0.000
5% - 1%	20	0	10	0.000
5% - 3%	6	0	24	0.014

Berdasarkan hasil uji *wilcoxon* variasi konsentrasi 1%, 3% dan 5% didapatkan hasil ranking yang disajikan dalam tabel. Dari hasil tersebut didapatkan perbedaan antar kelompok variasi konsentrasi antara 3% dan 1% yaitu 15 data menunjukkan derajat aglutinasi konsentrasi 3% lebih besar dibandingkan 1% (3% > 1%) dan 15 data menunjukkan hasil yang sama (3% = 1%). Pada variasi konsentrasi 5% dan 1 % didapatkan 20 data menunjukkan derajat aglutinasi konsentrasi 5% lebih besar dibandingkan 1% (5% > 1%) dan 19 data menunjukkan hasil yang sama (5% = 1%). Pada Variasi konsentrasi 5% dan 3% menunjukkan 6 data memiliki derajat aglutinasi konsentrasi 5% lebih besar dibandingkan 3% (5%>1%) dan 24 data menunjukkan hasil yang sama (5%=3%). Berdasarkan nilai signifikansi yang didapat pada semua kolompok data kurang dari 0.05 (sig <0.05) untuk perbandingan konsentrasi 3% dan 1% (sig. 0.000), 5% dan 1% (sig 0.000), serta 5% dan 3% (sig 0.014). Dari nilai signifikansi tersebut dapat disimpulkan bahwa H0 ditolak dan H1 diterima. Maka terdapat pengaruh Variasi konsentrasi Darah Sitrat terhadap derajat aglutinasi.

DISKUSI

Berdasarkan data frekuensi distribusi sampel , 60% bergolongan darah O dan 40% bergolongan darah A dengan rhesus keduanya positif. Dengan frekuensi diagnosa klinis Kanker 60%, Penyakit Ginjal Kronis 20% dan Thalasemia 20%. Serta frekuensi jenis kelamin sampel adalah 60% Pria dan 40% Wanita. Frekuensi pasien yang menderita kelainan imun dan penyakit kanker memiliki antibodi antiglobulin (Antibodi *Coombs*) disertai dengan peningkatan retikulosit (Zahira et al., 2024) . Penyakit gagal Ginjal Kronis (PGK) yang melakukan transfusi berulang lebih dari 3 kali dapat meningkatkan adanya Antiglobulin dan positif pada pemeriksaan IAT. Pasien PGK golongan darah O+ dengan transfusi lebih dari 3 kali meningkatkan risiko positif pada pemeriksaan IAT. Hal ini karena

transfusi berulang dapat menyebabkan peningkatan alloimunisasi eritrosit yang menyebabkan positif dalam pemeriksaan IAT (Setyanda, 2025).

Berdasarkan hasil penelitian, derajat aglutinasi rata rata 1+ pada konsentrasi 1% dan 2+ pada konsentrasi 3% dan 5%. Semakin tinggi jumlah konsentrasi maka semakin tinggi pula jumlah eritrosit didalamnya. Jumlah antiglobulin secara kuantitatif memiliki batas minimal untuk bisa disensitasi dengan eritrosit. Pemeriksaan IAT diestimasikan optimal pada sensitasi 500 molekul eritrosit. Sehingga dapat terjadi perbedaan derajat aglutinasi pada konsentrasi eritrosit yang rendah dengan eritrosit yang tinggi (Parker & Tormey, 2017). Jumlah IgG antiglobulin pada sel normal berkisar 5-90 pg/dL dengan rata rata 39 pg/dL. Namun, 5-90 pg/dL Antiglobulin IgG dan C3d berada dibawah garis threshold pemeriksaan. Pemeriksaan antiglobulin IgG dan C3D memliki rentang deteksi 400-1.100 molekul per eritrosit (Khantisitthiporn, 2024). Pada penelitian ini terdapat perbedaan antara konsentrasi 1% dengan konsentrasi 3% dan 5%. Semakin kecil konsentrasi yang digunakan semakin sedikit pula antiglobulin yang dapat di sensitasi oleh eritrosit.

Lama inkubasi dalam penelitian ini didapatkan pengaruh antara inkubasi 5 menit, 10 menit dan 15 menit. Pada standarnya lama waktu inkubasi yang optimal untuk sensitasi antiglobulin kepada sel O adalah 15 menit. Namun menurut penelitian Kenneday et al. (2023) untuk skrinning antibodi-antibodi irregular bisa menggunakan waktu 5-15 menit. Penelitian ini memiliki hasil yang berbeda dengan penelitian tersebut karena terdapat pengaruh antara inkubasi 5 menit, 10 menit dan 15 menit. IAT mendeteksi adanya antiglobulin IgG atau C3d yang terdapat pada serum yang disensitasi kepada eritrosit untuk dideteksi berdasarkan derajat aglutinasinya. Lama Inkubasi kurang dari 5 menit tidak optimal untuk terjadinya sensitasi pada eritrosit karena proses sensitasi belum sempurna (Pandey et al., 2025). Hal ini sejalan dengan hasil penelitian ini dimana berdasarkan uji *Wilcoxon* nilai signifikansi inkubasi 5 menit (sig 0.001) paling kecil dibanding dengan inkubasi 10 dan 15 menit (sig 0.025).

KESIMPULAN

Pada penelitian Pengaruh Variasi Konsentrasi Darah Sitrat dan Lama Inkubasi Pemeriksaan *Indirect Antiglobulin Test* terhadap Derajat Aglutinasi

didapatkan kesimpulan Terdapat pengaruh yang signifikan antara Variasi konsentrasi darah sitrat dan lama inkubasi pemeriksaan IAT terhadap derajat aglutinasi (sig. < 0.05). Disarankan penggunaan konsentrasi darah sitrat 3% dan lama inkubasi 10 menit – 15 menit untuk pemeriksaan *Indirect Antiglobulin Test* pada pasien *pseudotrombositopenia*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan puji dan syukur kehadirat tuhan yang maha Esa, dan besar rasa terimakasih kepada seluruh responden dan pihak yang sudah mendukung.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan yang terkait dengan penelitian ini.

REFRENSI

AABB. (2024). Circular Of Information For The Use Of Human Blood And Blood Components.

Andisari, H. E. (2021). KEGAWATAN PADA REAKSI TRANSFUSI. *Oceana Biomedicina Journal*, *4*(2), 145–163. https://doi.org/10.30649/obj.v4i2.15

Caudill, M. N., Meichner, K., Koenig, A., Berghaus, R. D., & Garner, B. (2021). Comparison of serum versus EDTA plasma in canine major crossmatch reactions. *Veterinary Clinical Pathology*, *50*(3), 319–326. https://doi.org/10.1111/vcp.13003

Kenneday, G., Chih, H. J., Finch, S., & Ellery, P. (2023). *Does decreasing the incubation period used in the antibody screen affect its sensitivity? Transfusion Medicine*, *33*(5), 379–389. https://doi.org/10.1111/tme.13009

Khantisitthiporn, O. (2024). *Significance of antiglobulin test in clinical diagnosis[Editorial]. J Hematol Transfus Med* , *34*(No.3, July-September), 159–161.

Khoolidah, N. M., & Qomariyah, N. (2019). Perbedaan Derajat Aglutinasi Pemeriksaan Golongan Darah Metode Cell Grouping Berdasarkan Tingkat Konsentrasi Suspensi Sel. *Jaringan Laboratorium Medis*, *1*(1), 27. https://doi.org/10.31983/jlm.v1i1.5181

Maharani, E. A., & Noviar, G. (2018). Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medis (TLM) Imunohematologi dan Bank Darah. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.

McCullough, J. (2021). *Transfusion Medicine* (J. McCullough, Ed.). Wiley. https://doi.org/10.1002/9781119599586

Oktari, A., & Mulyati, L. (2022). PENGARUH WAKTU DAN SUHU PENYIMPANAN SAMPEL DARAH TERHADAP HASIL PEMERIKSAAN UJI SILANG SERASI (CROSS MATCH). *Journal of Indonesian Medical Laboratory and Science (JoIMedLabS)*, *3*(2), 133–145. https://doi.org/10.53699/joimedlabs.v3i2.88

Pandey, A., Chandrakar, S., Lal, R., & Chandrakar, K. (2025). Blood cross-matching using gel card technique compared to conventional tube technique: A diagnostic evaluation study. *MRIMS Journal of Health Sciences*, *13*(3), 108–112. https://doi.org/10.4103/mjhs.mjhs_30_24

Parker, V., & Tormey, C. A. (2017*). The Direct Antiglobulin Test: Indications, Interpretation, and Pitfalls. Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, *141*(2), 305–310. https://doi.org/10.5858/arpa.2015-0444-RS

Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 91 Tahun 2015 tentang Standar Pelayanan Transfusi Darah

Reyes, I. M., Ávila-zambrano, J. D., Villacrés-mosquera, L. F., Espinoza, R., Adrián, E., Yesenia, S. C., M, R. D. A. G., L, R. A., Fj, P. C., Martinez M., L., Victorino, N. M., Beca, T., Hernández, G., Morante, S., & Bascones, A. (2019). *Pseudotrombocitopenia inducida por ácido etilendiaminotetraacético (EDTA). Revista de La Facultad de Ciencias Médicas de La Universidad de Cuenca*, *19*(2), 142–145. https://doi.org/10.18537/RFCM.38.01.09

Setyanda, Y. (2025). *Hubungan Transfusi Darah Berulang Dengan Alloimunisasi Eritrosit Pada Pasien Penyakit Ginjal Kronis Stadium 5 Yang Telah Menerima Transfusi Eritrosit* [Universitas Andalas]. http://scholar.unand.ac.id/id/eprint/489406

Sigdel, A., CHALISE, G., BOLIDEEI, M., & MALLA, S. S. (2021). *Comparison between the Manual Method of Indirect Coombs via Gel Technology and Solid Phase Red Cell Adherence*. *Maedica - A Journal of Clinical Medicine*, *16*(2). https://doi.org/10.26574/maedica.2021.16.2.200

Undang-Undang Nomor 17 Tahun 2023 tentang Kesehatan

Zahira, A. D., Rofinda, Z. D., Izzah, A. Z., Efrida, E., Afriant, R., & Rahmatini, R. (2024). Karakteristik Pasien Leukemia Granulositik Kronik Berdasarkan Hasil Direct Coomb's Test di RSUP Dr. M. Djamil. *Jurnal Ilmu Kesehatan Indonesia*, *5*(3), 237–244. https://doi.org/10.25077/jikesi.v5i3.1314

IDENTIFIKASI BAKTERI PATOGEN PADA URIN PEKERJA SEKS KOMERSIAL (PSK) MENGGUNAKAN TEKNIK PCR

Akbar[1]* Dhini Wardani[1]· Subair[1] · Nuramaniyah Taufiq[1]

[1]DIII Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Teknologi Kesehatan, Universitas Megarezky, Sulawesi Selatan, Indonesia

e-Mail: akbarrmrma@gmail.com
No Tlp WA : 081242301519

Abstract

Neisseria gonorrhoeae is a pathogenic bacterium that causes gonorrhea, a common sexually transmitted infection (STI), especially in high-risk groups such as commercial sex workers (CSWs). This infection can lead to serious complications if not treated promptly. This study aimed to detect the presence of N. gonorrhoeae in CSWs and determine its prevalence. The research method used was purposive sampling of 10 samples from CSWs that met the inclusion criteria. The examination was conducted using the Polymerase Chain Reaction (PCR) technique at the HUM-RC laboratory. The results showed that of the 10 samples examined, 5 samples (50%) tested positive for N. gonorrhoeae, and 5 samples (50%) tested negative. These findings indicate that the prevalence of N. gonorrhoeae infection in CSWs in the studied sample is quite high, at 50%. Risk factors such as risky sexual behavior and lack of use of personal protective equipment during sexual intercourse are suspected to contribute to the high infection rate. These results emphasize the importance of routine screening and sexual health education in high-risk groups to prevent the spread of infection and further complications. This research is expected to form the basis for more targeted public health interventions in controlling STIs, especially gonorrhea.

Keywords : Sexually transmitted infections, Neisseria gonorrhoeae, PCR, commercial sex workers, prevalence.

Abstrak

Neisseria gonorrhoeae merupakan bakteri patogen penyebab gonore, salah satu infeksi menular seksual (IMS) yang umum terjadi, terutama pada kelompok berisiko tinggi seperti Pekerja Seks Komersial (PSK). Infeksi ini dapat menyebabkan komplikasi serius apabila tidak segera ditangani. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi keberadaan *N. gonorrhoeae* pada PSK serta mengetahui prevalensinya. Metode penelitian yang digunakan adalah purposive sampling terhadap 10 sampel dari PSK yang memenuhi kriteria inklusi. Pemeriksaan dilakukan menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) di laboratorium HUM-RC. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 10 sampel yang diperiksa, 5 sampel (50%) terdeteksi positif *N. gonorrhoeae*, dan 5 sampel (50%) negatif. Temuan ini menunjukkan bahwa prevalensi infeksi *N. gonorrhoeae* pada PSK dalam sampel yang diteliti cukup tinggi, yaitu sebesar 50%. Faktor risiko seperti perilaku seksual berisiko dan kurangnya penggunaan alat pelindung diri saat berhubungan seksual diduga turut berkontribusi terhadap tingginya angka infeksi. Hasil ini menegaskan pentingnya skrining rutin dan edukasi kesehatan seksual pada kelompok berisiko tinggi guna mencegah penyebaran infeksi dan komplikasi lanjutan. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar bagi intervensi kesehatan masyarakat yang lebih terarah dalam pengendalian IMS, khususnya gonore.

Kata Kunci : Infeksi menular seksual, *Neisseria gonorrhoeae*, PCR, pekerja seks komersial, prevalensi.

PENDAHULUAN

Prostitusi merupakan bentuk pekerjaan yang telah ada sejak zaman dahulu, seiring dengan keberadaan manusia itu sendiri. Istilah prostitusi berasal dari bahasa Latin *pro-stituere* atau *pro-statuere*, yang berarti menyerahkan diri untuk melakukan perbuatan zina, bersundal, berperilaku cabul, atau melakukan hubungan seksual. Pelacuran atau prostitusi termasuk salah satu permasalahan sosial yang perlu dihentikan penyebarannya, disertai dengan upaya pencegahan serta pembinaan bagi para pelakunya. (Anjana & Nasrifah, 2021)

Pekerja Seks Komersial (PSK) adalah fenomena sosial yang terjadi di mana wanita melakukan aktivitas seksual sebagai bagian dari pekerjaan mereka. Dikenal dengan istilah prostitusi, aktivitas telah terorganisir sesuai prinsip yang serupa di berbagai waktu dan budaya. Di tingkat yang lebih rendah, kita bisa menemukan prostitusi jalanan, diikuti oleh rumah bordil/lokalisasi, bar, dan klub. Di tingkatan menengah terdapat wanita penghibur yang sering disebut sebagai call girls. Di level atas wanita simpanan yang memiliki penampilan yang lebih baik, lebih muda, dan lebih sehat, menetapkan tarif lebih tinggi serta menghabiskan lebih banyak waktu dengan klien, sehingga penularan penyakit lebih tinggi resikonya (Febriza *et al.*, 2021).

Infeksi Menular Seksual (IMS) merupakan penyakit yang dapat ditularkan dari satu individu ke individu lainnya melalui aktivitas seksual. Dahulu, penyakit ini dikenal dengan istilah “penyakit kelamin” atau “penyakit seksual”, namun saat ini istilah yang lebih tepat digunakan adalah Infeksi Menular Seksual (IMS) atau Penyakit Menular Seksual (PMS).Penyebab IMS beragam, bisa berasal dari bakteri, virus, jamur, maupun parasit, dan umumnya menular melalui kontak seksual.
Dalam beberapa kasus, Pekerja Seks Komersial (PSK) perempuan dapat menjadi perantara penyebaran penyakit ini kepada masyarakat melalui hubungan dengan pelanggan laki-laki. Salah satu jenis IMS yang cukup sering ditemukan adalah gonore (Echa, 2024)

Gonore merupakan infeksi yang menimbulkan peradangan pada lapisan mukosa akibat bakteri gram negatif *Neisseria gonorrhoeae*. Penyakit ini dapat menular melalui hubungan seksual maupun dari ibu kepada bayi saat kelahiran

(penularan perinatal). Gonore tergolong sebagai salah satu Infeksi Menular Seksual (IMS) yang paling sering terjadi di berbagai negara di dunia, menempati posisi kedua setelah klamidia. Penularan umumnya terjadi saat seseorang berhubungan seksual dengan penderita gonore. Pada pria, masa inkubasi penyakit ini relatif singkat, berkisar antara 2 hingga 8 hari, dan biasanya gejala akan muncul dalam waktu sekitar dua minggu setelah terinfeksi (Rafilia Adhata, 2022)

Bakteri *Neisseria gonorrhoeae* memiliki bentuk menyerupai biji kopi dengan ukuran kecil, sekitar 0,8 µm lebarnya dan 1,6 µm panjangnya. Bakteri ini cukup kuat bertahan di lingkungan yang asam, namun tidak mampu hidup lama di udara terbuka. Dalam kondisi kering atau pada suhu sekitar 39°C, bakteri ini akan cepat mati. *Neisseria gonorrhoeae* termasuk dalam keluarga *Neisseriaceae*, bersama dengan beberapa jenis bakteri lain seperti *Moraxella catarrhalis*, *Acinetobacter*, dan *Kingella*. Ciri khas dari *Neisseria* adalah bentuknya yang bulat kecil (kokus), berwarna gram negatif, dan biasanya tampak berpasangan di bawah mikroskop (Kusuma *et al*., 2021)

Berdasarkan pada penelitian sebelumya yang dilakukan oleh (Ramadiyana, 2021) Berdasarkan hasil penelitian mengenai hubungan antara tingkat. Kurangnya praktik kebersihan yang baik pada area genital dapat meningkatkan risiko infeksi menular seksual, termasuk sifilis. Lebih lanjut, hasil analisis statistik menunjukkan adanya hubungan yang signifikan antara tingkat pengetahuan sifilis dengan perilaku personal hygiene genital. Dari total 65 responden, sebanyak 45 orang memiliki tingkat pengetahuan yang rendah, sementara hanya 20 orang yang memiliki pengetahuan yang tinggi. Di sisi lain, sebanyak 46 orang menunjukkan perilaku personal hygiene genital yang buruk, sedangkan hanya 19 orang yang memiliki perilaku yang baik. Hasil uji Chi-Square mengonfirmasi bahwa tingkat pengetahuan yang rendah berkontribusi terhadap buruknya praktik kebersihan genital ($p < 0,05$). Oleh karena itu, peningkatan edukasi mengenai sifilis dan pentingnya personal hygiene yang baik sangat diperlukan untuk mengurangi risiko penularan infeksi menular.

Adapun tujuan umum dari penelitiana ini untuk mengetahui apakah terdapat bakteri patogen *Neisseria gonorrohoea* pada urin Pekerja Seks Komersial (PSK) di Kecamatan Mandalle Kabupaten Pangkajene dan Kepulauan.

BAHAN DAN METODE

A. Populasi dan Sampel

Populasi untuk penelitian ini yaitu Pekerja Seks Komersial (PSK) yang ada di kecamatan Mandalle, kabupaten Pangkajene dan Kepulauan

B. Teknik pengambilan sampel

Penelitian ini menggunakan metode purposive sampling dalam penentuan sampel, yaitu teknik yang didasarkan pada kriteria tertentu yang telah ditentukan oleh peneliti. Melalui metode tersebut, peneliti memilih responden yang dianggap paling sesuai dan mampu memberikan informasi yang relevan untuk keperluan penelitian..

C. Alat dan bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu sentrifuse, mikrosentrifuges, mikropipet, tabung ependorf, tabung PCR, tabung spin column, LAF (Laminar Air Flow), waterbath, kertas label, stopwatch, Thermal Cycler (GeneAmpTM PCR System 9700), Gel dog, satu set alat elektroforesis, UV transulaminator, komputer, gunting, coolbox dan freezer.

Bahan penelitian ini menggunakan sampel urin, pot sampel, tabung eppendorf, tabung spin column, filter tip (1000 µL,200 µL, 20 µL), ethanol absolute, Phospat Buffer Salin (PBS), enzim kappa DNA polymerase, forward primer dan reverse atau ddH_2O, template DNA, bubuk gel agarose, Tris Barate EDTA (TBE) 0,5%, ethidium bromide (GelRed), marker 100 bp DNA Ladder, ice pack gel.

D. Prosedur Kerja

1. Pengambilan sampel

Sebelum melakukan pengambilan sampel, peneliti terlebih dahulu memberikan kuesioner dan lembar persetujuan (informed consent) kepada responden. Setelah responden memberikan persetujuan dan memenuhi kriteria yang telah ditetapkan, peneliti membagikan

wadah khusus (pot sampel) dan memberikan penjelasan mengenai cara pengambilan urin yang benar. Responden diarahkan untuk mencuci tangan hingga bersih, kemudian membersihkan area kelamin dengan air mengalir dari arah depan (vagina) ke belakang (anus) guna mencegah kontaminasi. Saat buang air kecil, urin pertama dibiarkan keluar, lalu urin aliran tengah ditampung ke dalam wadah yang telah disiapkan dengan jumlah yang cukup, tidak perlu sampai penuh. Responden juga diminta untuk tidak menyentuh bagian dalam wadah agar kebersihan sampel tetap terjaga. Setelah proses pengambilan selesai, sampel urin disimpan di dalam coolbox dengan suhu 0°C hingga siap untuk diperiksa oleh peneliti.

2. Pemeriksaan Metode PCR
   a. Ekstraksi DNA

      Proses ekstraksi dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode spin column. Tahap pertama yang dilakukan adalah proses lisis. Sampel urin dipindahkan ke dalam tabung mikrosentrifus yang steril, kemudian ditambahkan proteinase K dan dikocok menggunakan vortex selama 10 detik. Setelah itu, tabung diinkubasi pada suhu 60°C selama 5 menit menggunakan inkubator. Langkah selanjutnya adalah menambahkan buffer GSB, kemudian dilakukan vortex kembali dan diinkubasi selama 2 menit pada suhu yang sama. Setelah proses tersebut, ditambahkan etanol absolut, lalu dilakukan vortex selama 10 detik agar larutan tercampur dengan sempurna. Tahap kedua merupakan proses pengikatan DNA. Pada tahap ini, seluruh sampel urin dipindahkan ke dalam spin column, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 14.000 xg selama 1 menit. Setelah itu, tabung penampung di bagian bawah spin column dibuang, lalu sampel dipipet kembali ke dalam tabung yang telah disiapkan sebelumnya.

Tahap berikutnya adalah proses pencucian (wash). Pada tahap ini, buffer washing 1 ditambahkan ke dalam tabung, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 14.000xg selama 5 menit. Setelah itu, endapan pada collection tube dibuang dan tabung dipasang kembali. Selanjutnya, ditambahkan buffer washing 2 dan dilakukan sentrifugasi ulang pada kecepatan 14.000xg selama 30 detik. Cairan yang terkumpul pada collection tube dibuang, lalu tabung diganti dengan collection tube baru. Proses sentrifugasi kemudian dilanjutkan pada kecepatan 14.000xg selama 3 menit. Setelah itu, tabung eppendorf dipasang di bawah spin column dan disentrifugasi kembali dengan kecepatan yang sama selama 1 menit. Tahap terakhir yaitu penambahan buffer elution, kemudian diinkubasi pada suhu ruang dan disentrifugasi kembali dengan kecepatan 14.000xg selama 30 detik. Setelah seluruh proses selesai, hasil ekstraksi DNA siap digunakan..

b. PCR MIX

Proses PCR mix dilakukan di dalam laminar air flow. Pada setiap sampel, dimasukkan enzim PCR sebanyak 125 µl, kemudian ditambahkan primer forward (5'- GCC GGT CAA TTT CAC GCG-3') dan primer reverse (5'- ACT GCG TTC TGA ACT GGG TG-3') masing-masing sebanyak 5 µl, serta ditambahkan NFW sebanyak 65 µl. Setelah semua bahan tercampur, campuran tersebut divortex selama 5 detik agar homogen. Selanjutnya, mesin PCR diatur pada tahapan suhu yaitu denaturasi pada 94–95°C, annealing pada 56–72°C, dan ekstensi pada 72–12°C.

c. Elektroforesis

Dibuat agarose dalam botol schott duran, tambahkan TBE 0,5 100µl dipanaskan didalam microwave sampai bubuk larut, didiamkan hingga panasnya dapat diraba oleh tangan, ditambahkan ethidium bromide 5µl dituangkan pada cetakan yang telah disiapkan didiamkan sampai gel memadat, sisir dilepaskan dan

terbentuklah well, dipindahkan hasil cetakan ke chamber elektroforesis yang berisi TBE 0,5. pada well secara berurutan dimasukkan DNA leader, K+, sampel yang telah di PCR, polling dan K-. Elektroforesis dijalankan dari aliran – ke + ditunggu 1 jam dan lihat *geldoc* dibawah sinar UV

d. Analisa Data

Teknik analisa data yang digunakan disajikan dalam bentuk tabel kemudian dinarasikan dalam bentuk paragraf.

HASIL

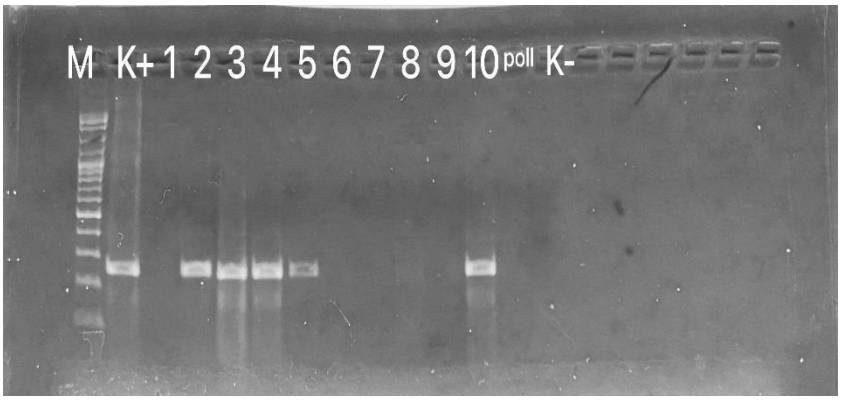
Pada penelitian ini menggunakan sampel Pekerja Seks Komersial (PSK) yang bekerja di Lokalisasi yang ada di Kecamatan Mandalle Kabupaten Pangkep. Sebanyak 10 sampel urin yang diperoleh berdasarkan kriteri inklusi dibawa ke Laboratorium HUM-RC untuk mendeteksi DNA *Neisseria gonorrhoeae* dengan target band pita 260 bp menggunakan metode PCR.

Tabel 1 Karakteristik penelitian berdasarkan usia PSK di Kecamaan Mandalle Kabupaten Pangkajene dan Kepulauan

	Jumlah	Presentasi
Karakteristik		
Usia PSK		
Anak – anak (5-13 tahun)	0 orang	0 %
Remaja awal (12-16 tahun)	0 orang	0 %
Remaja akhir (17-25 tahun)	8 orang	80 %
Dewasa awal (26-35 tahun)	2 orang	20 %
Dewasa akhir (36-45 tahun)	0 orang	0 %
Total	10 orang	100%

Pada gambar diatas terdapat *marker* sebagai (segmen yang spesifik telah diketahui ukurannya). Kode 1-10 merupakan sampel, K+ yang menandakan kontrol positif dan K- menandakan kontrol negatif. 260 bp merupakan ukuran molekul DNA *Neisseria gonorrhoeae*, dan 100 bp merupakan ukuran *marker*. Pada gambar diatas diketahui bahwa sampel yang positif yatu sampel 2, 3, 4, 5 ddan 10 yang ditandai dengan pita *band* 260 bp.

Pita DNA yang dihasilkan menunjukkan perbedaan ketebalan, ada yang tampak jelas dan tebal, sementara yang lain terlihat lebih tipis. Pada sampel dengan kode 5, pita DNA tampak lebih tipis dibandingkan dengan sampel nomor 2, 3, 4, 5, dan 10. Menurut (Harahap, 2017), Konsentrasi DNA memiliki peran penting dalam menentukan kualitas fragmen hasil amplifikasi. Apabila konsentrasi DNA terlalu rendah, pita fragmen yang dihasilkan pada gel akan tampak samar atau tidak terlihat. Sementara itu, jika konsentrasinya terlalu tinggi, pita yang muncul bisa menjadi terlalu tebal sehingga menyulitkan untuk membedakan satu fragmen dengan fragmen lainnya.



Tabel 2. Presentase hasil pemeriksaan PCR pada urin PSK di Kecamatan

Mandalle Kabupaten Pangkajene dan Kepulauan

Metode	Jumlah	Presentase
PCR		
Positif	5 sampel	50 %
Negatif	5 sampel	50 %
Total	**10 sampel**	**100 %**

Sumber: Data Primer 2025

Berdasarkan Tabel 4.7 Hasil pemeriksaan PCR terhadap sampel urin Pekerja Seks Komersial (PSK) di Kecamatan Mandalle, Kabupaten Pangkajene dan Kepulauan menunjukkan bahwa dari total 10 sampel yang diperiksa, 5 sampel terdeteksi positif mengandung DNA *Neisseria gonorrhoeae* dengan persentase sebesar 50%, sedangkan 5 sampel lainnya menunjukkan hasil negatif dengan persentase yang sama, yaitu 50%.

DISKUSI

Hasil penelitian ini mendukung tujuan awal, yaitu untuk mengetahui apakah terdapat bakteri patogen *Neisseria gonorrhoeae* pada urin Pekerja Seks Komersial (PSK) di wilayah tersebut. Dengan adanya 50% sampel yang terkonfirmasi positif, maka dapat disimpulkan bahwa bakteri patogen memang ditemukan di urin Pekerja Seks Komersial (PSK). Ini menegaskan bahwa infeksi menular seksual seperti gonore masih menjadi masalah kesehatan masyarakat yang serius di Kecamatan Mandalle.

Data yang diperoleh melalui metode PCR sangat signifikan karena PCR memiliki sensitivitas dan spesifisitas tinggi dalam mendeteksi DNA bakteri *Neisseria gonorrhoeae*. Dengan separuh dari sampel menunjukkan hasil positif, temuan ini memberikan dasar kuat untuk menyarankan peningkatan upaya preventif, edukasi kesehatan seksual, serta skrining rutin bagi populasi berisiko tinggi.

Populasi pekerja seks komersial (PSK) termasuk kelompok berisiko tinggi karena tingginya frekuensi kontak seksual, penggunaan alat kontrasepsi yang cenderung tidak konsisten, serta kemungkinan melakukan hubungan tanpa pelindung demi kompensasi lebih tinggi. Beberapa faktor yang dapat menyebabkan hasil penelitian tersebut positif hingga 50%. pada penelitian ini yaitu diketahui bahwa responden yang berusia anak anak (5-13 tahun) 0 orang dengan prsentasi 0 %, responden yang berusia remaja awal (12-16 tahun) 0 orang dengan prsentasi 0 %, yang berusia remaja akhir (17-25 tahun) 8 orang dengan prsentasi 80 %, yang berusia dewasa awal (26-35 tahun) 2 orang dengan prsentasi 20% dan yang berusia dewasa akhir (36-45 tahun) 0 orang dengan prsentasi 0 %. Menurut (Ims *et al*., 2021) Seseorang yang memulai aktivitas seksual pada usia terlalu muda (di bawah 21 tahun) memiliki risiko lebih tinggi untuk tertular Infeksi Menular Seksual (IMS). Risiko ini juga dapat meningkat jika tidak menggunakan alat kontrasepsi secara teratur, melakukan hubungan seksual tanpa perlindungan, berhubungan dengan pasangan yang berisiko, atau sering berganti pasangan seksual.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa sebanyak 50% sampel urin Pekerja Seks Komersial (PSK) terdeteksi positif *Neisseria gonorrhoeae* menggunakan metode PCR. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Laturomo (2021) yang membandingkan deteksi bakteri *N. gonorrhoeae* menggunakan metode konvensional dan PCR di Puskesmas Perumnas Kota Kendari. Pada penelitian tersebut, dari 6 sampel urin PSK yang diuji, terdapat 3 sampel (50%) yang positif terhadap *Neisseria gonorrhoeae*.

KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa dari 10 sampel yang diteliti (100%) terdapat 5 sampel positif (50%) dan 5 sampel negatif (50%) sampel urin pekerja seks komersial di Kecamatan Mandalle terdeteksi positif mengandung *Neisseria gonorrhoeae*. Temuan ini mengindikasikan adanya prevalensi infeksi gonore yang cukup tinggi pada kelompok tersebut dan pentingnya upaya pencegahan serta penanganan yang lebih intensif.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan kepada semua pihak yang telah membantu dan tim peneliti.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan tidak adanya konflik kepentingan.

REFRENSI

Anjana, F., & Nasrifah, M. (2021). Analisis Fenomena Kehidupan Seorang Pekerja Seks Komersial (PSK) yang Berkeluarga di Desa Sidumulyo Kabupaten Probolinggo. *Al-Fikru: Jurnal Pendidikan Dan Sains*, *2*(1), 177–189.

Echa, A. (2024). Penyuluhan Kesehatan Untuk Meningkatkan Pengetahuan dan Sikap Remaja Terhadap Penyakit Menular Seksual di SMK N 1 Kotamobagu. *Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat Nusantara (JPkMN)*, *5*(3), 3794–3803.

Febriza, M. A., Adrian, Q. J., & Sucipto, A. (2021). Penerapan Ar Dalam Media

Pembelajaran Klasifikasi Bakteri. *Jurnal BIOEDUIN : Program Studi Pendidikan Biologi*, *11*(1), 10–18. https://doi.org/10.15575/bioeduin.v11i1.12076

Ims, P., Demografi, H. S., Remaja, K. R., Ramunia, G. G., Kunci, K., & Seksual, I. M. (2021). *bahaya dan pencegahan infeksi menular seksual Jenny Novina Sitepu Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen*. *02*(02), 66–74.

Kusuma, L. S., Wulandari, S., Salsabella, G., & Andaresta, E. (2021). Identifikasi neisseria gonorrhoeae pada penderita dengan gejala klinis infeksi penyakit menular seksual. *Jurnal Bidan Pintar*, *2*(2), 296–304.

https://doi.org/10.30737/jubitar.v2i2.2127

Rafilia Adhata, A. (2022). Diagnosis Dan Tatalaksana Gonore. *Jurnal Medika Hutama*, *03*(02), 1992–1996. http://jurnalmedikahutama.com

Ramadiyana. (2021). Indonesian Research Journal on Education. *Indonesian Research Journal on Education Web:*, *4*, 550–558.

Sumatera, K. (2017). *Journal of Animal Science and Agronomy Panca Budi Volume 2 Nomor. 02 Desember 2017*. *2*.

EKSPLORASI KHAMIR, ANALISIS KADAR ALKOHOL DAN SENYAWA BIOAKTIF DALAM MINUMAN TRADISIONAL KAMEKO KHAS SUKU MUNA, SULAWESI TENGGARA

Angriani Fusvita[1]* · Bonni Rubak[1] · Kemal Idris Balaka[1] · Umul Hasanah[1] · Erliyanti[1] · Dilla Juniarsih[1] · Zeptiano Eliacrist Ielmart[1] · Agung Wibawa Mahatva Yodha[2]

[1] Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Bina Husada Kendari, Provinsi Sulawesi Tenggara, Indonesia.
[2] Program Studi Farmasi, Politeknik Bina Husada Kendari, Provinsi Sulawesi Tenggara, Indonesia.

*e-Mail: angrianif@gmail.com
No Tlp WA : 0811408449

Abstract

Kameko is a traditional fermented beverage made from aren sap (Arenga pinnata) by the Muna people of Southeast Sulawesi, Indonesia, produced spontaneously without commercial starters. The fermentation process relies on yeast activity to generate ethanol and bioactive compounds. This study aimed to identify yeast species, determine alcohol levels, and analyze bioactive compounds in sweet and bitter kameko. Samples were collected from local producers. Yeast isolation was performed using PDA medium, followed by microscopic examination and identification with the VITEK 2 Compact system. Alcohol content was quantitatively analyzed using the distillation method, while bioactive compounds were qualitatively screened to detect secondary metabolites (flavonoids, saponins, tannins, phenols, steroids, triterpenoids, and alkaloids). Saccharomyces cerevisiae was detected in sweet kameko, whereas Candida kefyr and Saccharomyces cerevisiae were identified in bitter kameko. Ethanol concentrations ranged from 11–17% (v/v). Sweet kameko tested positive for flavonoids, saponins, steroids, triterpenoids, and alkaloids, while bitter kameko contained flavonoids, tannins, phenols, steroids, triterpenoids, and alkaloids. These findings indicate that kameko has potential as a traditional functional beverage; however, its high alcohol content requires strict monitoring to ensure consumer safety.
***Keyword**: Kameko, Saccharomyces cerevisiae, Candida kefyr, Arenga pinnata*

Abstrak

Kameko adalah minuman fermentasi tradisional dari nira aren (*Arenga pinnata*) khas masyarakat Kabupaten Muna, Sulawesi Tenggara, yang dibuat secara spontan tanpa *starter* komersial. Fermentasi ini mengandalkan pertumbuhan khamir untuk menghasilkan etanol dan senyawa bioaktif. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi jenis khamir, kadar alkohol, dan senyawa bioaktif pada kameko manis dan pahit. Sampel diperoleh dari produsen lokal. Isolasi khamir menggunakan media PDA, diikuti identifikasi mikroskopis dan sistem VITEK 2 Compact. Kadar alkohol dianalisis secara kuantitatif menggunakan metode destilasi, sedangkan skrining uji senyawa bioaktif dilakukan secara kualitatif pada minuman kameko untuk menentukan keberadaan metabolit sekunder (flavonoid, saponin, tanin, fenol, steroid, triterpenoid, alkaloid). Hasilnya, *Saccharomyces cerevisiae* ditemukan pada kameko manis, sedangkan *Candida kefyr* dan *Saccharomyces cerevisiae* ditemukan pada kameko pahit. Kadar etanol berkisar antara 11–17% (v/v). Kameko manis positif mengandung flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid, dan alkaloid. Kameko pahit positif mengandung flavonoid, tanin, fenol, steroid,

triterpenoid, dan alkaloid. Temuan ini menunjukkan potensi Kameko sebagai minuman fungsional tradisional, namun kadar alkohol yang tinggi memerlukan pengawasan ketat untuk menjamin keamanan konsumsi.
Kata kunci: Kameko, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida kefyr*, *Arenga pinnata*

PENDAHULUAN

Tanaman aren (*Arenga pinnata*) dikenal sebagai salah satu *palm* penting di Indonesia karena hampir seluruh bagiannya memiliki nilai guna. Nira yang dihasilkan dari tandan bunga aren mengandung kadar gula tinggi, rasa manis, serta senyawa bioaktif yang berfungsi sebagai antioksidan (Anggraini dkk., 2025). Selain menjadi bahan pemanis, nira juga digunakan sebagai bahan baku berbagai produk olahan pangan dan minuman tradisional. Bagian lain dari pohon aren, seperti batang, daun, ijuk, dan pati, turut dimanfaatkan dalam industri pangan, kerajinan, dan energi. Keberlimpahan bahan baku ini menjadikan nira aren sebagai komoditas potensial dalam pengembangan produk fermentasi tradisional (Barlina dkk., 2020).

Produk fermentasi berbasis tanaman menjadi sorotan karena kandungan metabolit sekundernya yang berperan sebagai antimikroba, antiinflamasi, antioksidan, dan antikanker (Contreras dkk., 2025). Penggunaan bahan nabati sebagai sumber senyawa bioaktif mampu mendukung pengembangan pangan fungsional dan menekan limbah produksi (D'Arcangelo dkk., 2024). Senyawa ini bekerja dengan menghambat atau memperlambat pertumbuhan mikroorganisme melalui pengaruh pada membran maupun sitoplasma sel. Dalam produksi minuman tradisional, nilai fungsional tersebut sangat ditentukan oleh jenis bahan baku dan proses fermentasi yang berlangsung (Okaru & Lachenmeier, 2022).

Fermentasi mikroba merupakan teknik pengolahan pangan tertua yang tetap relevan hingga saat ini. Proses ini melibatkan mikroorganisme seperti ragi (khamir), bakteri, dan kapang dalam mengubah karbohidrat menjadi berbagai senyawa metabolit, termasuk alkohol, asam organik, dan komponen aromatik. Fermentasi tidak hanya meningkatkan rasa dan aroma, tetapi juga

memperpanjang masa simpan, meningkatkan nilai gizi, dan mengubah kandungan kimia bahan pangan (Shah dkk., 2023). Dalam fermentasi alkohol tradisional, *Saccharomyces cerevisiae* merupakan khamir yang paling banyak digunakan karena efisiensi konversinya terhadap glukosa dan fruktosa (Mavrommati dkk., 2024).

Khamir merupakan mikroorganisme uniseluler berbentuk oval yang secara

BAHAN DAN METODE

luas dimanfaatkan dalam industri pangan dan bioteknologi. Khamir kelompok fungi mikroskopis yang mampu memfermentasi gula menjadi alkohol dan karbon dioksida (Maicas, 2023). Perannya dalam proses fermentasi tradisional menjadikan khamir agen penting dalam penentu kualitas akhir produk (Iorizzo dkk., 2021)

Kameko merupakan minuman fermentasi tradisional berbahan dasar nira aren yang banyak diproduksi di wilayah Muna, Sulawesi Tenggara. Proses fermentasi umumnya terjadi secara spontan oleh mikroba yang berasal dari udara dan lingkungan sekitar. Kameko berasal dari bahasa Muna yang dalam arti sebenarnya menyiratkan manis, namun berlawanan dengan rasa yang pahit. Kameko memiliki dua rasa yaitu kameko manis dan kameko pahit. Kameko manis adalah cairan yang berasal dari penyadapan bunga jantan dan bunga betina dari pohon aren tanpa campuran lain sedangkan kameko pahit adalah cairan yang berasal dari penyadapan bunga jantan dan bunga betina dari pohon aren dan ditambahkan kulit kayu bakau. Kameko biasa disajikan pada ritual kebudayaan adat seperti saat pembukaan lahan pertanian, penanaman, panen, dan acara adat lainnya pada suku Muna (Asriani dkk., 2024).

Berdasarkan uraian dan data tersebut peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai “Eksplorasi Khamir, analisis kadar alkohol dan Senyawa Bioaktif dalam Minuman Tradisional Kameko Khas Suku Muna, Sulawesi Tenggara”.

Bahan

Penelitian ini menggunakan sampel minuman kameko yang diperoleh dari masyarakat yang membuat minuman tradisional. Sampel yang digunakan adalah kameko manis dan kameko pahit. Bahan lain yang digunakan adalah media Potato Dextrose Agar (PDA) (merk HIMEDIA), NaCl, Reagen Pewarnaan Gram (ST-Reagents (kristal violet, iodium, alkohol 95%, safranin), aquades, alkohol 70 %, tisu, aluminium foil, kapas, kertas, karet, aseton, serbuk halus asam borat, serbuk halus asam oksalat, eter, aquadest, asam klorida, FeCl3 10%, pereaksi Mayer, pereaksi Bouchardat, pereaksi Wagner, pereaksi Dragendorf, kloroform ($CHCl_3$), asam asetat anhidrat, asam sulfat pekat, norit, Pb asetat 10% (Hermansyah dkk., 2015).

Metode

Penelitian ini dilakukan dengan mengunakan metode eksperimental dengan penyajian data secara deskriptif yaitu bertujuan untuk menggambarkan keadaan atau mendapatkan keterangan tentang keberadaan khamir yang terdapat pada aren pada olahan minuman tradisional kameko di Muna, Sulawesi Tenggara. Populasi dalam penelitian ini adalah 1 Liter minuman kameko khas Sulawesi Tenggara yang diperoleh dari masyarakat yang membuat kameko di Desa Ghonsume, Kabupaten Muna Sulawesi tenggara. Teknik pengambilan sampel dilakukan secara *simple random sampling*. Penelitian ini dilakukan di Politeknik Bina Husada Kendari dan Balai Besar Laboratorium Kesehatan Makassar dengan waktu penelitian dari juli 2023 sampai agustus 2024.

Prosedur Kerja

1. Pembuatan Media PDA

Timbang media PDA sebanyak 9,78 gram dengan menggunakan neraca analitik. Masukkan ke dalam labu Erlenmeyer volume 250 ml, kemudian ditambahkan aquadest dengan volume 250 ml. Panaskan dengan menggunakan *hot plate* (alat pemanas), hingga mendidih sambil diaduk. Kemudian, ditutup dengan kapas, lalu disteril pada *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian, setelah disteril dituang kurang lebih 20 ml pada cawan petri steril, didiamkan hinga dingin sampai media padat (Black, 2020).

2. Isolasi Khamir pada Kameko Metode Pengenceran

Siapkan alat dan bahan. Sampel kameko, kemudian dibawa ke *Laminar Air Flow* diambil sebanyak 10 ml kameko, kemudian tambahkan dengan 90 ml air steril, dihomogenkan dengan vortex selama 2 menit, lalu didiamkan buat seri pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-6}. Suspensi diambil sebanyak 1 ml untuk dituangkan ke dalam cawan petri diinkubasi pada suhu 25°C selama 3-5 hari, selanjutnya koloni-koloni dengan ciri yang berbeda diinokulasikan kembali hingga diperoleh isolate murni. Lakukan pengamatan secara makroskopis (bentuk, elevasi, permukaan, tepi, ukuran dan warna)(Otani dkk., 2024).

3. Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dilakukan dalam pengamatan mikroskopis. Siapkan slide yang telah dibersihkan dengan alkohol 70%. Buat *slide* sel khamir yang akan diwarnai. Fiksasi sel khamir dengan cara memasukkan setetes sel secara hati-hati ke dalam *slide* dan melakukan fiksasi menggunakan Pembakar Bunsen sebanyak tiga kali. Tambahkan kristal violet ke dalam *slide* dan inkubasi selama 1 menit. Bilas *slide* dengan aliran air yang mengalir untuk menghilangkan kristal violet yang tidak terikat. Tambahkan larutan Lugol selama 1 menit, lalu bilas *slide* dengan aliran air mengalir. Tambahkan larutan alkohol 95% selama 30 detik, lalu bilas slide dengan aliran air mengalir. Tambahkan safranin ke dalam slide dan inkubasi selama 1 menit, bilas *slide* dengan aliran air mengalir, lalu keringkan dengan udara. Pengamatan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100x (Fusvita dkk., 2021).

4. Identifikasi Khamir Metode VITEK 2 Compact

Identifikasi khamir dengan metode VITEK 2 Compact (bioMérieux®). dilakukan dengan prinsip analisis otomatis terhadap reaksi biokimia menggunakan kartu identifikasi YST (*Yeast Identification Card*). Isolat khamir murni dari media PDA berumur 24–48 jam disuspensikan dalam larutan saline steril 0,45% hingga mencapai kekeruhan setara McFarland 1,8–2,2, kemudian dimasukkan ke dalam kartu VITEK 2 YST dan diinkubasi secara otomatis selama ±18 jam. Sistem membaca pola metabolisme substrat dan mencocokkannya dengan database internal. Identifikasi VITEK 2 Compact dilakukan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Makassar (Dalyan Cilo & Ener, 2021).

5. Analisis Konsentrasi Alkohol

Siapkan sampel Kameko manis dan Kameko pahit. Alkohol yang terkandung dalam kameko diekstraksi dengan metode distilasi. Masukkan sampel kameko ke dalam labu distilasi dan atur suhu distilasi tidak lebih dari 78°C. Tentukan berat jenis alkohol dengan menggunakan piknometer (Fusvita dkk., 2021).

6. Uji senyawa Bioaktif

Uji senyawa bioaktif pada minuman kameko dilakukan secara kuantitatif untuk mendeteksi keberadaan metabolit sekunder meliputi flavonoid, saponin, tanin, fenol, steroid, triterpenoid, dan alkaloid. Pengujian flavonoid dilakukan dengan penambahan campuran asam oksalat dan asam borat, kemudian diamati fluoresensi kuning di bawah sinar UV 366 nm. Uji saponin dilakukan dengan penambahan HCl 2 N dan pengocokan kuat, di mana terbentuk busa menunjukkan hasil positif. Uji tanin dilakukan dengan penambahan larutan Pb-asetat 10% hingga terbentuk endapan putih. Uji fenol menggunakan pereaksi $FeCl_3$ 10% yang menghasilkan warna hitam pekat atau biru keunguan sebagai indikasi positif. Uji steroid dan triterpenoid dilakukan dengan menambahkan campuran kloroform, asam asetat anhidrat, dan asam sulfat pekat; terbentuknya cincin kecoklatan dan biru kehijauan menunjukkan hasil positif. Sementara itu, uji alkaloid dilakukan dengan penambahan pereaksi Dragendorff, di mana terbentuk endapan jingga menandakan hasil positif

(Maheshwaran dkk., 2024)

HASIL

Dalam penelitian ini sampel yang digunakan adalah minuman tradisional kameko khas Suku Muna di Sulawesi Tenggara. Kameko terbagi menjadi 2 jenis yaitu kameko manis dan kameko pahit. Kameko diperoleh dari cairan yang berasal dari penyadapan bunga jantan dan bunga betina dari nira aren yang kemudian difermentasi secara alami. Kameko manis nampak berwarna putih jernih sedangkan kameko pahit berwarna kuning kecoklatan seperti yang tertara pada Gambar 1.



Gambar 1. Minuman kameko (manis dan pahit) dan Pohon Nira Aren

1. Identifikasi Khamir Secara Makroskopis

Hasil identifikasi khamir secara makroskopis dan mikroskopis pada minuman kameko manis ditemukan adanya satu koloni khamir dengan kode sampel K.M dan pada minuman kameko pahit ditemukan dua koloni khamir yang diberi kode sampel K.P_1 dan K.P_2 yang tertera pada Tabel 1.

Tabel 1. Identifikasi khamir secara makroskopis

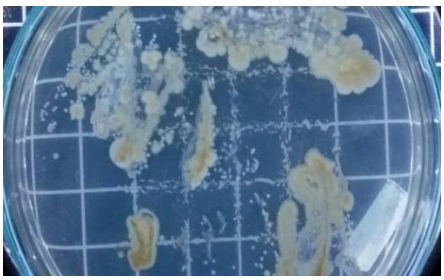
Kode sampel	Bentuk	Ukuran (mm)	Elevasi	Warna	Permukaan	Tepi	Pewarnaan
K.M	Bulat	4	Cembung	Putih *cream*	Halus	Rata	Gram positif
K.P1	Oval	2	Cembung	Putih *cream*	Halus	Berombak	Gram positif
K.P2	Bulat	3	Cembung	Putih *cream*	Halus	Rata	Gram positif

Hasil pemeriksaan secara makroskopik ditemukan pada kode sampel K.M warna koloni putih *cream*, bentuk bulat, permukaan halus, elevasi cembung , tepinya rata dengan ukuran 4 mm. Selanjutnya hasil pengamatan mikroskopis dengan pewarnaan Gram ditemukan khamir Gram positif dan untuk mengetahui identifikasi sampai tingkat spesies dilanjutkan dengan melakukan uji VITEK 2 Compact.

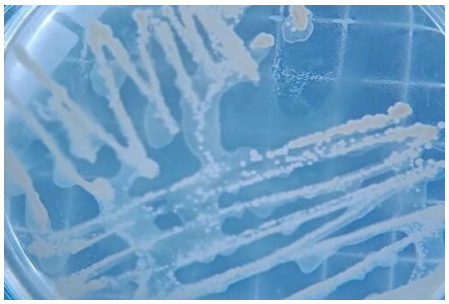
Hasil pemeriksaan secara makroskopik pada sampel kameko pahit ditemukan dua koloni yang diberi kode K.P1 dengan warna koloni putih *cream*, bentuk bulat, permukaan halus, elevasi cembung dengan ukuran 2 mm. Sedangkan kode K.P2 menunjukkan hasil warna koloni putih *cream*, bentuk bulat, permukaan halus, elevasi cembung, tepinya rata dengan ukuran 3 mm. Selanjutnya pengamatan mikroskopis dengan pewarnaan Gram baik kode sampel K.P1 dan K.P2 ditemukan khamir Gram positif dan untuk mengetahui identifikasi sampai tingkat spesies dilanjutkan dengan melakukan uji VITEK 2 Compact. Hasil inokulasi koloni khamir pada media PDA secara makroskopis ditunjukan pada Gambar 2 dan 3.



A

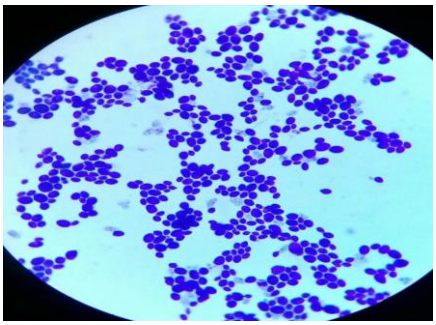


B

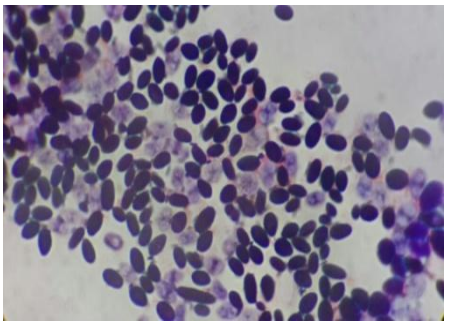


C

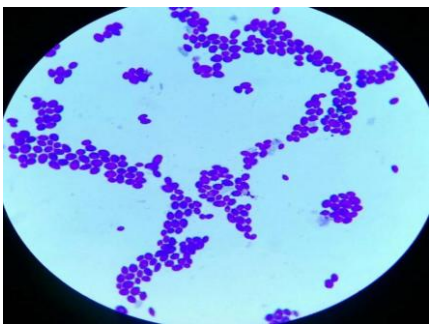
Gambar 2. A Pengamatan koloni K.M; B Pengamatan koloni K.P1 dan C Pengamatan koloni K.P2



A



B



C

Gambar 3. Hasil pewarnaan Gram, A adalah kode sampel K.M; B adalah kode sampel K.P1; dan C adalah kode sampel K.P2

2. Uji VITEK 2 Compact

Hasil pemeriksaan uji VITEK 2 Compact pada koloni khamir dengan alat VITEK 2 Compact tertera pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil penelitian metode VITEK 2 Compact

Kode sampel	Hasil identifikasi	Nilai *Confidance* (%)
K.M	*Saccharomyces cerevisiae*	93 %
K.P1	*Candida kefyr*	*87 %*
K.P2	*Saccharomyces cerevisiae*	93 %

Hasil pemeriksaan identifikasi mikroorganisme menggunakan alat VITEK 2 Compact ditemukan spesies khamir pada kameko manis adalah *S.cerevisiae dengan* nilai *confidance* 93% sedangkan pada kameko pahit ditemukan spesies *C.kefyr dengan* nilai *confidance* 87% dan *S.cerevisiae dengan* nilai *confidance* 93%.

3. Identifikasi Senyawa Bioaktif

Hasil dari identifikasi senyawa bioaktif pada minuman kameko manis dan pahit sebagai berikut:

Tabel 3. Hasil identifikasi senyawa bioaktif pada minuman kameko manis

Senyawa	**Pereaksi**	**Hasil pengamatan**	**Keterangan**
flavonoid	Asam oksalat dan asam borat,fluoresensi UV 366 nm	Fluoresensi kuning	+
Saponin	HCL 2N	Terdapat buih setelah penambahan HCL 2N	+
Tanin	Pb asetat 10%	Terbentuk endapan putih	-
Fenol	FeCl 3 10%	Terbentuk warna hitam pekat	-
Steroid dan triterpenoid	Kloroform, asam asetat anhidrat, dan asam sulfat pekat	Terbentuk cincin kecoklatan dan cincin biru kehijauan	+
Alkaloid	Dragendrof	Terbentuk endapan jingga	+

Tabel 3 menunjukkan bahwa pada kameko manis secara kualitatif terdapat senyawa bioaktif saponin, alkaloid, flavonoid, steroid dan triterpenoid.

Tabel 4. Hasil identifikasi senyawa bioaktif pada minuman kameko pahit

Senyawa	**Pereaksi**	**Hasil pengamatan**	**Keterangan**
Flavonoid	Asam oksalat dan asam borat, fluoresensi UV 366 nm	Fluoresensi kuning	+

Senyawa	Pereaksi	Hasil pengamatan	Keterangan
Saponin	HCl 2N	Terdapat buih setelah penambahan HCl 2N	-
Tanin	Pb asetat 10%	Terbentuk endapan putih	+
Fenol	FeCl3 10%	Terbentuk warna hitam atau biru keunguan	+
Steroid dan triterpenoid	Kloroform,asam asetat anhidrat,Dan asam sulfat pekat	Terbentuk cincin kecoklatan dan cincin biru kehijauan	+
Alkaloid	Dragendrof	Terbentuk endapan jingga	+

Tabel 4 menunjukkan bahwa pada kameko pahit secara kualitatif terdapat senyawa bioaktif tanin, fenol, alkaloid, flavonoid, steroid dan triterpenoid.

4. Identifikasi kandungan alkohol

Hasil dari identifikasi kandungan alkohol pada minuman kameko manis dan pahit dengan metode destilasi yang tertara pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil identifikasi kandungan alcohol dengan metode destilasi

Kode sampel	Volume sampel (ml)	Volume alkohol (ml)	Persentase konsentrasi alkohol
K.M $_1$	50	5,5	11%
K.M_2	50	6,5	13%
K.M_3	50	6,0	12%
K.P_1	50	7,5	15%
K.P_2	50	7,0	14%
K.P_3	50	8,5	17%

Hasil analisis konsentrasi alkohol dilakukan sebanyak tiga dengan sampel yang berbeda untuk melihat konsistensi hasil fermentasi yang menunjukkan bahwa kameko manis (K.M) memiliki kadar alkohol berkisar antara 11–13%, dengan nilai terendah pada sampel KM_1 (11%) dan tertinggi pada K.M_2 (13%). Sedangkan pada kameko pahit (K.P), kandungan alkohol terdeteksi lebih tinggi, yaitu antara 14–17%, dengan konsentrasi terendah pada K.P_2 (14%) dan tertinggi pada K.P_3 (17%).

DISKUSI

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa minuman tradisional kameko, yang berasal dari Suku Muna di Sulawesi Tenggara, merupakan hasil fermentasi alami nira aren dan menghasilkan dua varian utama, yaitu kameko manis dan kameko pahit. Secara morfologis, kameko manis memiliki warna putih jernih, sedangkan kameko pahit berwarna kuning kecokelatan. Perbedaan karakteristik tersebut berkaitan erat dengan lama fermentasi serta aktivitas mikroorganisme yang memengaruhi perubahan kimia selama proses fermentasi. Kameko manis telah dapat dikonsumsi setelah penyadahan kurang lebih 1-2 hari. Sedangkan kameko pahit dikonsumsi setelah fermentasi 3-5 hari.

Hasil identifikasi mikroorganisme menggunakan sistem VITEK 2 Compact menunjukkan bahwa *S.cerevisiae* terdeteksi pada kameko manis dengan tingkat kepercayaan 93%, sedangkan pada kameko pahit ditemukan *C.kefyr* dengan tingkat kepercayaan 87% bersama *S.cerevisiae* 93%. Kedua spesies khamir tersebut umum dijumpai dalam fermentasi bahan alami karena kemampuannya dalam mengonversi gula menjadi etanol dan menghasilkan berbagai metabolit bioaktif (Puspitawati dkk., 2023). *S. cerevisiae* berperan sebagai khamir utama yang bertanggung jawab terhadap pembentukan alkohol melalui jalur glikolisis, sementara *C.kefyr* diketahui dapat memperkaya keragaman senyawa metabolit selama proses fermentasi (Kręgiel dkk., 2017).

Analisis konsentrasi alkohol menunjukkan bahwa kameko manis mengandung alkohol sebesar 11–13%, sedangkan kameko pahit memiliki konsentrasi yang lebih tinggi, yaitu 14–17%. Tingginya konsentrasi alkohol tersebut dipengaruhi oleh aktivitas fermentasi khamir yang meningkat seiring waktu; semakin lama proses fermentasi berlangsung, semakin besar konversi gula menjadi etanol (Song dkk., 2022). Temuan ini sejalan dengan laporan (Das & Tamang, 2023) yang menyatakan bahwa konsentrasi alkohol pada minuman

fermentasi berbasis nira palma dapat meningkat signifikan selama fermentasi spontan.

Dari perspektif hukum dan regulasi, hasil penelitian ini mengungkapkan bahwa kadar alkohol pada minuman tradisional kameko, baik pada varian manis (11–13%) maupun pahit (14–17%), tergolong tinggi dan telah melampaui ambang batas yang ditetapkan untuk kategori minuman non-alkohol. Berdasarkan Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) Nomor 5 Tahun 2016 tentang *Standar Keamanan dan Mutu Minuman Beralkohol*, minuman yang mengandung alkohol lebih dari 1% (v/v) secara yuridis tidak dapat diklasifikasikan sebagai minuman non-alkohol dan wajib masuk dalam kategori minuman beralkohol. Regulasi tersebut membagi minuman beralkohol menjadi tiga golongan, yaitu Golongan A (>1%–5%), Golongan B (>5%–20%), dan Golongan C (>20%–55%) (BPOM RI, 2016). Dengan kadar alkohol yang berkisar antara 11–17%, Kameko secara hukum termasuk ke dalam minuman beralkohol Golongan B, sehingga untuk dapat diedarkan secara legal, produk ini harus memenuhi ketentuan yang berlaku, antara lain memperoleh izin edar dari BPOM, mencantumkan kadar alkohol dan peringatan kesehatan pada label kemasan, serta mematuhi aturan terkait distribusi dan promosi sebagaimana diatur dalam peraturan tersebut.

Pada Peraturan Menteri Perdagangan Republik Indonesia Nomor 25 Tahun 2019 juga mengatur tata niaga minuman beralkohol, termasuk mekanisme pengawasan produksi, distribusi, dan penjualan yang hanya diperbolehkan di tempat-tempat tertentu sesuai ketentuan hukum. Oleh karena itu, meskipun kameko memiliki potensi sebagai minuman fungsional tradisional, konsentrasi alkohol yang tinggi menuntut perhatian serius agar pengembangannya tetap berada dalam kerangka hukum yang berlaku di Indonesia. Upaya untuk menurunkan kadar alkohol melalui pengendalian parameter fermentasi menjadi langkah penting apabila produk ini ingin dikembangkan sebagai minuman fungsional non-alkohol yang dapat dikonsumsi

secara luas oleh masyarakat tanpa melanggar ketentuan peraturan perundang-undangan (Permendag RI, 2019).

Selain menghasilkan etanol, proses fermentasi juga memicu terbentuknya berbagai senyawa bioaktif. Kameko manis mengandung saponin, alkaloid, flavonoid, steroid, dan triterpenoid, sedangkan kameko pahit mengandung tanin, fenol, alkaloid, flavonoid, steroid, dan triterpenoid. Senyawa-senyawa bioaktif tersebut memiliki beragam fungsi fisiologis yang bermanfaat bagi kesehatan. Flavonoid berperan sebagai antioksidan kuat yang mampu menetralisir radikal bebas, mengurangi stres oksidatif, serta menunjukkan aktivitas antiinflamasi dan antimikroba (Shah dkk., 2023). Saponin diketahui memiliki berbagai aktivitas biologis yang bermanfaat bagi kesehatan, antara lain menurunkan kadar kolesterol darah (hipolipidemik), meningkatkan sistem imun melalui modulasi sel T regulator, serta menunjukkan aktivitas antikanker dengan menghambat proliferasi sel abnormal (Luo dkk., 2022). Alkaloid memiliki aktivitas farmakologis luas seperti analgesik, antimikroba, dan antidiabetes, serta dapat memodulasi sistem saraf pusat (Behl dkk., 2022). Tanin berperan sebagai astringen alami yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen dan memiliki aktivitas antidiabetik serta antiinflamasi (Frank Mayer, 2022). Fenol bertindak sebagai antioksidan penting yang melindungi sel dari kerusakan oksidatif dan berkontribusi dalam pencegahan penyakit degeneratif (Jalouli dkk., 2025). Sementara itu, steroid dan triterpenoid dikenal memiliki aktivitas antiinflamasi, hepatoprotektif, dan imunomodulator serta berpotensi sebagai agen antikanker (Perestrelo dkk., 2024). Kehadiran senyawa-senyawa tersebut menunjukkan bahwa kameko tidak hanya sekadar produk fermentasi tradisional, tetapi juga berpotensi sebagai minuman fungsional yang memberikan manfaat kesehatan secara holistik.

Namun demikian, tingginya kadar alkohol dalam Kameko menjadi perhatian penting dari sisi keamanan konsumsi, mengingat konsumsi alkohol berlebih dapat menimbulkan dampak negatif terhadap kesehatan, khususnya

pada fungsi hati dan sistem saraf (Anand dkk., 2023). Oleh karena itu, pengembangan Kameko sebagai minuman fungsional tradisional perlu disertai dengan pengendalian proses fermentasi untuk menurunkan kadar alkohol hingga berada di bawah ambang batas aman (<1%) apabila hendak dipasarkan sebagai minuman non-alkohol. Upaya pengendalian tersebut dapat dilakukan melalui pengaturan durasi fermentasi, suhu, serta pemanfaatan starter mikroba yang terkontrol.

Secara keseluruhan, penelitian ini menegaskan bahwa kameko merupakan produk fermentasi tradisional yang kaya akan khamir dan senyawa bioaktif serta memiliki potensi sebagai minuman fungsional. Akan tetapi, kadar alkohol yang tinggi perlu menjadi perhatian utama agar produk ini aman dikonsumsi dan memenuhi ketentuan regulasi. Oleh sebab itu, penelitian lanjutan mengenai optimasi proses fermentasi dan isolasi senyawa bioaktif sangat diperlukan untuk meningkatkan nilai fungsional sekaligus keamanan konsumsi kameko.

KESIMPULAN

Penelitian ini berhasil mengidentifikasi jenis khamir yang berperan dalam proses fermentasi minuman tradisional kameko, yaitu *Saccharomyces cerevisiae* dan *Candida kefyr*. Hasil analisis menunjukkan bahwa kadar alkohol pada kameko manis berada pada kisaran 11–13%, sedangkan pada kameko pahit mencapai 14–17%, sehingga secara yuridis diklasifikasikan sebagai minuman beralkohol golongan B. Selain itu, kameko terbukti mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, saponin, fenol, tanin, steroid, dan triterpenoid yang memiliki potensi memberikan manfaat fisiologis bagi kesehatan. Temuan ini mengindikasikan bahwa kameko memiliki prospek sebagai minuman fungsional tradisional, namun pengendalian proses fermentasi tetap diperlukan agar kadar alkohol yang dihasilkan sesuai dengan standar keamanan konsumsi yang ditetapkan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Politeknik Bina Husada Kendari atas dukungan fasilitas laboratorium sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada masyarakat di Desa Ghonsume Kabupaten Muna Sulawesi Tenggara.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan tidak memiliki konflik kepentingan terkait dengan penelitian, penulisan, dan publikasi artikel ini. Seluruh hasil yang disajikan merupakan temuan asli berdasarkan data penelitian tanpa adanya pengaruh dari pihak luar.

REFRENSI

Anand, S. K., Ahmad, M. H., Sahu, M. R., Subba, R., & Mondal, A. C. (2023). Detrimental Effects of Alcohol-Induced Inflammation on Brain Health: From Neurogenesis to Neurodegeneration. *Cellular and Molecular Neurobiology*, *43*(5), 1885–1904. https://doi.org/10.1007/s10571-022-01308-2

Anggraini, T., Anwar, A., Hervani, D., Suhendra, D., Wisnubroto, M. P., Noflindawati, & Nasution, I. H. (2025). Quality of sugar palm sap (Arenga pinnata) from various production centers in West Sumatra, Indonesia. *Biodiversitas*, *26*(2), 859–860. https://doi.org/10.13057/biodiv/d260234

Asriani, Sofyani, W. W., & Rahman, A. (2024). Knowledge of Muna Tribe on Kameko in Kabangka Village, Kabangka District, Muna Regency. *Jurnal Kerabat Antropologi*, *8*(2), 230–243.

Barlina, R., Liwu, S., & Manaroinsong, E. (2020). Potensi Dan Teknologi Pengolahan Komoditas Aren Sebagai Produk Pangan Dan Nonpangan / Potential and Technology Processing of Palm Sugar Commodity As Food and Non-Food Products. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian*, *39*(1), 35. https://doi.org/10.21082/jp3.v39n1.2020.p35-47

Behl, T., Singh, S., Sharma, N., Zahoor, I., Albarrati, A., Albratty, M., Meraya, A. M., Najmi, A., & Bungau, S. (2022). Expatiating the Pharmacological and Nanotechnological Aspects of the Alkaloidal Drug Berberine: Current and Future Trends. *Molecules*, *27*(12). https://doi.org/10.3390/molecules27123705

Black, W. D. (2020). A comparison of several media types and basic techniques used to assess outdoor airborne fungi in Melbourne, Australia. *PLoS ONE*, *15*(12 December), 1–25. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238901

BPOM RI. (2016). Bpom Ri. *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan RI Nomor 14 Tahun 2016*, 1–17.

Contreras, R. A., Pizarro, M., & Batista-Gonzalez, A. (2025). *Exploring Plant Metabolites for Functional Food Applications: A Review of Bioactive Compounds and Their Potential Use in The Food Industry*.

D'Arcangelo, S., Santonocito, D., Messina, L., Greco, V., Giuffrida, A., Puglia, C., Di Giulio, M., Inturri, R., & Vaccaro, S. (2024). Almond Hull Extract Valorization: From Waste to Food Recovery to Counteract Staphylococcus aureus and Escherichia coli in Formation and Mature Biofilm. *Foods*, *13*(23). https://doi.org/10.3390/foods13233834

Dalyan Cilo, B., & Ener, B. (2021). Comparison of Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) Microdilution Method and VITEK 2 Automated Antifungal Susceptibility System for the Determination of Antifungal Susceptibility of Candida Species. *Cureus*, *13*(12), 6–13. https://doi.org/10.7759/cureus.20220

Das, S., & Tamang, J. P. (2023). Fermentation Dynamics of Naturally Fermented Palm Beverages of West Bengal and Jharkhand in India. *Fermentation*, *9*(3). https://doi.org/10.3390/fermentation9030301

Frank Mayer. (2022). Tannins: Natural plant-derived polyhydroxy phenolic compounds with potential for biotechnological and biomedical applications. *World Journal of Biological and Pharmaceutical Research*, *2*(1), 001–004. https://doi.org/10.53346/wjbpr.2022.2.1.0127

Fusvita, A., Susanti, Sernita, Firdayanti, & Idris, S. A. (2021). Exploration of bacteria and analysis of alcohol concentration in pongasi a tolaki's typical alcoholic beverage. *Journal of Physics: Conference Series*, *1899*(1). https://doi.org/10.1088/1742-6596/1899/1/012008

Hermansyah, Novia, Sugiyama, M., & Harashima, S. (2015). Candida tropicalis isolated from Tuak, a North Sumatera-Indonesian traditional beverage, for bioethanol production. *Korean Journal of Microbiology and Biotechnology*, *43*(3), 241–248. https://doi.org/10.4014/mbl.1506.06002

Permendag RI. (2019). *Peraturan Menteri Perdagangan Republik Indonesia Nomor 25 Tahun 2019 Tentang Perubahan Keenam Atas Peraturan Menteri Perdagangan Nomor 20/M-Dag/ Per/4/2014 Tentang Pengendalian Dan Pengawasan Terhadap Pengadaan, Peredaran, Dan Penjualan Minuman Beralkohol*.

Iorizzo, M., Coppola, F., Letizia, F., Testa, B., & Sorrentino, E. (2021). Role of

yeasts in the brewing process: Tradition and innovation. *Processes*, *9*(5), 1–16. https://doi.org/10.3390/pr9050839

Jalouli, M., Rahman, M. A., Biswas, P., Rahman, H., Harrath, A. H., Lee, I. S., Kang, S., Choi, J., Park, M. N., & Kim, B. (2025). Targeting natural antioxidant polyphenols to protect neuroinflammation and neurodegenerative diseases: a comprehensive review. *Frontiers in Pharmacology*, *16*(January), 1–18. https://doi.org/10.3389/fphar.2025.1492517

Kręgiel, D., Pawlikowska, E., & Antolak, H. (2017). Non-Conventional Yeasts in Fermentation Processes: Potentialities and Limitations. *Old Yeasts - New Questions*. https://doi.org/10.5772/intechopen.70404

Luo, H., Chen, J., Su, C., & Zha, L. (2022). Advances in the Bioactivities of Phytochemical Saponins in the Prevention and Treatment of Atherosclerosis. *Nutrients*, *14*(23). https://doi.org/10.3390/nu14234998

Maheshwaran, L., Nadarajah, L., Senadeera, S. P. N. N., Ranaweera, C. B., Chandana, A. K., & Pathirana, R. N. (2024). Phytochemical Testing Methodologies and Principles for Preliminary Screening/ Qualitative Testing. *Asian Plant Research Journal*, *12*(5), 11–38. https://doi.org/10.9734/aprj/2024/v12i5267

Maicas, S. (2023). Yeast Fermentation and the Make of Biotechnological Products. *Microorganisms*, *11*(6). https://doi.org/10.3390/microorganisms11061463

Mavrommati, M., Christofi, S., Kallithraka, S., Papanikolaou, S., & Aggelis, G. (2024). Fermentative and Enological Features of Saccharomyces cerevisiae Populations Generated Through Adaptive Laboratory Evolution. *Beverages*, *10*(4). https://doi.org/10.3390/beverages10040102

Okaru, A. O., & Lachenmeier, D. W. (2022). Defining No and Low (NoLo) Alcohol Products. *Nutrients*, *14*(18), 1–12. https://doi.org/10.3390/nu14183873

Otani, N., Nguyen, K. D. M., Hirokawa, A., Kanki, Y., Yun, H. S., Maeda, Y., Gu, W., Takahashi, Y., & Sugasawa, T. (2024). Identification and Characterization of Yeast Species Isolated from Cornus kousa Fruits in Japan. *Fermentation*, *10*(6), 0–9. https://doi.org/10.3390/fermentation10060288

Perestrelo C, S, R., Ferreira, R., Berenguer, C. V, Pereira, J. A. M., & Castilho, P. C. (2024). *Plant-Derived Terpenoids : A Plethora of Bioactive Compounds with Several Health Functions and Industrial Applications — A Comprehensive Overview*.

Puspitawati, I. N., Santi, S. S., & Wahyusi, K. N. (2023). *Bioethanol Generation Through the Fermentation Process of Pineapple and Black Grape Utilizing*

Saccharomyces cerevisiae and Saccharomyces bayanus. *2023*, 52–60. https://doi.org/10.11594/nstp.2023.3609

Shah, A. M., Tarfeen, N., Mohamed, H., & Song, Y. (2023). Fermented Foods: Their Health-Promoting Components and Potential Effects on Gut Microbiota. *Fermentation*, *9*(2), 1–23. https://doi.org/10.3390/fermentation9020118

Song, Y. R., Lim, B. U., & Baik, S. H. (2022). Microbial Diversity and Volatile Flavor Changes during Gayangju Fermentation, a Traditional Korean House Rice Wine. *Foods*, *11*(17). https://doi.org/10.3390/foods11172604

PERBANDINGAN TITER STATUS SEKRETOR PADA SALIVA SEBELUM DAN SETELAH AKTIVITAS FISIK OLAHRAGA FUTSAL

Anindya Dwi Novianti[1]* · Betty Nurhayati[2] · Eem Hayati[3] · Nina Marliana[4]

[1,2,3,4] **Program Studi Diploma III Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Bandung, Jawa Barat, Indonesia**
e-Mail : anindyadwi.novianti5@gmai.com
No Tlp WA : 085295308609

Abstract

Determination of blood type is not solely dependent on blood specimen. In individuals with the "secretor" gene, A, B, and H antigens can be found in soluble form in tissues and body fluids, such as saliva. Saliva is a highly sensitive specimen, influenced by systemic, physiological, and biochemical changes within the oral cavity. This study aims to examine the differences in secretor titer status in saliva before and after physical activity, specifically futsal. This research is descriptive with a one-group pretest-posttest design, in which secretor titer status was examined before and after physical activity involving futsal. The sample consisted of 30 individuals with blood types A or B, who possess the secretor gene and performed futsal physical activity. The results showed that 28 samples (93.3%) exhibited an increase in secretor titer status after futsal activity, while 2 samples (6.7%) showed no increase. The average secretor titer status in saliva before futsal activity was 1/4, and after futsal activity was 1/16. The Wilcoxon statistical test yielded a significance value of 0.000 (p<0.05), indicating a significant difference in secretor titer status before and after physcal activity. These findings suggest that futsal physical activity can increase the secretor titer status in secretor individuals.
***Keyword** : Secretor Titer Status, Saliva, Futsal*

Abstrak

Penentuan golongan darah tidak hanya bergantung pada spesimen darah. Pada individu gen “sekretor” antigen A,B dan H ditemukan dalam bentuk terlarut di jaringan dan cairan tubuh, seperti saliva. Saliva merupakan spesimen yang sangat sensitif, dipengaruhi oleh perubahan sistemik, fisiologis, dan biokimiawi dalam rongga mulut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan titer status sekretor pada saliva sebelum dan setelah aktivitas fisik olahraga futsal. Jenis penelitian ini adalah deskriptif dengan desain one-group pretest-posttest, dimana diperiksa titer status sekretor sebelum dan setelah aktivitas fisik olahraga futsal. Sampel dari penelitian ini yaitu 30 individu bergolongan darah A atau B, gen sekretor dan melakukan aktivitas fisik olahraga futsal. Hasil penelitian didapatkan bahwa sebanyak 28 sampel (93,3%) menunjukkan adanya peningkatan titer status sekretor setelah aktivitas fisik futsal dan 2 sampel (6,7%) tidak menunjukkan adanya peningkatan titer status sekretor. Rata-rata titer status sekretor pada saliva sebelum aktivitas fisik olahraga futsal adalah 1/4 dan setelah aktivitas fisik olahraga futsal adalah 1/16. Uji statistik Wilcoxon menghasilkan nilai signifikansi 0,000 (p<0,05), yang menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara titer status sekretor sebelum dan setelah aktivitas fisik. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas fisik olahraga futsal dapat meningkatkan titer status sekretor pada individu sekretor.
Kata Kunci : Titer Status Sekretor, Saliva, Futsal

PENDAHULUAN

Di sejumlah laboratorium kesehatan, terutama yang berfokus pada kriminologi dan forensik, penentuan golongan darah tidak hanya bergantung pada spesimen darah. Sekitar 80% populasi yang memiliki gen “sekretor” juga menunjukkan adanya antigen A,B dan H dalam bentuk terlarut di jaringan dan cairan tubuh, seperti plasma, semen, keringat dan saliva. Individu dengan gen sekretor cenderung memiliki konsentrasi antigen A atau B yang lebih tinggi dalam saliva dibandingkan dengan darahnya (Maharani & Ganjar, 2018).

Saliva mengandung musin glikoprotein sebagai pembawa antigen golongan darah (Aliviameita et al., 2018) dan terdiri dari 98–99% air serta 2% komponen organik, anorganik, dan enzim (Sawitri & Maulina, 2021). Kondisi saliva sangat sensitif terhadap faktor fisiologis, waktu pengambilan, dan penyimpanan (Kaur et al., 2018). Saliva sore cenderung memiliki titer sekretor lebih rendah dibanding pagi hari karena laju aliran meningkat akibat aktivitas mengunyah (Putri et al., 2023).

Selain mengunyah makanan faktor lain yang akan mempengaruhi laju aliran saliva adalah aktivitas fisik. Laju aliran saliva pada individu sehat yang tidak terstimulasi sebesar 0,30-0,65 mL/menit. Selama aktivitas fisik, laju aliran saliva meningkat menjadi 0,78-0,94 mL/menit, tetapi setelah pemulihan (istirahat) laju ini menurun. Selama olahraga, konsentrasi beberapa ion dalam saliva meningkat seperti kalsium, klorida dan protein (Ntovas et al, 2022).

Aktivitas fisik, khususnya olahraga dapat mempengaruhi berbagai parameter fisiologis tubuh. Olahraga intens seperti futsal menyebabkan kehilangan cairan 2–3 liter dalam 40 menit, lebih tinggi dibanding basket atau sepak bola karena melibatkan lebih banyak sprint dan aktivitas anaerobik, yang dapat meningkatkan dehidrasi (Turyandari, 2017). Kekurangan cairan menghambat sekresi saliva karena kelenjar berusaha mempertahankan keseimbangan air di dalam tubuh (Kusuma, 2015).

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian yang dilakukan adalah deskriptif dengan desain penelitian one-group pretest-posttest design. Jenis data yang digunakan pada penelitian ini adalah data primer yang diperoleh melalui analisis semikuantitatif pada sampel saliva yang dikumpulkan sebelum dan setelah melakukan aktivitas fisik olahraga futsal. Hasil data yang diperoleh berupa titer status sekretor. Populasi dari penelitian ini adalah individu bergolongan darah A atau B dengan gen sekretor, dengan sampel penelitian 30 individu bergolongan darah A atau B gen sekretor yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Titer status sekretor diperiksa dengan metode hemaglutinasi inhibisi. Bahan yang diperlukan pada penelitian ini yaitu saliva, sel darah merah A 5%, sel darah merah B 5%, reagen anti-A, reagen anti-B dan NaCl 0,9%. Prosedur penelitian diawali dengan persiapan reagen, yaitu pembuatan suspensi sel darah merah A 5% dan sel darah merah B%. Kemudian dilakukan validasi reagen berupa zat anti-A dan zat anti-B menggunakan sel darah merah yang telah disiapkan. Setelah validasi, dilakukan titrasi untuk menentukan titer tertinggi dari zat anti yang masih mampu menghasilkan reaksi aglutinasi. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan titer status sekretor pada spesimen saliva. Pemeriksaan titer status sekretor dilakukan dengan metode hemaglutinasi inhibisi.

Penelitian ini menerapkan prinsip-prinsip etika penelitian yang meliputi: penghormatan terhadap martabat manusia (respect for person), yaitu dengan memberikan kebebasan individu dalam mengambil keputusan secara otonom serta bertanggung jawab atas pilihannya; prinsip berbuat baik (beneficence), dengan mengoptimalkan manfaat yang diperoleh sekaligus meminimalisasi potensi kerugian; serta prinsip keadilan (justice), yaitu dengan memastikan perlakuan yang setara bagi setiap partisipan berdasarkan norma moral yang layak dan benar dalam pemenuhan hak-haknya.

HASIL

Proses penelitian diawali dengan validasi reagen yaitu zat anti-A, zat anti-B, sel darah merah A 5% dan sel merah B 5% yang telah dibuat. Hasil validasi reagen disajikan dalam tabel 1.

Tabel 1. Validasi Reagen

	Sel Darah Merah	
	Gol. A	**Gol.B**
Anti-A	4+	Neg
Anti-B	Neg	4+
Kesimpulan	Valid	Valid

Hasil validasi sel darah merah A 5% dengan zat anti-A menghasilkan aglutinasi positif (4+) yang dipastikan valid dan dapat digunakan untuk pemeriksaan status sekretor. Validasi sel darah merah B 5% dengan zat anti-B juga menghasilkan aglutinasi positif (4+) yang dipastikan valid dan dapat digunakan untuk menentukan titer zat anti yang selanjutnya dilakukan untuk pemeriksaan titer status sekretor. Zat anti-A dan zat anti-B yang telah dipastikan valid kemudian dilakukan titrasi untuk mengetahui titer tertinggi zat anti yang masih mampu bereaksi dengan sel eritrosit yang sesuai. Hasil disajikan pada tabel 2 dan tabel 3.

Tabel 2. Hasil Titer Zat Anti-A

Titer	C	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512
Anti-A	Neg	4+	4+	4+	4+	4+	4+	2+	Neg	Neg

Tabel 3. Hasil Titer Zat Anti-B

Titer	C	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512
Anti-B	Neg	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	Neg	Neg

Berdasarkan hasil titrasi pada tabel 2 titer zat anti-A menunjukkan reaksi aglutinasi positif kuat (4+) dari pengenceran 1/4 hingga 1/64, dengan reaksi menurun menjadi (2+) pada pengenceran 1/128, berdasarkan hasil ini, titer anti-

A ditentukan pada pengenceran 1/128, yang merupakan pengenceran terakhir di mana masih ditemukan aglutinasi positif. Maka untuk pemeriksaan titer status sekretor harus dipekatkan menjadi 1/16 yaitu 1 bagian zat anti A ditambah 15 bagian NaCl 0,9%. Hasil titer zat anti-B pada tabel 3 menunjukkan aglutinasi positif kuat (4+) pada pengenceran 1/4 hingga 1/128. Oleh karena itu, titer anti-B ditentukan sebesar 1/128, maka untuk pemeriksaan titer status sekretor harus dipekatkan menjadi 1/16 bagian yaitu 1 bagian zat anti-B ditambah 15 bagian NaCl 0,9%.

Berdasarkan data yang diperoleh dari hasil penelitian dilakukan analisa deskriptif untuk mengetahui data minimum, maksimum dan rata-rata dari setiap pemeriksaan titer status sekretor pada saliva sebelum dan setelah aktivitas fisik olahraga futsal.

Tabel 4. Analisa Deskriptif Hasil Pemeriksaan Titer Status Sekretor

	Minimum	**Maksimum**	**Rata-Rata**
Sebelum	2	16	4
Setelah	4	64	16

Berdasarkan Analisa deskriptif pada tabel 4 dapat dilihat bahwa nilai titer status sekretor yang dilakukan menggunakan spesimen saliva sebelum dan setelah aktivitas fisik olahraga futsal memiliki nilai rata-rata, minimum dan maksimum yang berbeda. Nilai rata-rata pada kelompok data sebelum aktivitas 1/4 dan setelah aktivitas 1/16. Nilai minimum pada kelompok data sebelum aktivitas 1/2 dan setelah aktivitas 1/4. Nilai maksimum pada kelompok data sebelum aktivitas 1/16 dan setelah aktivitas 1/64.

Data yang telah didapat dilanjutkan dengan uji normalitas untuk menentukan data terdistribusi normal atau tidak. Untuk kemudian dilanjutkan dengan uji statistik berdasarkan distribusi data yang didapat. Uji normalitas yang digunakan untuk mengetahui normalitas dari distribusi data pada penelitian ini adalah metode *Shapiro-Wilk* karena data pada penelitian ini <50 data. Data uji normalitas disajikan pada tabel 5.

Tabel 5. Uji Normalitas Titer Status Sekretor

	Shapiro-Wilk			
	Statistik	**Df**	**Nilai Sig.**	**Kesimpulan**
Sebelum	0,646	30	0,000 (<0,05)	Tidak Berdistribusi Normal
Setelah	0,699	30	0,000 (<0,05)	Tidak Berdistribusi Normal

Dari tabel 5 hasil uji normalitas didapat nilai Sig. <0,05 artinya bahwa data berdistribusi tidak normal.

Berdasarkan uji normalitas pada tabel 6 diperoleh bahwa data tidak terdistribusi normal maka selanjutnya dilakukan dengan uji *non parametric Wilcoxon* untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan titer status sekretor pada saliva sebelum dan setelah aktivitas fisik olahraga futsal yang disajikan pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil Uji *Non Parametric Wilcoxon*

	Nilai Sig	**Hasil**	**Kesimpulan**
Sebelum - Setelah	0,000	<0,05	Terdapat perbedaan

DISKUSI

Prinsip dari pemeriksaan status sekretor metode aglutinasi inhibisi adalah netralisasi antibodi. Pada tahap netralisasi antibodi, sampel (antigen) yang dilarutkan dengan NaCl fisiologis bereaksi dengan zat anti (antibodi) sehingga titer antibodinya akan mendekati level antigen yang terkandung dalam sampel dan terjadi netralisasi. Kemudian ditambahkan sel darah merah (antigen) dan terjadi reaksi aglutinasi inhibisi. Hasil positif aglutinasi berarti non sekretor karena didalam sampel tidak terdapat antigen yang dapat menghambat reaksi aglutinasi saat penambahan sel darah merah. Hasil negatif aglutinasi berarti sekretor karena di dalam sampel terdapat antigen yang dapat menghambat aglutinasi saat penambahan sel darah merah.

Hasil pemeriksaan titer sekretor pada tabel 4 dari 30 sampel penelitian diperoleh sebanyak 28 sampel (93,3%) menunjukkan adanya peningkatan titer

status sekretor setelah aktivitas fisik futsal, 2 sampel (6,7%) tidak menunjukkan adanya peningkatan titer status sekretor, dan tidak ada yang mengalami penurunan titer status sekretor. Rata-rata kenaikan titer sebesar 2 kali lipat sebanyak 13 sampel (43,3%), peningkatan titer sebesar 4 kali lipat sebanyak 12 sampel (40%), peningkatan titer sebesar 8 kali lipat sebanyak 3 sampel (10%) dan 2 sampel tidak mengalami peningkatan (6,7%). Sebelum aktivitas fisik, titer minimum adalah 1/2 dan maksimum 1/16, sementara setelah aktivitas fisik meningkat menjadi minimum 1/4 dan maksimum 1/64. Rata-rata titer sebelum olahraga adalah 1/4, dan setelah olahraga meningkat menjadi 1/16. Secara statistik, hasil uji *Wilcoxon* menunjukkan nilai signifikansi 0,000 (<0,05), yang menandakan bahwa perbedaan tersebut bermakna secara statistik.

Dalam konteks genetik, sekresi antigen golongan darah dalam saliva dikendalikan oleh gen FUT2 (α-1,2 *fucosyltransferase*) pada kromosom 19. Alelnya adalah Se untuk memunculkan sifat sekretori. Individu yang memiliki alel fungsional dari gen ini (sekretor) akan mengeksresikan antigen ABO ke dalam cairan tubuh (Aliviameita, 2017). Tingkat ekspresi antigen juga dapat dipengaruhi oleh faktor fisiologis seperti hidrasi, stres fisik, dan aktivitas fisik (Koda, Soejima & Kimura, 2023).

Salah satu bentuk aktivitas fisik yang dapat memengaruhi produksi saliva adalah olahraga futsal. Olahraga Futsal merupakan salah satu permainan atau olahraga yang cenderung dinamis dan lebih membutuhkan tenaga yang baik dari pemainnya. Pemain futsal cenderung kehilangan lebih banyak cairan. Ketika tubuh kehilangan cairan melalui keringat dan tidak segera diimbangi oleh asupan cairan yang cukup, terjadilah dehidrasi (Turyandari, 2017).

Dehidrasi mengurangi volume cairan dalam tubuh, termasuk cairan yang tersedia untuk sekresi kelenjar saliva. Akibatnya, laju aliran saliva menurun karena tubuh menghemat cairan (Ntovas et al, 2022). Ketika laju aliran saliva menurun, kandungan termasuk glikoprotein seperti antigen A, B, dan H menjadi relatif lebih tinggi dibandingkan volume cairan (Ihalin, Mahonen & Tenovuo, 2021).

Meski demikian, terdapat beberapa individu dalam penelitian ini yang

menunjukkan titer tidak berubah setelah olahraga. Hal ini bisa dipengaruhi oleh variabel lain seperti tingkat dehidrasi, perbedaan individual dalam respon simpatis terhadap olahraga, atau perbedaan kecepatan pengambilan sampel pasca-aktivitas. Selain itu, uji normalitas menunjukkan bahwa data tidak berdistribusi normal dan tidak homogen, yang mencerminkan variabilitas biologis antar subjek.

Meskipun semua subjek mengikuti olahraga futsal, intensitas dan keterlibatan fisik bisa berbeda-beda. Misalnya, ada yang berperan aktif selama permainan (banyak berlari, mengoordinasi bola), sementara yang lain lebih pasif (lebih sedikit bergerak). Aktivitas fisik yang lebih intens menghasilkan stimulasi sistem saraf simpatik yang lebih besar, sehingga dapat memicu peningkatan sekresi saliva dan titer sekretor (Algrove et al, 2018).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian mengenai Perbandingan Titer Status Sekretor Pada Saliva Sebelum dan Setelah Aktivitas Fisik Olahraga Futsal yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara titer status sekretor pada saliva sebelum dan setelah aktivitas fisik olahraga futsal.

UCAPAN TERIMAKASIH

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT. atas segala rahmat dan karunia-Nya dan penulis mengucapkan terimakasih kepada seluruh responden dan pihak-pihak yang sudah mendukung penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan yang terkait dengan penelitian ini.

REFRENSI

Aang, R. M., & Hakim, A. A. (2022). Survei Tingkat Aktivitas Fisik Mahasiswa Pendidikan Kesehatan dan Rekreasi Universitas Negeri Surabaya dalam Menjaga Kebugaran Selama Perkuliahan Daring pada Masa Pandemi Covid-19. *Jurnal Kesehatan Olahraga*, 121-128.

Aliviameita, A., MAR, M. S., Yudianto, A., & Tarmono, T. (2018). Forensic Identification of Blood Types in Pear (Pyrus bretschneideri) Fruit Bitemark. *Folia Medica Indonesiana*, 269-273.

Alqadri, Rofinda, Z. D., & Susanti, R. (2016). Gambaran Golongan Sekretor dan Nonsekretor yang Diperiksa Melalui Saliva Mahasiswa Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. *Jurnal Kesehatan Andalas*.

Dussault, F., Roy, J., & Gagnon, J. (2022). *Physical stimulation of salivary glands increases glycoprotein-bound blood group antigen expression in secretors*. *Journal of Oral Biology*, 89(3), 102301. https://doi.org/10.1016/j.joralbio.2022.102301

Faruquea, M., Wanschers, M., Ligtenberg, A. J., M. L., & Bikker, F. J. (2022). A review on the role of salivary MUC5B in oral health . *Journal of Oral Bio sciences*, 392-399.

Henry, S. M. (2020). ABO blood group system and its relationship with secretor status: A review on genetic background and clinical relevance. *Immunohematology*, 36(1), 3–12.

Ihalin, R., Mähönen, S. M., & Tenovuo, J. (2021). Salivary defense factors in systemic and local conditions affecting oral health. *Archives of Oral Biology*, 133, 105306. https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2021.105306

Irawan, A., Fitranto, N., & Hasibuan, M. H. (2021). Aktifitas Fisik Pemain Futsal Universitas Negeri Jakarta Selama Masa Pandemi Covid 19. *Jurnal Ilmiah Sport Coaching and Education*.

Kaur, J., Jacobs, R., & Politis, C. (2018). Salivary biomarkers for oral cancer and pre-cancer screening: a review. *Clin Oral Investig*, 633-640.

Kersksick, C. M., Wilborn, C. D., & B.Kreider, R. (2018). ISSN exercise & sports nutrition review update: research & recommendations. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*.

Khoirunnisa, R., & Apriyani. (2024). Sosialisasi dan Pemeriksaan Golongan Darah Sistem ABO di Kelurahan Sukapura Bandung. *Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat* , 129-136.

Koda, Y., Soejima, M., & Kimura, H. (2023). Genetic and enzymatic basis of secretor status and its clinical implications. *Transfusion Medicine Reviews*, 37(1), 1–10. https://doi.org/10.1016/j.tmrv.2023.01.002

Kulkarni, D. G., & D., V. (2004). Non-Secretor Status; A Predisposing Factor Redisposing Factor. *Indian Journal Physiol Pharmacol*.

Kusuma, N. (2015). *Fisiologi dan Patologi Saliva*. Padang: Andalas University Press.

Ligtenberg, A. J., Erwin H. S. Liem, H. S., & Veerman, E. C. (2016). The Effect of Exercise on Salivary Viscosity. *Diagnostics*.

MacDonald, J., Groome, M. J., Mans, J., & Page, N. (2020). FUT2 Secretor Status Influences Susceptibility to VP4Strain-Specific Rotavirus Infections in South African Children. *Journal Pathogens*.

Maharani, E. A., & Noviar, G. (2018). *Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medik "Imunohematologi dan Bank Darah"*. PPSDM-BPPSDMK. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.

Metgud, R., Khajuria, N., Mamta, & Ramesh, G. (2016). Evaluation of the Secretor Status of ABO Blood Group Antigens in Saliva among Southern Rajasthan Population Using Absorption Inhibition Method. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*.

Nazara, Laurencia, & Lilinwandasari. (2019). Laju Aliran Saliva dan pH Saliva pada Pasien Gagal Ginjal Kronik yang Menjalani Hemodialisis di RSUP H. Adam Malik Medan. *https://repositori.usu.ac.id/handle/123456789/24220*.

Ntovas, P., Loumprinis, N., Maniatakos, P., & Margaritidi, L. (2022). The Effects of Physical Exercise on Saliva Composition: A Comprehensive Review. *Dentistry Journal*.

Purwani, H. (2016). Pengaruh Waktu Penyimpanan Spesimen Saliva Terhadap Titer Status Sekretor. *Politeknik Kesehatan Kemenkes Bandung*.

Putri, T. U., Noviar, G., Hayati, E., & Nurhayati, B. (2023). Pengaruh Waktu Pengambilan dan Lama Penyimpanan Saliva pada Suhu Refrigerator Terhadap Titer Status Sekretor. *Jurnal Kesehatan Siliwangi*, 199 - 205.

Qian, Y., Zhong, Y., & Pan, L. (2019). Salivary biomarkers in monitoring immune responses: Review and recent progress. *Diagnostics*, 9(3), 112.

Rachma, M. (2018). Gambaran Konsentrasi Protein Total Saliva pada Perokok E-Cigarette, Perokok Cigarette, dan Non Perokok dengan Teknik Bradford Assay. *Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta*.

Rai, P., Acharya, S., & Hallikeri, K. (2015). Assessment of ABO blood grouping and secretor status in the saliva of the patients with oral potentially malignant disorders. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology* .

Sawitri, H., & Maulina, N. (2021). Derajat pH Saliva Mahasiswa Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Malikussaleh yang Mengkonsumsi Kopi Tahun 2020. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Malikussaleh*, 84-94.

Tukuboya, V. T., Malonda, N. S., & Sanggelorang, Y. (2020). Gambaran Aktivitas Fisik pada Tenaga Pendidik dan Kependidikan Fakultas Kesehatan Masyarakat UNiversitas Sam Ratulangi Selama Masa Pandemi Covid-19. *Jurnal KESMAS* .

Turyandari, A. (2017). Indeks Masa Tubuh dan Status Hidrasi Anggota Club Futsal SMAN 1 Geger Madiun. *Skripsi thesis, Universitas Muhammadiyah Surakarta*.

Velani, P. R., Shah, P., & Lakade, L. (2018). Determination of ABO Blood Groups and Rh Typing from Dry Salivary Samples. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 100-104.

PERBANDINGAN HASIL PEMERIKSAAN *Mycobacterium tuberculosis* RESISTEN RIFAMPISINDENGAN MENGGUNAKAN METODE TES CEPAT MOLEKULER (TCM) DAN PCRSEQUENCING

Sulkifli[1]* · Indas Wari Rahman[1] · Ayusti Dirga[1]

[1]Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Teknologi Kesehatan, Universitas Megarezky, Sulawesi Selatan,Indonesia

e-Mail: sulkif0514@gmail.com
No Tlp WA : 082271160454

Abstract

Tuberculosis (TB) is a pulmonary disease caused by the bacterium Mycobacterium tuberculosis, which is transmitted through the air when an infected individual coughs, sneezes, or expectorates. The treatment of TB requires Anti-Tuberculosis Drugs (ATDs) such as Isoniazid, Rifampicin, Pyrazinamide, and Ethambutol. Non-adherence to a regular ATD regimen may lead to mutations in Mycobacterium tuberculosis, resulting in resistance to one or more ATDs—particularly rifampicin, which plays a crucial role due to its broad-spectrum bactericidal activity. This study aims to compare the detection results of rifampicin-resistant Mycobacterium tuberculosis* using the TCM method and PCR-Sequencing. A cross-sectional study design was used, involving 16 sputum samples. Based on the TCM method, all samples were detected as rifampicin-resistant, whereas the PCR-Sequencing method identified mutations in 5 samples, specifically C→G and C→T nucleotide substitutions. It can thus be concluded that the sensitivity of the TCM method was 100%, while the sensitivity of the PCR-Sequencing method was 31.25%.*

***Keywords** : Tuberculosis,* Resistance*, rpoB gene,* TCM*, PCR-Sequencing*

Abstrak

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit pada paru-paru yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang menyebar melalui udara ketika penderita TB batuk, bersin, atau membuang air liur. Pengobatan TB memerlukan Obat Anti Toberkulosis (OAT) seperti Isoniazid, Rifampisin, Piranizamid, dan ethambutol. Ketidakpatuhan pasien dalam meminum OAT secara teratur dapat memicu terjadinya mutasi pada bakteri *Mycobacterium tuberculosis*, sehingga menyebabkan resisten terhadap satu atau lebih OAT, terutama rifampisin yang sangat penting karena kemampuannya membunuh bakteri secara luas. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan hasil pemeriksaan *Mycobacterium tuberculosis* resisten rifampisin antara metode TCM dan PCR- Sekuensing. Penelitian ini menggunakan desain *Cross-sectional study* dengan menggunakan sampel sputum sebanyak 16. Berdasarkan hasil penelitian dengan menggunakan metode TCM terdapat semua sampel yang terdeteksi resistensi terhadap rifampisin, sedangkan pada metode PCR- Sekuensing terdapat 5 sampel yang termutasi pada sekuencing yaitu perubahan C→G dan C→T. Sehingga dapat disimpulkan bahwa nilai Sensitivitas hasil pemeriksaan pada metode TCM (100%) sedangkan pada metode PCR-Sekuensing (31,25%).

Kata Kunci : Tuberkulosis, Resisten, gen *rpoB*, TCM, PCR- Sekuensing.

PENDAHULUAN

Tuberkulosis (TB) merupakan suatu penyakit infeksi pada paru-paru yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Penyakit ini menyebar melalui udara ketika penderita TB batuk, bersin, atau meludah (Butar-butar & Sitepu, 2023). Berdasarkan data dari *World Health Organization* (WHO, 2024), pada tahun 2023, proposi tertinggi kasus tuberkulosis baru tercatat di kawasan Asia Tenggara WHO sebesar 45%, diikuti oleh wilayah Afrika dengan 24%, dan wilayah Pasifik Barat sebesar 17%. Delapan Negara yang memberikan kontribusi terbesar menyumbang dua pertiga dari seluruh kasus TB tersebut ada di Bangladesh, Tiongkok, Afrika Selatan, India, Indonesia, Nigeria, Pakistan, dan Filipina.

Menurut laporan TB Global 2023, diperkirakan ada 10,8 juta kasus TB di dunia, Indonesia menempati urutan kedua setelah India dalam jumlah kasus tuberkulosis, dengan estimasi sekitar 1.060.000 kasus dan angka kematian mencapai 134.000 per tahun. Angka tersebut menunjukkan peningkatan dibandingkan dengan tahun-tahun sebelumnya (Kemenkes RI, 2024). Hingga Mei 2024, tercatat 12.280 kasus TB ditemukan di Sulawesi Selatan, Pada tahun 2023 triwulan III, kasus penderita TB di Kota Makassar sebanyak 5.019 orang dengan jumlah penduduk 1.463.809 jiwa sehingga diperoleh tingkat prevalensi 0,34% per 100 kasus. Target prevalensi TB tahun 2023 adalah 0,2% dan realisasinya sampai triwulan III adalah 0,34% sehingga diperoleh capaian 75% (Dinkes Makassar, 2023). *World Health Organitation* (WHO) menetapkan Negara dengan beban tuberkulosis tinggi (*high burden countries*/HBC) berdasarkan tiga indikator utama, yaitu tuberkulosis, tuberkulosis/HIV, dan MDR-TB. Indonesia, bersama dengan 13 negara lainnya, termasuk dalam daftar HBC untuk ketiga indikator tersebut (Rismayanti dkk., 2023).

Tingginya kasus tuberkulosis (TB) di Indonesia sebagian besar disebabkan oleh durasi pengobatan yang panjang (6-8 bulan), yang sering kali membuat pasien menghentikan terapi lebih awal setelah merasa membaik. Padahal, pengobatan TB memerlukan kombinasi Obat Anti Tuberkulosis (OAT) seperti isoniazid, rifampisin, piranizamid, dan entambutol. Ketidakpatuhan pasien dalam minum

OAT secara teratur atau penggunaan yang tidak adekuat dapat memicu mutasi pada bakteri *Mycobacterium tuberculosis*, menghasilkan strain yang resisten terhadap satu atau lebih OAT(Afrianti dkk., 2023;Warjiman *et al*., 2022). Kondisi resisten ini, khususnya terhadap isoniazid dan rifampisin, dikenal sebagai Tuberkulosis Resisten Multi-Obat (MDR-TB), yang menjadi fokus utama karena kedua obat tersebut adalah komponen inti dalam pengobatan TB (Imam dkk., 2023; Sinuhaji dkk., 2021). Ketidakaturan dan ketidakpatuhan dalam minum obat, terutama rifampisin yang sangat penting karena kemampuannya membunuh bakteri secara luas, adalah faktor kunci penyebab munculnya MDR-TB (Rejito dkk., 2024).

Tingginya angka prevalensi TB di Indonesia menuntut adanya pengembangan teknologi diagnostik yang lebih akurat. Sebelumnya, identifikasi kasus TB dilakukan melalui pemeriksaan mikroskopis terhadap bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dalam sputum (dahak) pasien. Namun, metode ini memiliki sensitivitas yang rendah, tidak dapat mendeteksi resistensi terhadap obat, serta hasilnya bervariasi tergantung pada tingkat keterampilan petugas laboratorium (Rejito dkk., 2024).

Deteksi kuman TB dengan teknik PCR mempunyai sensitivitas yang amat tinggi. Deteksi *Mycobacterium tuberculosis* menggunakan teknik PCR mampu meningkatkan tingkat akurasi serta mempercepat waktu pemeriksaan (Tempoh dkk., 2022; Ramadhan dkk., 2017).

Seperti pada penelitian (Permatasari dkk., 2021), menunjukkan bahwa penggunaan metode diagnosis melalui GeneXpert memiliki tingkat kepekaan dan ketepatan yang sangat baik dalam mendeteksi TB serta lebih andal dibandingkan dengan pemeriksaan mikroskopis. Hasil validitas GeneXpert untuk mendiagnosis suspek TB paru dengan BTA negatif yaitu nilai sensitivitas 81,8%, spesifitas 96,5%, nilai prediksi positif 90%, nilai prediksi 93,3% dan akurasi 92,5%. Disimpulkan GeneXpert memeliki validitas yaitu sensitivitas, spesifisitas, nilai prediksi positif, nilai prediksi negatif dan akurasi yang tinggi sebagai alat diagnostik pada suspek TB paru BTA negatif.

Metode *polymerase chain reaction* (PCR) dan Tes cepat molekuler (TCM) merupakan metode molekuler yang banyak digunakan untuk mendeteksi keberadaan gen *rpoB* yang berperan dalam resistensi antibiotik, khususnya pada kasus tuberkulosis. Namun, PCR hanya mampu menunjukkan ada atau tidaknya gen target tanpa memberikan informasi detail mengenai jenis mutasi yang terjadi. Oleh karena itu, Sequencing dilakukan setelah PCR agar bisa melihat lebih jelas dan rinci mutasi yang mungkin terjadi pada gen *rpoB*.

Perbandingan hasil pemeriksaan Tes Cepat Molekuler (TCM) dengan hasil pemeriksaan *Polymerase chain reaction* (PCR) dalam deteksi tuberkulosis (TB) memberikan sejumlah manfaat penting dalam peningkatan diagnosis penyakit. TCM menawarkan kecepatan dan kemudahan dalam mendeteksi keberadaan *Mycobacterium tuberculosis*, termasuk resistensi terhadap rifampisin, dengan hasil yang dapat diperoleh dalam waktu singkat. Sementara itu, PCR memiliki sensitivitas dan spesifisitas tinggi, sehingga mampu mendeteksi jumlah bakteri yang sangat kecil sekaligus memberikan hasil yang lebih rinci terkait genom patogen. Dengan membandingkan kedua metode ini, peneliti dapat mengidentifikasi kelebihan dan keterbatasan masing-masing metode, serta memastikan akurasi dan efisiensinya dalam proses diagnosis.

Berdasarkan uraian di atas maka penelitian ini dilakukan untuk melihat perbandingan hasil pemeriksaan *Mycobacterium tuberculosis* Resisten Rifampisin dengan menggunakan metode Tes Cepat Molekuler (TCM) dan PCR – Sekuensing.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan pada pemeriksaan ini yaitu sampel sputum, Filter Tip (1000µl, 200µl, 20µl), Kit Ekstraksi (gSYNC™ DNA Extraction Kit), ethanol absolute, *Phospat Buffer Salin* (PBS), *enzim kappa DNA polymerase*, forward primer (5’ - GGGAGCGGATGACCACCCA - 3’), reverse primer (5’GCGGTACGGCGTTTCGATGAAC-3’(Muttaqin *et al*., 2023), *nuclease free water* (NFW), atau ddH_2O, *template DNA*, bubuk gek agarose, *Tris Barate EDTA* (TBE)

0,5%, *ethidium bromide* (GelRed), marker 100 bp DNA ladder, *ice pack gel*. Populasi pada penelitian ini yaitu penderita Tuberkulosis paru resisten rifampisin di BBKPM. Sampel pada penelitian ini mei menggunakan sampel spnggunakan sampel sputum.

Adapun tahapan penelitian ini diantaranya:

a. Penanganan sampel

Pengambilan sampel sputum dan pemeriksaan TCM dilakukan di Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat Makassar (BBKPM) sedangkan pemeriksaan metode PCR- Sekuensing dilakukan di Laboratorium *Hasanuddin University Medical Research Center* (HUM-RC). Pengambilan sampel sputum yang kemudian dimasukkan kedalam pot sampel steril dan dilakukan penanganan sampel yang dimulai dari pencatatan identitas pasien, pemberian kode dan di lanjutkan dengan proses dekontaminasi, setelah itu disimpan didalam *freezer* dengan suhu 4^{o}C.

b. Pemeriksaan metode Tes Cepat molekuler (TCM)

Beri label identitas pada catride. Identitas spesimen dapat ditempel atau ditulis pada bagian sisi *catride*. Jangan memberikan label pada bagian barkode. Bukalah penutup pot sputum, tambahkan sampel reagen yang sudah tersedia sebanyak 2 kali volume spesimen. Tutup kembali pot sputum, kemudian kocok dengan kuat sampai campuran sputum dan sample reagen menjadi homogen. Diamkan selama 10 menit pada suhu ruang. Kocok kembali campuran, lalu diamkan selama 5 menit. Bila masih ada gumpalan, kocok kembaliagar campuran sputum dan sampel reagen menjadi homogen sempurna dan biarkan selama 5 menit pada suhu ruang. Buka penutup catride , kemudian buka tempat penampung specimen. Gunakan pipet yang disediakan untuk memindahkan specimen sputum yang telah diolah sebanyak 2 ml (sampai garis batas pada pipet) ke dalam *catride* secara perlahan-lahan untuk mencegah terjadinya gelembung yang bisa menyebabkan error. Tutup *catride* secara perlahan dan masukkan *catride* ke dalam alat TCM.

c. Pemeriksaan metode Polymerase Chain Reaction (PCR)

1. Ekstraksi DNA dengan metode spin column

Sebanyak 200 ul sputum dimasukkan ke dalam *microtube*, ditambahkan Proteinase K sebanyak 20 ul, kemudian divortex selama 5 menit. Diinkubasi pada suhu 60^{o}C selama 5 menit, ditambahkan *GSB buffer* sebanyak 200 ul kemudian diinkubasi kembali dengan suhu 60^{o}C selama 5 menit. Setelah itu ditambahkan 200 ul etanol absolute (96%) kemudian di vortex selama 10 detik, dipindahkan semua campuran ke dalam *spin column*, selanjutnya disentrifuge selama 1 menit pada kecepatan 14.000-16.000 rpm. Dibuang *colletion tube* dan diganti *colletion tube* baru. Kemudian ditambahkan 400 ul wash buffer (W1) lalu disentrifuge selama 30 detik, 14.000-16.000 rpm lalu dibuang cairan yang ada pada *colletion tube*. Kemudian ditambahkan *Wash buffer* sebanyak 600 ul dan disentrifuge selama 30 detik 14.000-16.000 rpm, kemudian dibuang cairan pada *colletion tube* dan disentrifuge kering selama 3 menit dengan kecepatan 14.000-16.000 rpm dan diganti *colletion tube* dengan *microsentrifuge*. Kemudian ditambahkan elution buffer sebanyak 100 ul dan didiamkan selama 3 menit dan di *centrifuge* selama 30 detik, cairan yang mengandung DNA akan tertampung pada tabung DNA, kemudian DNA disimpan pada suhu -4^{o}c untuk digunakan sebagai template PCR.

2. Amplifikasi DNA dengan PCR

Disiapkan tabung ependorf untuk membuat Mix PCR, dipipet *Nuclease Free Water* (NFW) sebanyak 342 µl, kemudian ditambahkan *Enzim Taq* sebanyak 475 µl, kemudian tambahkan Primer *rpoB* (Primer *Forward* 5' - GGGAGCGGATGACCACCCA - 3') dan (Primer *Reverse* 5'-GCGGTACGGCGTTTCGATGAAC-3') masing-masing sebanyak 19 µl, setelah itu di tambahkan template DNA hasil PCR sebanyak 5µl ke dalam masingmasing tabung PCR. Pada tahap amplifikasi gen *rpoB* dalam penelitian ini dilakukan dengan metode *Polymerase chain reaction* (PCR) selama 35 siklus yang terdiri dari tahap denaturasi awal pada suhu 95^{o}C selama 15

menit, denaturasi pada suhu 95^{o}C selama 50 detik, Annealing pada suhu 68^{o}C selama 40 detik, ekstensi pada suhu 72^{o}C selama 7 menit (Muttaqin *et al*., 2023).

3. Elektroforesis

Hasil PCR kemudian dilanjutkan dengan elektroforesis. Dibuat agarose sebanyak 2 gram dan dilarutkan ke dalam *buffer tris borate* (TBE) sebanyak 100 ml kemudian dipanaskan dengan microwave selama 5 menit dengan suhu 100^{o}c setelah itu ditambahkan *Etidium Bromide* (EtBr) sebanyak 7 ul, lalu homogenkan, kemudian dituang kedalam cetakan gel dengan sisiran yang sudah dipasang pada cetakan. Ditunggu hingga gel mengeras. Setelah itu gel agarose yang telah mengeras dimasukkan kedalam chamber elektroforesis, kemudian dipipet marker/DNA ladder ke dalam well pertama sebanyak 10 ul, lalu pipet sampel hasil PCR ke dalam masing-masing sumur setelah itu chamber di tutup sesuai dengan kutub positif dan negatif dengan pengaturan listrik 100 volt selama 50 menit lalu di running. Setelah itu gel agarose diambil dan dimasukkan kedalam alat UV R*eader/Gel Documentation System* untuk memeriksa pola pita yang terbentuk dengan target band 348 bp.

4. Sequencing

Sebanyak 50 µl produk PCR yang telah terkonfirmasi keberadaan gen ropB dari masing-masing sampel kemudian dikirim untuk dilakukan sequencing di Lab 1STbase Malaysia dengan menggunakan primer forward sequencing searah. Hasil sequencing diperoleh dalam bentuk file sequens/urutan DNA berformat AB1.

5. Pembacaan Hasil Sequencing

Pada software bioedit dibuka file sequens DNA patokan dalam format fasta yang telah didownload dari *gen bank* NCBI (*National Center for Biotechnology Information*). Diimport 15 file hasil sequencing dalam format AB1 sehingga squens DNA dari 15 sampel ditampilkan tepat dibawah sequens DNA patokan. Dilakukan *running* program *ClustalW* pada menu *Accessory*

Aplication untuk menyelaraskan semua sequens hasil sequencing sampel dan sequens DNA patokan. Setelah diselaraskan, dicari perubahan/substitusi basa yang terjadi dengan menggunakan fitur *View conservation by plotting identities to a standart as a dot*. Fitur ini akan membuat sequens basa dari DNA patokan tetap ditampilkan keseluruhannya, sedangkan sequens basa dari ke-15 hasil sequencing ditampilkan sebagai beriikut; basa nukleotida yang tidak terjadi perubahan (berada pada keadaan standar) akan ditampilkan sebagai titik, untuk basa yang terdeteksi mengalami perubahan akan ditunjukan basa nukleotidanya sehingga dapat dibandingkan dengan basa nukleotida pada sequens DNA patokan dan diketahui perubahan basa yang terjadi.

HASIL

1. Hasil pemeriksaan menggunakan metode TCM dan PCR-Sequensing

Tabel. 1 Hasil pemeriksaan metode TCM dan PCR-Sequensing

No.	Kode sampel	TCM	PCR-*SEQUENCING*
1	S1	+	-
2	S2	+	-
3	S3	+	-
4	S4	+	-
5	S5	+	-
6	S6	+	-
7	S7	+	-
8	S8	+	-
9	S9	+	-
10	S10	+	-
11	S11	+	-
12	S12	+	+
13	S13	+	+
14	S14	+	+
15	S15	+	+
16	S16	+	+

Keterangan:

S1-S16 : Kode sampel

+ : Terdeteksi Resisten Rifampisin pada metode TCM dan adanya mutasi pada metode PCR-Sekuensing

- : Tidak terdetksi

Berdasarkan **tabel. 1** menunjukkan hasil penelitian dengan meggunakan metode TCM dengan jumlah 16 sampel didapatkan semua terdeteksi Resisten Rifampisin, sedangkan pada metode PCR- Sekuensing hanya 5 sampel yang terjadi mutasi pada kode sampel S12-S16. Metode PCR dari 16 sampel terdapat 15 sampel yang terdeteksi adanya gen rpoB sedangkan 1 yang tidak terdeteksi gen rpoB pada kode sampel S8

2. Hasil Pemeriksaan Metode Sequencing Tabel. 2

Hasil Pemeriksaan PCR dan Sekuensing

No.	Kode Sampel	PCR	Sekuensing	
			Mutasi	Posisi
1	S1	+	-	-
2	S2	+	-	-
3	S3	+	-	-
4	S4	+	-	-
5	S5	+	-	-
6	S6	+	-	-
7	S7	+	-	-
8	S8	-	-	-
9	S9	+	-	-
10	S10	+	-	-
11	S11	+	-	-
12	S12	+	1333	C→G
13	S13	+	1349	C→T
14	S14	+	1349	C→T
15	S15	+	1349	C→T
16	S16	+	1349	C→T

Keterangan :

S1 – S16 : Kode sampel

+ : Terdeteksi adanya mutasi rifampisin

- : Tidak terdeteksi mutasi rifampisin

Posisi Mutasi : 1333 dan 1349

Nukleotida : C = Sitosin, T = Timin, G = Guanin

Berdasaerkan tabel. 2 menunjukkan hasil pada metode PCR dari 16 sampel terdapat 15 sampel yang terdeteksi adanya gen rpoB sedangkan 1 yang tidak terdeteksi gen rpoB pada kode sampel S8. Hasil yang terlihat setelah analisis menggunakan *software bioedit* menunjukkan pada kode sampel S12 adanya substitusi/perubahan struktur basa nukleotida pada sequens DNA gen *rpoB*, dimana *Citocin* (C) tersubstitusi menjadi *Guanin* (G). Sedangkan pada kode sampel S13, S14, S15, dan S16 adanya perubahan struktur basa nukleotida pada sequens DNA gen rpoB, dimana *Citocin* (C) tersubstitusi menjadi *Timin* (T).

DISKUSI

Pada penelitian ini menggunakan sampel sputum MDR-TB yang didapatkan di Balai Besar Paru Kesehatan Masyarakat Makassar yang merupakan tempat dilakukannya pemeriksaan dengan menggunakan metode TCM. Setelah dilakukan pengambilan sampel sputum sampel di simpan didalam *freezer*, Setelah itu setiap seminggu sekali dilakukan dekontaminasi pada sampel sputum yang terkumpul dan dibawa ke HUM-RC untuk di simpan di *freezer* suhu -20^{o}C. Adapun tujuan dilakukannya dekontaminasi pada sampel sputum adalah untuk mengurangi atau menghilangkan mikroorganisme (bakteri, jamur, virus) yang tidak diinginkan dan kontaminan lain, sehingga mempermudah identifikasi dan isolasi mikroorganisme yang menjadi target pemeriksaan, seperti *Mycobacterium tuberculosis* pada metode PCR.

Pada **tabel 1.** menunjukkan hasil penelitian dengan menggunakan metode TCM dengan jumlah 16 sampel didapatkan semua terdeteksi Resisten Rifampisin. Hal ini disebabkan oleh mutasi genetik pada gen rpoB, yang mengkode subunit beta RNA polymerase. Mutasi ini dapat menyebabkan perubahan pada target obat rifampisin, sehingga obat tidak dapat mengikat dan menghambat aktivitas bakteri. Adpaun faktor-faktor antara lain penggunaan obat yang tidak tepat, pengobatan yang tidak lengkap, dan kontak dengan pasien TB resisten.

Pada **tabel 1**. Memperlihatkan dari hasil pemeriksaan TCM dan PCR terdapat 1 (satu) hasil yang berbeda, terdapat pada sampel dengan kode S8 dengan metode PCR tidak munculnya pita DNA target 348 bp. Dapat dilihat pada lampiran 9 bahwa sampel sputum dengan kode S8 hasil pemeriksaan TCM menunjukkan MTB *Detected Very Low Rif Resistance Detected* sedangkan pada hasil pemeriksaan PCR Konvesional menunjukkan tidak adanya terbentuk pita DNA pada hasil pembacaan *GelDoc*. Tidak terbentuknya pita DNA pada metode PCR disebabkan karena jumlah bakteri yang ada di dalam sampel mungkin sedikit yang ditandai pada hasil pemeriksaan metode TCM menunjukkan *Very Low Rif Resitance Detected*. Pada nilai *Ct Very low* menunjukkan dengan angka >28 hal ini menunjukkan semakin tinggi nilai ct yang didapatkan maka semakin rendah jumlah bakteri yang terdapat dalam sampel.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh (Sofiana dkk., 2022) menyatakan bahwa terdapat beberapa faktor yang dapat menyebabkan terjadinya positif palsu atau negatif palsu pada pemeriksaan PCR, kesesuaian hasil ini bisa dipengaruhi oleh banyak faktor seperti pengambilan spesimen, penanganan dan pengiriman sampel sampai ke laboratorium yang tidak tepat, serta adanya kontaminasi sampel, sumber spesimen, waktu pengambilan sampel dan kualitas test kit. Sedangkan pada metode TCM memerlukan waktu pengerjaan yang lebih cepat dan memiliki sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan metode PCR. Seperti pada penelitian (Halwatiah & Silviani, 2024) yang mengatakan pemeriksaan TCM lebih praktis yang dimana memberikan hasil dalam waktu kurang lebih 2 jam, memliki sensitivitas yang tinggi, memiliki resiko kesalahan yang rendah dan dapat digunakan untuk menentukan resistensi terhadap rifampisin. Seperti pada penelitian yang dilakukan oleh Atasya (2021) yang menyatakan bahwa terjadi mutasi pada gen rpoB bagian di dalam *Rifampicin Resistance Determining Region* (RRDR) maupun non-RRDR. Daerah yang paling sering mengalami mutasi dan menyebabkan resistensi terhadap rifampisin disebut sebagai RRDR.

Dari amplifikasi DNA yang ditemukan, maka 15 sampel tersebut di kirim ke *First Base Malaysia* untuk disekuensing. Selanjutnya di analisis menggunakan

program Bioedit versi 7.2, dengan hasil analisis menunjukkan perubahan nukleutida sehingga menyebabkan terjadinya perubahan asam amino pada region gen *rpoB*.

Berdasarkan hasil sequencing pada **Tabel. 4** terdapat 5 sampel yang menunjukkan adanya mutasi pada susunan asam nukleotid. Hal ini menunjukkan bahwa terjadinya mutasi pada gen *rpoB* berhubungan dengan resistensi terhadap antibiotik rifampisin karena gen *rpoB* merupakan gen target dari antibiotik tersebut.

Rifampisin bersifat bakterisid luas terhadap fase pertumbuhan dari *Mycobacterium tuberculosis* baik yang terdapat didalam sel maupun diluar yang dapat menghambat sintesis protein bakteri pada proses transkripsi. Dari hasil pemeriksaan sequencing yang telah dianalisis, dapat dikategorikan bahwa mutasi yang terjadi pada sampel TB merupakan mutasi titik karena mutasi yang terjadi pada gen rpoB adalah perubahan kimiawi yang terjadi pada beberapa susunan basa nitrogen pada DNA *Mycobacterium tuberculosis*.

Mutasi titik yang terjadi pada sampel TB resisten termasuk jenis mutasi *missense* atau mutasi salah arti. Mutasi ini merupakan perubahan suatu kode genetik pada posisi satu atau dua kodon yang dapat menyebabkan asam amino yang terikat pada rantai polipeptida berubah. Proses transisi dan transversi yang menyebabkan terjadinya mutasi ini. Pada sampel dengan perubahan basa nukleotida C→T disebabkan oleh peristiwa transisi, sedangkan pada sampel dengan perubahan basa nukleotida C→G disebabkan oleh peristiwa transversi. Mutasi gen berdasarkan penyebabnya terabagi menjadi dua bagian yaitu penggantian basa nukleotida dan pergeseran kerangka nukleotida. Berdasarkan penggantian basa nukleotida, terbagi atas dua yaitu transisi dan tranversi. Peristiwa transisi adalah peristiwa penggantian purin→purin atau primidin→primidin (C→T atau A→G), sedangkan peristiwa transversi adalah peristiwa penggantian purin→primidin atau primidin→purin (A→C,A→T/G→C,G→T atau C→A, C→G/T→A,T→G) (Warmadewi, 2017).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Rahman dkk., (2022). mengenai mutasi gen rpoB pada TB-RO menunjukkan hasil bahwa terjadi mutasi yaitu mutasi missense dan terjadi perubahan pada nukleotida (C→T) yang disebabkan oleh peristiwa transisi dan perubahan nukelotida A→T, C→A, C→G dan T→G disebabkan oleh peristiwa transversi.

Adapun faktor tidak termutasinya gen *rpoB* pada metode sequencing yaitu hal ini bisa disebabkan oleh ketidakakuratan hasil TCM, yang mungkin mengindikasikan resisten tanpa adanya mutasi *rpoB* yang sebenarnya, atau adanya mutasi pada wilayah genetik lain selain *rpoB* yang tidak terdeteksi oleh metode sequencing standar untuk resisten rifampisin. Metode sequencing standar untuk resistensi rifampisin sering kali berfokus pada gen *rpoB*. Jika mutasi penyebab resisten rifampisin terjadi diluar wilayah gen ini, maka sequencing tidak akan mendeteksinya, meskipun TCM menunjukkan hasil positif. Perbedaan antara TCM dan Sequencing mengindikasikan kemungkinan adanya deteksi mutasi non-fungsional atau adanya mutasi di luar daerah RRDR yangtidakdianalisi.

KESIMPULAN

Adapun kesimpulan pada penelitian ini yaitu terdapat perbedaan hasil pemeriksaan pada metode TCM dan PCR. Pada metode TCM menunjukkan hasil 16 sampel terdeteksi gen *rpoB* sebagai penanda resistensi rifampisin (100%) sedangkan pada metode PCR menunjukkan hasil hanya 15 sampel yang muncul pita DNA target 348 bp sebagai penanda adanya gen *rpoB*. Pada hasil sekuensing terdapat 5 sampel yang termutasi (31,25%).

UCAPAN TERIMAKASIH

Melalui kesempatan ini, peneliti mengucapkan rasa hormat serta terima kasih yang setinggi-tingginya terkhusus kepada kedua orang tua peneliti yang tak hentinya memberikan do'a, semangat, dan dukungan kepada peneliti baik dari segi moril maupun materil.

1. Zainul Muttaqin, selaku Pembimbing penelitian di HUM-RC.

2. Kepada dosen pembimbing yang telah memberikan dukungan saat penelitian.
3. Pihak-pihak yang telah banyak membantu yang tidak bisa peneliti sebutkan satu per satu.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan baik dalam proses penelitian maupun penyusunan naskah ini. Penelitian ini belum pernah dipublikasikan di media manapun.

REFRENSI

Affiyanti, W., Fauziah, P. N., Latifah, I., Aditia, E., & Masdianto. (2023). *Sensitivitas dan Spesifisitas GeneXpert Pada Suspek Tuberkulosis*. *9*(1), 88–95.

Butar-butar, M, L., & Sitepu, S, A. (2023). Pengaruh Inhalasi Sederhana Dengan Menggunakan Aromaterapi Daun Mint (Mentha Piperta) Terhadap Penurunan Sesak Napas Pada Pasien Tubercolosis Paru Di Puskesmas Desa

Pon Kecematan Sei Bamnam Tahun 2019. *Kesehatan Deli Sumatera*, *1(1)*(1), 1–7. https://jurnal.stikespamenang.ac.id/index.php/jap/article/download/135/60/701*Cell Line*. *Indonesian Journal of Biotechnology*, *23*(2), 61-67.

Dinkes Makassar. (2023). Laporan Kinerja Interim Triwulan II Tahun 2023. In *Dinkes Makassar*.

Muttaqin, Z., Massi, M. N., Sjahril, R., Halik, H., Junaedi, M. A., Rifqiani, N., Safitri, N. I., Pratika, M., Islam, I. C., Hamid, F., Natzir, R., & Ahmad, A. (2023). Detection of rpoB gene mutations in clinical isolates of Rifampicin-resistant Mycobacterium tuberculosis in Makassar City, South Sulawesi, Indonesia. *Malaysian Journal of Microbiology*, *19*(4), 380–384. https://doi.org/10.21161/mjm.220133

Permatasari, S., Vrenika, V., Felicia, F., Malasinta, M., Eriani, R., Saraswati, N. P., & Irayanti, M. (2021). Validitas Metode Real Time PCR GeneXpert pada Suspek TB Paru BTA Negatif di RSUD Dr. Doris Sylvanus. *Jurnal Surya Medika*, *7*(1), 88–93. https://doi.org/10.33084/jsm.v7i1.2037

Rahman, I. W., Arfani, N., Faisal, M. W., Kesrianti, A. M., RN, R. N. F., & Rantisari, A. M. D. (2022). Analisis Mutasi Gen rpoB sebagai Penanda Resistensi Rifampisin pada Penderita Tuberkulosis Paru di BBKPM

Makassar. *Jurnal Ilmiah Universitas Muhammadiyah Buton E-ISSN:*, *8*(2), 465–475. https://doi.org/https://doi.org/10.35326/pencerah.v8i2.1836

Rejito, A., Bintari, N. W. D., & Idayani, S. (2024). Hasil Pemeriksaan Tes Cepat Molekuler (Genexpert) Pasien Suspek Tuberkulosis Paru Di Rsud Kabupaten Buleleng. *Jurnal Riset Kesehatan Nasional*, *8*(2), 149–154. https://doi.org/https://doi.org/10.37294

Rismayanti;, Nyomba2;, M. A., Ansariadi3;, A., & Devana, A. T. (2023). Analisis Determinan Tuberculosis di Kota Makassar. *Journal of Multidiciplinary Applied Natural Science*, *6*(2), 290–295.

Sofiana, P., Wijayanti, C. D. W., Wijaya, H., & Sundari, T. (2022). Kesesuaian Hasil Swab Menggunakan Alat Tcm (Tes Cepat Molekuler) Dengan Rt-Pcr Sebagai Gold Standard Diagnostik Pemeriksaan Laboratorium Covid-19. *Jurnal SainHealth*, *6*(1), 17–21. https://doi.org/10.51804/jsh.v6i1.1728.17-21

Warjiman, W., Berniati, B., & Er Unja, E. (2022). Hubungan Dukungan Keluarga Terhadap Kepatuhan Minum Obat Pasien Tuberkulosis Paru Di

Puskesmas Sungai Bilu. *Jurnal Keperawatan Suaka Insan (Jksi)*, *7*(2), 163– 168. https://doi.org/10.51143/jksi.v7i2.366

Warmadewi. (2017). *Buku Ajar Mutasi Genetik*.

WHO. (2024b). *Tuberkulosis*. https://www.who.int/newsroom/factsheets/detail/tuberculosis

ANALISIS KORELASI KADAR ASAM URAT DENGAN *RHEUMATOID FACTOR* DAN *C-REACTIVE PROTEIN* KUALITATIF SEBAGAI BIOMARKER INFLAMASI PADA PASIEN HIPERURISEMIA

Firdayanti[1]* · Susanti[1] · Muhammad Azdar Setiawan[2] · Ani Umar[1] · Heni Umar[3]

[1]Program studi D3 Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Bina Husada Kendari, Sulawesi Tenggara, Indonesia.
[2]Program studi D3 Farmasi, Politeknik Bina Husada Kendari, Sulawesi Tenggara, Indonesia.
[3]RSUD Bahteramas, Provinsi Sulawesi Tenggara.

e-Mail : firdayanti1488@gmail.com
No Tlp WA : 085241533218

Abstract

Hyperuricemia is not only associated with metabolic disorders but also plays a role in triggering inflammatory responses that may increase the risk of arthritis and other systemic diseases. This study aims to analyze the correlation between serum uric acid levels and inflammatory biomarkers, namely Rheumatoid Factor (RF) and qualitative C-Reactive Protein (CRP), in patients with hyperuricemia. This analytical observational study used a cross-sectional approach involving 83 hyperuricemic patients at Bahteramas General Hospital and the Hematology Laboratory of Politeknik Bina Husada Kendari. Examinations included serum uric acid levels, RF, and qualitative CRP. Data were analyzed using the Spearman's rho correlation test. The results showed that most respondents were male (51.8%) with a mean age of 51.77 ± 14.18 years and a mean uric acid level of 8.16 ± 1.47 mg/dL. RF reactivity was found in 62.7% of subjects, while CRP positivity was observed in 51.8%. There was a significant positive correlation between uric acid levels and RF (r = 0.306; p = 0.005) as well as between uric acid and CRP (r = 0.399; p = 0.000). Elevated uric acid levels are significantly associated with increased inflammatory biomarkers (RF and CRP), suggesting that uric acid may serve as an early indicator of inflammatory activity in hyperuricemic patients.

***Keywords**: Uric Acid, Rheumatoid Factor, C-Reactive Protein, Inflammation, Hyperuricemia*

Abstrak

Hiperurisemia tidak hanya berkaitan dengan gangguan metabolik, tetapi juga berpotensi memicu respon inflamasi yang dapat meningkatkan risiko artritis dan penyakit sistemik lainnya. Penelitian ini bertujuan menilai hubungan antara kadar asam urat dengan *Rheumatoid Factor* (RF) dan *C-Reactive Protein* (CRP) kualitatif sebagai biomarker inflamasi pada pasien hiperurisemia. Penelitian analitik observasional dengan pendekatan *cross-sectional* dilakukan pada 83 pasien hiperurisemia di RSUD Bahteramas dan Laboratorium Hematologi Politeknik Bina Husada Kendari. Pemeriksaan meliputi kadar asam urat serum, RF, dan CRP kualitatif. Analisis korelasi menggunakan uji Spearman's rho. Hasil penelitian menunjukkan sebagian besar responden berjenis kelamin laki-laki (51,8%) dengan rerata usia 51,77 ± 14,18 tahun dan kadar asam urat 8,16 ± 1,47 mg/dL. Sebanyak 62,7% menunjukkan hasil RF reaktif dan 51,8% memiliki CRP positif. Terdapat korelasi positif yang signifikan antara kadar asam urat dengan RF (r = 0,306; p = 0,005) serta dengan CRP kualitatif (r = 0,399; p = 0,000). Peningkatan kadar asam urat berhubungan dengan peningkatan biomarker inflamasi RF dan CRP, sehingga dapat berperan sebagai indikator awal aktivitas inflamasi pada pasien hiperurisemia.

Kata kunci: Asam Urat, *Rheumatoid Factor, C-Reactive Protein*, Inflamasi, Hiperurisemia

PENDAHULUAN

Hiperurisemia merupakan sindrom metabolik yang umum terjadi, ketika terdapat kelebihan asam urat dalam darah (Kimura et al., 2021; L. Li et al., 2020). Hiperurisemia dapat disebabkan oleh peningkatan produksi atau penurunan ekskresi asam urat pada ginjal dan/atau saluran usus, dan menjadi perhatian dalam kesehatan masyarakat akibat perubahan pola makan, meningkatnya kasus obesitas, dan tingginya prevalensi penyakit metabolik (L. Li et al., 2020; Stiburkova & Ichida, 2025). Selain kaitannya dengan penyakit gout, penelitian terbaru mengindikasikan bahwa asam urat juga berperan lebih luas sebagai mediator dalam proses inflamasi sistemik serta sebagai faktor risiko penyakit metabolik (Kimura et al., 2021). Tinjauan mutakhir menguraikan berbagai mekanisme molekuler di mana peningkatan kadar asam urat serum dapat memicu stres oksidatif, mengaktifkan jalur-jalur inflamasi, dan menyebabkan disfungsi endotel (Fiori et al., 2024). Proses-proses ini kemudian mengaitkan hiperurisemia dengan perkembangan penyakit kardiovaskular, resistensi insulin, serta gangguan fungsi ginjal (J. Li et al., 2025; L. Li et al., 2019).

Keberadaan asam urat yang tinggi dapat menstimulasi aktivasi sel imun seperti makrofag dan neutrofil, serta memicu pelepasan sitokin proinflamasi yang berkontribusi terhadap proses inflamasi sistemik (Kawamoto et al., 2013). Hal ini menjadikan asam urat relevan untuk dikaji bersama biomarker inflamasi klasik seperti *C-reactive protein* (CRP) dan *Rheumatoid Factor* (RF), yang sering digunakan untuk menilai aktivitas inflamasi pada berbagai kondisi patologis (Jeena et al., 2022). Secara biologis, C-*reactive protein* (CRP) berfungsi sebagai penanda inflamasi akut yang disintesis oleh hati sebagai respons terhadap sitokin proinflamasi (Baier et al., 2024). Sejumlah penelitian observasional maupun eksperimental telah menunjukkan adanya hubungan positif antara kadar asam urat serum dan CRP, termasuk bentuk sensitifnya (*high-sensitivity* CRP atau hs-CRP) (Jeena et al., 2022; Kawamoto et al., 2013; Song et al., 2024). Selain itu,

terdapat bukti bahwa CRP mampu berinteraksi langsung dengan kristal monosodium urat (MSU) dan berperan dalam aktivasi sistem komplemen pada gout (Du et al., 2024; Jeena et al., 2022). Temuan-temuan ini memperkuat hipotesis bahwa hubungan antara asam urat dan inflamasi tidak semata bersifat epidemiologis, tetapi juga mencerminkan adanya interaksi molekuler yang mendasari proses inflamasi tersebut (Baier et al., 2024; Du et al., 2024).

Rheumatoid factor (RF) merupakan autoantibodi yang secara luas digunakan sebagai penanda imunologis pada rheumatoid arthritis (RA) dan sering dikaitkan dengan aktivitas penyakit autoimun (Umukundwa et al., 2024). Walaupun secara klasik RF dianggap sebagai indikator autoimunitas spesifik, sejumlah penelitian terkini menekankan pentingnya mengkaji keterkaitan antara RF dan profil metabolik, termasuk kadar asam urat serta biomarker inflamasi lainnya (Wang et al., 2022). Hal ini relevan mengingat adanya tumpang tindih antara inflamasi metabolik dan proses autoimun, yang berpotensi memengaruhi diagnosis, prognosis, serta strategi penatalaksanaan klinis (Baier et al., 2024). Beberapa studi klinis juga mengevaluasi titer RF sebagai penanda risiko aktivitas penyakit, namun bukti empiris yang menghubungkan RF dengan kadar asam urat pada pasien hiperurisemia masih terbatas dan memerlukan penelitian lebih lanjut (Umukundwa et al., 2024). Selain itu, hiperurisemia dan keberadaan RF positif, yang dapat muncul tidak hanya pada RA tetapi juga pada berbagai kondisi lain maupun individu sehat, memiliki implikasi penting terhadap kesehatan, termasuk kemungkinan hubungannya dengan penyakit kardiovaskular dan peningkatan risiko metabolik ((Umukundwa et al., 2024; Wang et al., 2022).

Sejumlah studi epidemiologis dan kohort terbaru menunjukkan bahwa kombinasi antara kadar asam urat yang tinggi dan peningkatan CRP berhubungan dengan risiko lebih besar terhadap kejadian kardiovaskular dan mortalitas dibandingkan peningkatan salah satu penanda saja (Jeena et al., 2022; J. Li et al., 2025). Temuan tersebut menegaskan pentingnya evaluasi simultan antara biomarker inflamasi dan kadar asam urat dalam mengidentifikasi pasien hiperurisemia yang berisiko tinggi mengalami komplikasi sistemik (Fiori et al., 2024; Jeena et al., 2022). Meskipun demikian, sebagian besar penelitian yang

ada masih menggunakan pengukuran CRP kuantitatif (hs-CRP) dan berfokus pada luaran kardiometabolik, sementara kajian yang secara sistematis meneliti hubungan antara kadar asam urat, Rheumatoid Factor (RF), dan CRP kualitatif sebagai panel biomarker inflamasi pada pasien hiperurisemia dalam praktik klinis sehari-hari masih sangat terbatas (Alkhudir et al., 2023; N. Li et al., 2024).

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan studi analitik observasional dengan desain potong lintang (*cross-sectional*) yang bertujuan untuk menganalisis hubungan antara kadar asam urat dengan *Rheumatoid Factor* (RF) dan *C-Reactive Protein* (CRP) kualitatif pada pasien hiperurisemia. Desain ini dipilih untuk menilai hubungan antarvariabel pada satu waktu pengukuran tanpa intervensi terhadap subjek.

Penelitian dilakukan di RSUD Bahteramas Provinsi Sulawesi Tenggara dan Laboratorium Kimia Klinik dan Imunoserologi Politeknik Bina Husada Kendari pada Agustus–Oktober 2025, dengan persetujuan etik dari Komite Etik Penelitian RSUD Bahteramas (No. 71/KEP/RSUD/VIII/2025).

Populasi penelitian mencakup pasien yang menjalani pemeriksaan kadar asam urat, sedangkan sampel berjumlah 83 orang yang memenuhi kriteria inklusi: usia ≥18 tahun, kadar asam urat >7 mg/dL (laki-laki) atau >6 mg/dL (perempuan), dan bersedia menjadi responden. Kriteria eksklusi meliputi riwayat penyakit autoimun selain RA, penggunaan obat antiinflamasi atau imunosupresif dua minggu terakhir, serta data laboratorium tidak lengkap. Pemilihan sampel dilakukan secara purposive sampling.

Sampel darah vena sebanyak 3 mL dikumpulkan secara aseptik di RSUD Bahteramas untuk pemeriksaan laboratorium. Analisis sampel dilakukan di Laboratorium Kimia Klinik dan Imunoserologi Politeknik Bina Husada Kendari. Pemeriksaan kadar asam urat dilakukan menggunakan Reagen Uric Acid Glory Diagnostics (Kemenkes RI: AKL20101221384) dengan metode enzimatik kolorimetri menggunakan alat spektrofotometer, sedangkan pemeriksaan *Rheumatoid Factor* (RF) dan C-Reactive Protein (CRP) kualitatif dilakukan dengan metode aglutinasi lateks menggunakan Reagen RF Latex Kit 100 Test Glory Diagnostics (Kemenkes

RI: AKL20305320939) dan Reagen CRP Latex Kit 100 Test Glory Diagnostics (Kemenkes RI: AKL20305710497). Seluruh prosedur pemeriksaan mengikuti Standar Operasional Prosedur (SOP) laboratorium serta dilengkapi dengan pengendalian mutu internal (*internal quality control*) untuk memastikan keandalan hasil analisis.

Data dianalisis menggunakan SPSS versi 26.0. Analisis deskriptif digunakan untuk menggambarkan karakteristik responden, sedangkan uji normalitas Shapiro-Wilk menentukan distribusi data. Karena kadar asam urat tidak berdistribusi normal dan RF serta CRP bersifat kategorik, hubungan antarvariabel diuji menggunakan korelasi *Spearman's rho*, dengan tingkat signifikansi $p < 0,05$.

HASIL

1. Karakteristik Subjek Penelitian

Penelitian ini melibatkan 83 pasien hiperurisemia yang memenuhi kriteria inklusi. Pemeriksaan laboratorium meliputi kadar asam urat serum (mg/dL), *Rheumatoid Factor* (RF), dan *C-Reactive Protein* (CRP) kualitatif. Distribusi karakteristik responden ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Demografis dan Hasil Pemeriksaan Responden (n = 83)

Karakteristik	n (%)	Rerata ± SD
Jenis kelamin		
- Laki-laki	43 (51,8%)	
- Perempuan	40 (48,2%)	
Usia (tahun)		51,77 ± 14,18
Kadar Asam Urat (mg/dL)		8,16 ± 1,47
Hasil Rheumatoid Factor		
- Reaktif	52 (62,7%)	
- Tidak reaktif	31 (37,3%)	
Hasil CRP Kualitatif		
- Positif	43 (51,8%)	
- Negatif	40 (48,2%)	

Berdasarkan tabel 1, mayoritas responden berjenis kelamin laki-laki (51,8%), dengan rerata usia 51,77 ± 14,18 tahun. Nilai rerata kadar asam urat adalah 8,16 ± 1,47 mg/dL, menunjukkan bahwa seluruh subjek

tergolong mengalami hiperurisemia. Sebagian besar responden menunjukkan hasil *Rheumatoid Factor* reaktif (62,7%) dan CRP kualitatif positif (51,8%), yang mengindikasikan adanya respon inflamasi.

Hubungan antara kadar asam urat dengan biomarker inflamasi (RF dan CRP) diuji menggunakan uji korelasi Spearman's rho, sebagaimana disajikan pada Tabel 2.

2. Analisis Korelasi

Uji Spearman's rho digunakan untuk menilai hubungan antara kadar asam urat dengan RF dan CRP kualitatif.

Tabel 2. Korelasi Kadar Asam Urat dengan Biomarker Inflamasi (Spearman's rho Test)

Variabel	Koefisien Korelasi (r)	p-value	Keterangan Hubungan
Asam urat ↔ RF	0,306	0,005	Korelasi positif lemah, signifikan
Asam urat ↔ CRP kualitatif	0,399	0,000	Korelasi positif lemah, signifikan

Hasil analisis menunjukkan bahwa kadar asam urat memiliki hubungan positif yang lemah tetapi signifikan dengan *Rheumatoid Factor* (r = 0,306; p = 0,005) dan CRP kualitatif (r = 0,399; p = 0,000). Artinya, semakin tinggi kadar asam urat, maka cenderung diikuti oleh peningkatan respon inflamasi yang ditandai dengan hasil RF reaktif dan CRP positif.

DISKUSI

Penelitian ini menunjukkan adanya korelasi positif yang signifikan antara kadar asam urat dengan dua biomarker inflamasi, yaitu Rheumatoid Factor (RF) dan C-Reactive Protein (CRP). Temuan ini memperkuat bukti bahwa hiperurisemia tidak hanya berkaitan dengan gangguan metabolik, tetapi juga berperan dalam memicu respons inflamasi sistemik.

Rerata kadar asam urat yang tinggi (8,16 ± 1,47 mg/dL) pada seluruh responden menandakan bahwa populasi penelitian ini berada dalam kondisi hiperurisemia. Secara fisiologis, kadar asam urat yang berlebihan dapat menyebabkan deposisi kristal monosodium urat (MSU) di jaringan, terutama di

sendi dan ginjal (Du et al., 2024; Zhu et al., 2025). Kristal ini kemudian memicu aktivasi makrofag dan NLRP3 inflammasome, yang menginduksi pelepasan sitokin proinflamasi seperti interleukin-1ß (IL-1ß), IL-6, dan TNF-α, berkontribusi terhadap kerusakan sendi melalui proses proinflamasi (Galozzi et al., 2021; Kimura et al., 2021).

Proses inflamasi tersebut menyebabkan peningkatan kadar CRP, karena CRP disintesis oleh hati sebagai respons terhadap peningkatan IL-6 selama peradangan (Stanimirovic et al., 2022). Hal ini menjelaskan hasil korelasi positif dan signifikan antara asam urat dan CRP ($r = 0,399$; $p = 0,000$). Temuan ini sejalan dengan penelitian yang melaporkan bahwa peningkatan kadar asam urat berkaitan erat dengan marker inflamasi sistemik, bahkan pada individu tanpa manifestasi klinis artritis gout (Fiori et al., 2024; Jeena et al., 2022).

Sementara itu, korelasi antara asam urat dan Rheumatoid Factor ($r = 0,306$; $p = 0,005$) menunjukkan bahwa kadar asam urat yang tinggi dapat berperan dalam aktivasi autoimun melalui stimulasi sel B dan produksi autoantibodi seperti RF. Walaupun kekuatan korelasinya lemah, hubungan ini menunjukkan bahwa hiperurisemia kronis dapat menjadi faktor predisposisi inflamasi autoimun. Hasil ini sejalan dengan studi yang menemukan hubungan serupa antara hiperurisemia dengan peningkatan RF dengan risiko artritis reumatoid (Alkhudir et al., 2023; Umukundwa et al., 2024; Zhao et al., 2025) .

Distribusi jenis kelamin menunjukkan bahwa laki-laki sedikit lebih banyak mengalami hiperurisemia (51,8%) dibanding perempuan (48,2%). Hal ini konsisten dengan literatur yang menyebutkan bahwa laki-laki cenderung memiliki kadar asam urat lebih tinggi karena perbedaan hormonal; hormon estrogen pada perempuan berperan meningkatkan ekskresi asam urat melalui ginjal. Namun, setelah menopause, kadar asam urat pada perempuan cenderung meningkat dan mendekati laki-laki (Fu et al., 2024; Halperin Kuhns & Woodward, 2020; Wu et al., 2025).

Secara umum, temuan ini mendukung hipotesis bahwa hiperurisemia dapat memicu dan memperkuat proses inflamasi, yang tercermin dari peningkatan biomarker inflamasi seperti CRP dan RF. Korelasi yang signifikan meskipun lemah

menunjukkan bahwa faktor lain seperti status metabolik, diet, usia, dan kondisi komorbid juga berkontribusi terhadap aktivitas inflamasi (L. Li et al., 2020; Stiburkova & Ichida, 2025).

Dengan demikian, pemeriksaan kadar asam urat bersama RF dan CRP dapat menjadi pendekatan awal yang bermanfaat untuk mendeteksi risiko inflamasi atau artritis pada pasien hiperurisemia, terutama pada populasi usia menengah ke atas. Pemantauan rutin biomarker ini juga dapat membantu dalam pencegahan progresi penyakit inflamasi kronik yang berkaitan dengan kadar asam urat tinggi.

KESIMPULAN

Terdapat korelasi positif yang signifikan antara kadar asam urat dengan Rheumatoid Factor ($r = 0,306$; $p = 0,005$) dan C-Reactive Protein kualitatif ($r = 0,399$; $p = 0,000$) pada pasien hiperurisemia. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan kadar asam urat berhubungan dengan aktivitas inflamasi, sehingga asam urat dapat berperan sebagai biomarker pendukung untuk deteksi dini proses inflamasi pada kondisi hiperurisemia.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Kementerian Pendidikan Tinggi, Sains, dan Teknologi Republik Indonesia melalui Direktorat Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat yang telah memberikan dukungan pendanaan melalui Program Penelitian Fundamental Reguler Tahun 2025. Ucapan terima kasih juga ditujukan kepada RSUD Bahteramas Provinsi Sulawesi Tenggara serta Laboratorium Hematologi Politeknik Bina Husada Kendari atas izin, fasilitas, dan kolaborasi yang baik selama pelaksanaan penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan tidak terdapat konflik kepentingan dalam penelitian, penulisan, maupun publikasi artikel ini. Seluruh proses penelitian dan pelaporan hasil dilakukan secara independen dan objektif, tanpa adanya pengaruh dari pihak mana pun.

REFRENSI

Alkhudir, D., Al-Herz, A., Saleh, K., Alawadhi, A., Al-Kandari, W., Hasan, E., Mokaddem, K., Ghanem, A., Bartella, Y. A., Hussain, M., Alhadhood, N., Ali, Y., Nahar, E., Alenizi, A., Aldei, A., Abutiban, F., Hayat, S., Behbehani, H., Baron, F., … Alsaber, A. (2023). Is Serum Uric Acid Level Associated with Disease Activity in Rheumatoid Arthritis Patients. *Open Access Rheumatology: Research and Reviews*, *15*(November), 223–230. https://doi.org/10.2147/OARRR.S418814

Baier, E., Kluge, I. A., Hakroush, S., Korsten, P., & Tampe, B. (2024). Serum Uric Acid Associates with Systemic Complement C3 Activation in Severe ANCA-Associated Renal Vasculitides. *International Journal of Molecular Sciences*, *25*(2). https://doi.org/10.3390/ijms25020713

Du, L., Zong, Y., Li, H., Wang, Q., Xie, L., Yang, B., Pang, Y., Zhang, C., Zhong, Z., & Gao, J. (2024). Hyperuricemia and its related diseases: mechanisms and advances in therapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, *9*(1), 212. https://doi.org/10.1038/s41392-024-01916-y

Fiori, E., De Fazio, L., Pidone, C., Perone, F., Tocci, G., Battistoni, A., Barbato, E., Volpe, M., & Gallo, G. (2024). Asymptomatic hyperuricemia: to treat or not a threat? A clinical and evidence-based approach to the management of hyperuricemia in the context of cardiovascular diseases. *Journal of Hypertension*, *42*(10), 1665–1680. https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000003807

Fu, K., Cheng, C., Su, C., Teng, J., Qiao, L., Xiao, J., Ji, X., Lu, H., & Chen, W. (2024). Gender differences in the relationship between serum uric acid and the long-term prognosis in heart failure: a nationwide study. *Cardiovascular Diabetology*, *23*(1), 1–13. https://doi.org/10.1186/s12933-024-02214-1

Galozzi, P., Bindoli, S., Luisetto, R., Sfriso, P., Ramonda, R., Scanu, A., & Oliviero, F. (2021). Regulation of crystal induced inflammation: current understandings and clinical implications. *Expert Review of Clinical Immunology*, *17*(7), 773–787. https://doi.org/10.1080/1744666X.2021.1937129

Halperin Kuhns, V. L., & Woodward, O. M. (2020). Sex differences in urate handling. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(12), 1–20. https://doi.org/10.3390/ijms21124269

Jeena, J., Manhas, S., Prasad, R., Prasad, S., & Gupta, R. (2022). Direct Relationship Between Uric Acid and C-Reactive Protein and Its Implication in the Chronic Kidney Disease. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, *37*(3), 365–369. https://doi.org/10.1007/s12291-020-00942-1

Kawamoto, R., Tabara, Y., Kohara, K., Miki, T., Kusunoki, T., Takayama, S., Abe,

M., Katoh, T., & Ohtsuka, N. (2013). Usefulness of combining serum uric acid and high-sensitivity C-reactive protein for risk stratification of patients with metabolic syndrome in community-dwelling women. *Endocrine*, *44*(1), 132–139. https://doi.org/10.1007/s12020-013-9912-3

Kimura, Y., Tsukui, D., & Kono, H. (2021). Uric acid in inflammation and the pathogenesis of atherosclerosis. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(22). https://doi.org/10.3390/ijms222212394

Li, J., Li, Y., Zhang, S., & Shi, H. (2025). A Mendelian randomization study of serum uric acid in metabolic and cardiovascular risk in East Asian populations. *Medicine (United States)*, *104*(36), e44135. https://doi.org/10.1097/MD.0000000000044135

Li, L., Song, Q., & Yang, X. (2019). Lack of Associations between Elevated Serum Uric Acid and Components of Metabolic Syndrome Such as Hypertension, Dyslipidemia, and T2DM in Overweight and Obese Chinese Adults. *Journal of Diabetes Research*, *2019*. https://doi.org/10.1155/2019/3175418

Li, L., Zhang, Y., & Zeng, C. (2020). Update on the epidemiology, genetics, and therapeutic options of hyperuricemia. *American Journal of Translational Research*, *12*(7), 3167–3181.

Li, N., Wu, S., Shu, R., Song, H., Wang, J., Chen, S., Yang, W., Wang, G., Yang, J., Yang, X., Tse, G., Zhang, N., Cui, L., & Liu, T. (2024). The combination of high uric acid and high C-reactive protein increased the risk of cardiovascular disease: A 15-year prospective cohort study. *Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases : NMCD*, *34*(6), 1508–1517. https://doi.org/10.1016/j.numecd.2024.01.027

Song, Y., Cai, W., Jiang, L., Xu, J., Yao, Y., Xu, N., Wang, X., Liu, Z., Zhang, Z., Zhang, Y., Guo, X., Wang, Z., Feng, Y., Wang, Q., Li, J., Zhao, X., Chen, J., Gao, R., Song, L., … Yuan, J. (2024). Effect of high sensitivity C-reactive protein on uric acid-related cardiometabolic risk in patients with coronary artery disease—a large multicenter prospective study. *Scientific Reports*, *14*(1), 1–11. https://doi.org/10.1038/s41598-024-75508-9

Stanimirovic, J., Radovanovic, J., Banjac, K., Obradovic, M., Essack, M., Zafirovic, S., Gluvic, Z., Gojobori, T., & Isenovic, E. R. (2022). Role of C-Reactive Protein in Diabetic Inflammation. *Mediators of Inflammation*, *2022*. https://doi.org/10.1155/2022/3706508

Stiburkova, B., & Ichida, K. (2025). Genetic background of selected hyperuricemia causing gout with pediatric onset. *Joint Bone Spine*, *92*(4), 105884. https://doi.org/10.1016/j.jbspin.2025.105884

Umukundwa, R., Akimana, E., Nsanzimana, V., Mapira, H. T., & Musarurwa, C. (2024). Prevalence of Hyperuricemia and Rheumatoid Factor Positivity Among Patients Aged 35 and Above in Huye District, Southern Province of Rwanda. *Open Access Rheumatology: Research and Reviews*, *16*(November), 147–156.

https://doi.org/10.2147/OARRR.S495467

Wang, Z., Wang, W., Xiang, T., Gong, B., & Xie, J. (2022). Serum Uric Acid as a Diagnostic Biomarker for Rheumatoid Arthritis–Associated Interstitial Lung Disease. *Inflammation*, *45*(4), 1800–1814. https://doi.org/10.1007/s10753-022-01661-w

Wu, X., Li, J., Xu, Z., & Feng, Y. (2025). Gender differences in the prognostic impact of uric acid in patients with heart failure and preserved ejection fraction. *BMC Cardiovascular Disorders*, *25*(1). https://doi.org/10.1186/s12872-025-04481-6

Zhao, C., Xiao, Q., Huang, W., Chen, Y., & Yang, X. (2025). Association between rheumatoid arthritis and hyperuricemia among adults: a cross-sectional study based on NHANES data. *Clinical Rheumatology*, *44*(4), 1759–1767. https://doi.org/10.1007/s10067-025-07386-z

Zhu, G., Luo, Y., Su, N., Zheng, X., Mei, Z., Ye, Q., Peng, J., An, P., Song, Y., Luo, W., Li, H., Wang, G., & Zhang, H. (2025). Urine Metabolomics of Gout Reveals the Dynamic Reprogramming and Non-Invasive Biomarkers of Disease Progression. *Metabolites*, *15*(9), 1–17. https://doi.org/10.3390/metabo15090580

HUBUNGAN PENGETAHUAN DAN TINDAKAN PENCEGAHAN INFEKSI DENGUE DENGAN *OVITRAP INDEKS* (OI) DI KELURAHAN KADIPIRO, KOTA SURAKARTA

Aling Sesilian Salsa Arnanda Putri[1] · Tri Mulyowati[1]* · Rinda Binugraheni[1]

[1] **Program Studi D4 Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehtan, Universitas Setia Budi Surakarta, Jawa Tengah, Indonesia**

e-Mail: trimulyowati@setiabudi.ac.id

Abstract

Dengue infection is one of the endemic diseases transmitted by Aedes aegypti and Aedes albopictus mosquitoes. Prevention of dengue infection can be achieved by increasing public knowledge and implementing effective preventive measures, as well as monitoring vector density through the Ovitrap Index (OI). This study aimed to determine the relationship between knowledge and preventive actions of dengue infection with the Ovitrap Index (OI) in Kadipiro Sub-district, Surakarta City. This research employed a descriptive analytic method with a cross-sectional approach. A total of 100 households in RW 12, Kadipiro Sub-district, were selected using simple random sampling. Data were collected through questionnaires and mosquito egg observations in ovitraps over a one-week period. Data were analyzed using the chisquare test. The results showed that the Ovitrap Index (OI) was 7.7% (low category). The majority of respondents had good knowledge (69%) and adequate preventive actions (82%). The chi-square test revealed a significant relationship between knowledge and the Ovitrap Index (p = 0.000), as well as between preventive actions and the Ovitrap Index (p = 0.000). The conclusion of this study is that community knowledge and preventive actions against dengue infection are significantly associated with the Ovitrap Index (OI).

***Keywords** : knowledge, preventive actions, Ovitrap Index, Aedes aegypti.*

Abstrak

Infeksi dengue merupakan salah satu penyakit endemis yang ditularkan oleh nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus*. Pencegahan infeksi dengue dapat dilakukan melalui peningkatan pengetahuan masyarakat dan penerapan tindakan pencegahan yang efektif, serta pemantauan vektor melalui *Ovitrap Indeks* (OI). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan antara pengetahuan dan tindakan pencegahan infeksi dengue dengan *Ovitrap Indeks* (OI) di Kelurahan Kadipiro, Kota Surakarta. Penelitian ini menggunakan metode deskriptif analitik dengan pendekatan cross sectional. Sampel sebanyak 100 rumah di RW 12 Kelurahan Kadipiro dipilih secara *simple random sampling*. Data dikumpulkan melalui kuesioner dan pengamatan telur nyamuk pada *ovitrap* selama satu minggu. Data dianalisis menggunakan uji *chi-square*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai *Ovitrap Indeks* (OI) sebesar 7,7% (kategori rendah). Mayoritas responden memiliki pengetahuan baik (69%) dan tindakan pencegahan cukup (82%). Hasil uji *chi-square* menunjukkan terdapat hubungan signifikan antara pengetahuan dengan *Ovitrap Indeks* (p=0,000) serta tindakan pencegahan dengan *Ovitrap Indeks* (p=0,000). Kesimpulan dari penelitian ini adalah bahwa pengetahuan dan tindakan pencegahan infeksi dengue masyarakat memiliki hubungan dengan *Ovitrap Indeks* (OI).

Kata kunci : pengetahuan, tindakan pencegahan, *Ovitrap Indeks, Aedes aegypti.*

PENDAHULUAN

Infeksi dengue adalah penyakit yang disebabkan virus *dengue* melalui gigitan nyamuk betina *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus*. Virus *dengue* tergolong *Arthropod-Borne Virus* karena ditularkan melalui vektor (WHO, 2024b). Infeksi dengue sendiri dapat menyebabkan Demam Dengue (*dengue fever*), Demam Berdarah Dengue (DBD), dan *Dengue Shock Syndrom* (DSS) (Nugraheni *et al.*, 2023).

World Health Organization (WHO) mencatat kasus dengue global mencapai lebih dari 7,6 juta dengan angka kematian lebih dari 3.000 kasus (WHO, 2024a). Kasus DBD di Indonesia pertaama kali ditemukan di Kota Surabaya tahun 1968 dengan jumlah penderita sebanyak 58 orang dan 24 orang diantaranya meninggal dunia (41,3%) yang kemudian menyebar ke seluruh wilayah di Indonesia dan tahun 1988 jumlah penderita mencapai 13,45 per 100.000 penduduk (Sinta, 2018).

Kasus DBD di Indonesia pada tahun 2023 tercatat 114.720 kasus dengan 894 kematian (Kementrian Kesehatan RI, 2023). Kota Surakarta merupakan salah satu daerah endemis Demam Berdarah Dengue di provinsi Jawa Tengah dengan 99 kasus dan 4 kasus kematian pada tahun 2023. Kecamatan Banjarsari merupakan salah satu Kecamatan di Kota Surakarta yang masih banyak terdapat kasus DBD terutama di wiilayah kerja Puskesmas Gambirsari sebanyak 11 kasus pada tahun 2023 (Dinas Kesehatan Kota Surakarta, 2023).

Berdasarkan data Puskesmas Gambirsari tahun 2023, 6 kasus DBD berasal dari Kelurahan Kadipiro. Meskipun angka bebas jentik (ABJ) di Kadipiro tinggi (95,9%), kasus DBD tetap terjadi. Hal ini menunjukkan adanya kesenjangan antara hasil surveilans entomologi dengan kasus lapangan sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai faktor pengetahuan dan tindakan pencegahan masyarakat yang mungkin berhubungan dengan masih ditemukannya vektor dengue.

Pengetahuan masyarakat dan tindakan pencegahan merupakan faktor penting dalam menekan populasi vektor utama penularan virus dengue yaitu nyamuk *Aedes aegypti* (Dharmasuari & Sudarmaja, 2019). Pengetahuan

masyarakat mengenai penyebab infeksi dengue dan Pemberantasan Sarang Nyamuk (PSN) merupakan aspek penting dalam upaya pencegahan infeksi dengue (Susilowati & Cahyati, 2021). Salah satu metode pemantauan vektor adalah penggunaan *Ovitrap Indeks* (OI), yaitu perangkap telur nyamuk yang digunakan untuk menilai kepadatan populasi *Aedes aegypti*. Kelebihan penggunaan *ovitrap* yaitu data yang dihasilkan lebih valid, ekonomis, dan sensitif jika dibandingkan dengan survei manual seperti observasi langsung dengan melihat keberdaan larva (Tomia, 2020).

Mengacu pada latar belakang di atas, peneliti mengajukan rumusan penelitian yaitu apakah terdapat hubungan antara pengetahuan dan tindakan pencegahan infeksi dengue dengan *Ovitrap Indeks* (OI) di Kelurahan Kadipiro, Kota Surakarta. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya hubungan pengetahuan dan tindakan pencegahan infeksi dengue dengan *Ovitrap Indeks* (OI) di Kelurahan Kadipiro, Kota Surakarta.

BAHAN DAN METODE

Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah deskriptif analitik dengan pendekatan *cross sectional*. Lokasi penelitian di RW 12 (RT 01, RT 02, RT 03, RT 04) Kelurahan Kadipiro, Kota Surakarta pada bulan Maret–April 2025. Sampel penelitian adalah 100 rumah yang dipilih dengan *simple random sampling*.

Perangkap *ovitrap* yang digunakan diletakkan di dalam rumah responden selama satu minggu sebanyak 3 buah dalam setiap rumah. Identifikasi jenis telur nyamuk dilakukan di Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta. Data Ovitrap Indeks dihitung berdasarkan jumlah perangkap positif telur dibandingkan dengan jumlah perangkap yang dipasang.

Variabel yang digunakan pada penelitian ini yaitu variabel terikat dan variabel bebas. Variabel terikat yang digunakan pada penelitian ini adalah *Ovitrap Indeks* (OI). Variabel bebas pada penelitian ini adalah Pengetahuan dan Tindakan Pencegahan Infeksi Dengue. Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini embar kuesioner, gelas plastik, plastik hitam, solatip, label, *objek glass*, *deck glass*, mikroskop, formalin, dan entelan.

Prosedur Penelitian

1. Perizinan penelitian

   Surat permohonan izin dari Dekan Fakultas ditujukan ke Litbangkes dan Dinas Kesehatan Kota Surakarta. Surat izin dari Dinas Kesehatan Kota Surakarta diajukan ke UPT Puskesmas Gambirsari.

2. Kuesioner

   Peneliti membuat kuesioner dan diisi oleh responden.

3. Perangkap *ovitrap*

   Gelas plastik dibungkus pada bagian luar menggunakan plastik hitam dan kertas saring ditempelkann pada dinding bagian dalam gelas. Perangkap *ovitrap* diletakkan di dalam rumah responden di tempat yang gelap sebanyak 3 buah selama 1 minggu.

4. Menghitung Tingkat *Ovitrap Indeks* (OI)

   Perangkap *ovitrap* setelah 1 minggu diambil dari rumah responden dan diamati perangkap *ovitrap* yang positif terdapat telur nyamuk *Aedes aegypti* secara mikroskopis kemudian dihitung dan dibandingkan dengan skala *Ovitrap Indeks* (OI).

5. Pembuatan preparat telur nyamuk

   Sampel telur nyamuk diambil dari perangkap *ovitrap* dan dimasukkan ke dalam formalin 1 menit. Sampel telur nyamuk diletakkan di atas *objek glass*, diberi entelan dan ditutup *deck glass*. Preparat diperiksa di bawah mikroskop.

Teknik Pengumpulan Data

Data dikumpulkan dengan mengisi lembar kuesioner yang disediakan kepada respoden dan perangkap *ovitrap* yang diletakan 1 minggu di rumah respoden untuk dihitung nilai *Ovitrap Indeks*.

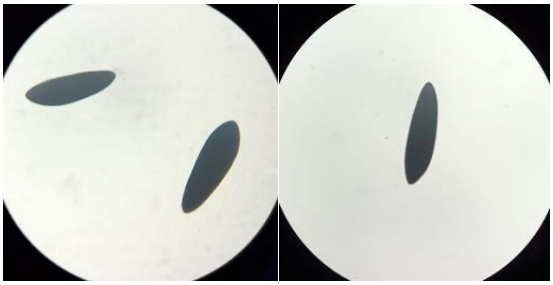
Teknik Analisis Data

Data dianalisis menggunakan SPSS yang meliputi 2 macam analisis data, yaitu :

1. Analisis *Univariate* mendeskripsikan variabel bebas dan terikat.
2. Analisis *Bivariate* menggunakan uji *chi-square* untuk mengetahui ada tidaknya hubungan pengetahuan dan tindakan pencegahan infeksi dengue dengan *Ovitrap Indeks*

HASIL

1. Telur Nyamuk



Gambar 1. Mikroskopis telur nyamuk *Aedes aegypti*

Morfologi telur nyamuk berwarna hitam pekat, berbentuk oval memanjang menyerupai torpedo, berukuran sekitar 0,8 mm dan permukaan telur tampak memiliki struktur anyaman halus.

2. Karakteristik Responden
   a. Usia

Tabel 1. Distribusi Frekuensi Karakteristik Berdasarkan Usia

Usia	Frekuensi (n)	Persentase (%)
< 20 tahun	1	1,0
> 60 tahun	14	14,0
20-35 tahun	26	26,0
36-45 tahun	20	20,0
46-60 tahun	39	39,0
Total	100	100,0

(Sumber : Data Primer, 2025)

Berdasarkan **Tabel 1.** didapatkan mayoritas responden berusia 46-60 tahun sebanyak 39 responden (39%), 20 - 35 tahun sebanyak 26 responden (26%), 36 - 45 tahun sebanyak 20 responden (20%), > 60 tahun sebanyak 14 responden (14%), dan paling sedikit usia < 20 tahun 1 responden (1%).

b. Jenis Kelamin

Tabel 2. Distribusi Frekuensi Karakteristik Berdasarkan Jenis Kelamin

Jenis Kelamin	Frekuensi (n)	Persentase (%)
Laki - laki	11	11,0
Perempuan	89	89,0
Total	100	100,0

(Sumber : Data Primer, 2025)

Berdasarkan **Tabel 2.** didapatkan mayoritas responden jenis kelamin perempuan 89 responden (89%) dan laki-laki 11 responden (11%)

c. Pendidikan

Tabel 3. Distribusi Frekuensi Karakteristik Berdasarkan Pendidikan

Pendidikan	Frekuensi (n)	Persentase (%)
Tidak Sekolah	2	2,0
SD	15	15,0
SMP	21	21,0
SMA	52	52,0
Perguruan Tinggi	10	10,0
Total	100	100,0

(Sumber : Data Primer, 2025)

Berdasarkan **Tabel 3.** didapatkan mayoritas responden pendidikan SMA 52 responden (52%), SMP 21 responden (21%), SD 15 responden (15%), Perguruan Tinggi 10 responden (10%), dan paling sedikit tidak sekolah 2 responden (2%).

3. Deskripsi Analisis *Univariat*

a. Ovitrap Indeks

Tabel 4. Data Hasil *Ovitrap Indeks* di Kelurahan Kadipiro, Kota Surakarta

Wilayah	Ovitrap Positif	Indeks Ovitrap (%)
RT 1	7	2,7
RT 2	3	1
RT 3	4	1,3
RT 4	9	3
Total	23	7,7

(Sumber : Data Primer, 2025)

$$OI = \frac{\text{Jumlah ovitrap yang terdapat telur}}{\text{Jumlah ovitrap yang terpasang}} X\ 100\ \%$$

$$OI = \frac{23}{300} X\ 100\ \%$$

$$OI = 7{,}7\ \%$$

Total keseluruhan ovitrap yang positif sebanyak 23 ovitrap dari 300 ovitrap yang dipasang, dengan nilai indeks ovitrap 7,7% yang menunjukkan termasuk kategori level yang rendah (5% ≤ OI < 20%) berdasarkan skala FEHD (*Food and Enviromental Hygiene Department)*.

b. Pengetahuan

Tabel 5. Distribusi Frekuensi Pengetahuan Infeksi Dengue di Kelurahan Kadipiro, Kota Surakarta

Pengetahuan	Frekuensi (n)	Persentase (%)
Baik	69	69,0
Cukup	27	27,0
Kurang	4	4,0
Total	100	100,0

(Sumber : Data Primer, 2025)

Berdasarkan **Tabel 5.** didapatkan responden dengan pengetahuan baik 69 orang (69%), berpengetahuan cukup 27 orang (27%), dan pengetahuan kurang 4 orang (4%).

c. Tindakan Pencegahan

Tabel 6. Distribusi Frekuensi Tindakan Pencegahan di Kelurahan Kadipiro, Kota Surakarta

Tindakan	Frekuensi (n)	Persentase (%)
Baik	5	5,0
Cukup	82	82,0
Kurang	13	13,0
Total	100	100,0

(Sumber : Data Primer, 2025)

Berdasarkan **Tabel 6.** didapatkan responden melakukan tindakan pencegahan dengan baik 5 orang (5%), tindakan pencegahan cukup 82 orang (82%) dan tindakaan pencegahan kurang sebanyak 11 orang (11%).

4. Deskripsi Analisis *Bivariat*

Analisis *bivariat* yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan menggunakan uji *chi-square* dimana hasil uji digambarkan pada tabel sebagai berikut :

Tabel 7. Tabel Uji *Chi-square* Hubungan Pengetahuan dengan *Ovitrap Indeks* (OI)

Pengetahuan	Ovitrap					Total	*p value*
	Negatif		Positif				
			1				
Kurang	3	3,8%	0	1	0	4	.000
Cukup	13	16,5%	12	2	0	27	
Baik	63	79,7%	6	0	0	69	
Total	79	100%	18	3	0	100	

(Sumber : Data Primer, 2025) Keterangan :

Negatif : tidak ditemukan telur nyamuk pada 3 perangkap *ovitrap*
Positif 1 : terdapat telur nyamuk pada 1 perangkap *ovitrap*
Positif 2 : terdapat telur nyamuk pada 2 perangkap *ovitrap*
Positif 3 : terdapat telur nyamuk pada 3 perangkap *ovitrap*

Berdasarkan **Tabel 7.** pengetahuan dengan kategori kurang tidak ditemukan telur nyamuk pada 3 rumah responden (3,8%) dari 4 rumah responden, kategori cukup tidak ditemukan telur nyamuk pada 13 rumah responden (16,5%) dari 27 rumah responden, dan kategori baik tidak ditemukan telur nyamuk sebanyak 63 rumah responden (79,7%) dari 69 rumah responden. Hasil uji statistik dengan menggunakan analisis *chi square* dengan besar tingkat kemaknaan 95% (α = 0,05), diperoleh *p value* = 0,000 yang berarti nilai *p value* < 0,05 yang artinya Ha diterima. Hasil tersebut dapat diinterpretasikan bahwa terdapat hubungan antara pengetahuan dengan *Ovitrap Indeks* (OI) di Kelurahan Kadipiro, Kota Surakarta.

Tabel 2. Tabel Uji *Chi-square* Hubungan Tindakan Pencegahan dengan *Ovitrap Indeks* (OI)

Tindakan Pencegahan	Ovitrap					Total	*p value*
	Negatif		Positif				
			1				
Kurang	4	5,1%	7	2	0	13	.000
Cukup	71	89,,8%	10	1	0	82	
Baik	4	5,1%	1	0	0	5	
Total	79	100%	18	3	0	100	

(Sumber : Data Primer, 2025) Keterangan :

Negatif	: tidak ditemukan telur nyamuk pada 3 perangkap *ovitrap*
Positif 1	: terdapat telur nyamuk pada 1 perangkap *ovitrap*
Positif 2	: terdapat telur nyamuk pada 2 perangkap *ovitrap*
Positif 3	: terdapat telur nyamuk pada 3 perangkap *ovitrap*

Berdasarkan **Tabel 8** tindakan pencegahan dengan kategori kurang tidak ditemukan telur nyamuk pada 4 rumah responden (5,1%) dari 13 rumah responden, kategori cukup tidak ditemukan telur nyamuk pada 71 rumah responden (89,8%) dari 82 rumah responden, dan kategori baik tidak ditemukan telur nyamuk pada 4 rumah responden (5,1%) dari 5 rumah responden. Hasil uji statistik dengan menggunakan analisis *chi square* dengan besar tingkat kemaknaan 95% (α = 0,05), diperoleh *p value* = 0,000 yang berarti nilai *p value* < 0,05 yang artinya Ha diterima. Hasil tersebut dapat diinterpretasikan bahwa terdapat hubungan antara tindakan penceghan dengan *Ovitrap Indeks* (OI) di Kelurahan Kadipiro, Kota Surakarta.

DISKUSI

Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopis terhadap telur nyamuk dari *ovitrap* pada penelitian ini menunjukkan ciri morfologi yang sesuai dengan telur *Aedes aegypti*. Morfologi telur nyamuk ini berwarna hitam pekat, berbentuk oval memanjang menyerupai torpedo, berukuran sekitar 0,8 mm dan permukaan telur tampak memiliki struktur anyaman halus yang sesuai pada penelitian Soraya *et al*. (2023). Telur nyamuk ini biasanya diletakkan satu persatu menempel pada dinding wadah air, tidak berkelompok.

Berdasarkan hasil penelitian di RW 12 Kelurahan Kadipiro, Kota Surakarta menunjukkan nilai *Ovitrap Indeks* sebesar 7,7% yang masih dalam kategori rendah menurut standar *Food and Environmental Hygiene Department* (FEHD). *Ovitrap Indeks* (OI) merupakan indikator penting dalam survei entomologi karena menggambaarkan perbandingan antara jumlah ovitrap yang positif terdapat telur nyamuk dengan jumlah ovitrap yang dipasang. Hasil ini sejalan dengan penelitian Susanto *et al*. (2022) yang menunjukkan bahwa nilai *Ovitrap Indeks* (OI) dapat ditekan hingga di bawah 10% melalui edukasi

masyarakat dan penggunaan ovitrap secara mandiri. Penelitian tersebut juga menekankan pentingnya pemberdayaan masyarakat dalam pengendalian vektor dengan metode sederhana namun efektif. Penelitian lain oleh Hidayati *et al*. (2018) di Kota Sukabumi menunjukkan nilai OI yang jauh lebih tinggi, yaitu 60% (di dalam rumah) dan 37% (di luar rumah), yang dikaitkan dengan kondisi lingkungan yang tidak bersih dan ventilasi rumah yang buruk, yang menyebabkan tingginya tempat perindukan nyamuk.

Nilai *Ovitrap Indeks* (OI) yang rendah pada penelitian ini dapat diartikan sebagai keberhasilan program pengendalian vektor melalui penerapan PSN 3M Plus. Nilai *Ovitrap Indeks* (OI) yang rendah bukan berarti risiko infeksi dengue telah hilang sepenuhnya karena populasi nyamuk sangat bergantung pada kondisi lingkungan dan perilaku masyarakat yang dapat berubah sewaktuwaktu. Nilai *Ovitrap Indeks* (OI) yang berada dalam kategori aman tetap diperlukan pemantauan secara rutin serta edukasi berkelanjutan kepada masyarakat agar angka tersebut tidak meningkat dan potensi KLB (Kejadian Luar Biasa) dapat dicegah sedini mungkin.

Hasil penelitian juga memperlihatkan bahwa mayoritas responden memiliki pengetahuan baik (69%), namun masih ditemukan beberapa *ovitrap* positif meskipun nilai OI rendah. Uji *Chi-square* menghasilkan p-*value* = 0,000 yang berarti terdapat hubungan signifikan antara pengetahuan masyarakat mengenai infeksi dengue dengan nilai *Ovitrap Indeks* (OI) di Kelurahan Kadipiro. Pengetahuan yang baik mengenai pencegahan dengue, seperti pentingnya menjaga kebersihan lingkungan, menguras dan menutup tempat penampungan air dapat mendorong perilaku pencegahan yang lebih efektif. Masyarakat yang memiliki pengetahuan baik cenderung lebih aktif dalam melakukan tindakan pencegahan dan pengendalian, sehingga berdampak pada rendahnya nilai *Ovitrap Indeks* (OI) di lingkungan mereka (Yunus *et al*., 2021).

Pengetahuan yang kurang dapat menurunkan kesadaran dan partisipasi masyarakat dalam kegiatan pengendalian vektor, sehingga berpotensi meningkatkan nilai *Ovitrap Indeks* (OI) dan risiko penularan dengue. Penelitian ini sejalan dengan yang dilakukan oleh Yunus (2021) yang menunjukkan bahwa

peningkatan pengetahuan masyarakat berbanding lurus dengan peningkatan perilaku pencegahan dengue dan penurunan densitas vektor. Masyarakat bisa saja memahami cara mencegah DBD (seperti PSN 3M Plus), tetapi jika penerapan tidak konsisten atau hanya dilakukan saat ada kegiatan PJB/jumantik, maka nyamuk tetap dapat berkembang biak.

Hasil penelitian menunjukkan mayoritas responden memiliki tindakan pencegahan yang cukup (82%), tetapi masih ditemukan perangkap *ovitrap* positif di beberapa rumah dengan nilai *ovitrap indeks* yang rendah yaitu 7,7%. Uji *Chi-square* diperoleh *p value* = 0,0000 yang berarti nilai *p value* < 0,05 yang artinya Ha diterima yang menunjukkan adanya hubungan antara tindakan pencegahan infeksi dengue dengan nilai *Ovitrap Indeks* (OI) di Kelurahan Kadipiro, Kota Surakarta.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian dari Yunus & Rosanty (2016) yang menyatakan adanya hubungan tindakan keluarga tentang DCB (*Drain, Close, and Bury*) dan keberadaan telur nyamuk *Aedes sp* pada ovitrap. Hasil penelitian ini juga sejalan dengan hasil penelitian dari Khairinisa (2025) menyatakan bahwa tindakan preventif masyarakat memiliki korelasi dengan turunnya angka *ovitrap indeks*.

Tindakan pencegahan yang baik dapat tercermin dari nilai *Ovitrap Indeks*. Kegiatan tersebut meliputi PSN 3M Plus (menguras, menutup, mendaur ulang), penggunaan kelambu atau lotion anti-nyamuk, serta menjaga kebersihan lingkungan secara rutin. Masyarakat yang aktif melakukan tindakan tersebut terbukti mampu menekan populasi nyamuk vektor dengue. Faktor lain yang mempengaruhi masih ditemukannya *ovitrap* positif yaitu faktor lingkungan, kepadatan penduduk, dan konsistensi tindakan pencegahan vektor. Hasil ini memperkuat pentingnya pemberdayaan masyarakat dalam program pengendalian dengue berbasis lingkungan. Pendampingan dan pemantauan berkala juga diperlukan agar tindakan pencegahan dapat berjalan konsisten dan efektif.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan mengenai hubungan pengetahuan dan tindakan pencegahan infeksi dengue dengan *Ovitrap Indeks*

(OI) di Kelurahan Kadipiro, Kota Surakarta maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Terdapat hubungan antara pengetahuan tentang infeksi dengue dengan *ovitrap indeks* (OI) di Kelurahan Kadipiro, Kota Surakarta.
2. Terdapat hubungan antara tindakan pencegahan infeksi dengue dengan *ovitrap indeks* (OI) di Kelurahan Kadipiro, Kota Surakarta.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucakan terimakasih kepada semua pihak terkait yang telah membantu dan mendukung sehingga penelitian ini dapat terselesaikan dengan baik.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak terdapat konflik kepentingan instansi/perorangan pada penelitian ini.

REFERENSI

Dharmasuari, M. S., & Sudarmaja, I. M. (2019). Hubungan Tingkat Pengetahuan dan Perilaku Pencegahan DBD Terhadap Kejadian DBD di Desa Pemucutan Klod, Kecamatan Denpasar Barat. *E-Jounal Medika*, *8*(4), 1–7. https://doi.org/https://ojs.unud.ac.id/index.php/eum

Dinas Kesehatan Kota Surakarta. (2023). *Profil Kesehatan Kota Surakarta 2023 Dinas Kesehatan Kota Surakarta*. www.dinkes.surakarta.go.id

Hidayati, L., Hadi, U. K., & Soviana, S. (2018). Pemanfaatan *Ovitrap* dalam Pengukuran Populasi *Aedes Sp*. dan Penentuan Kondisi Rumah. *Jurnal Entomologi Indonesia*, *14*(3), 126. https://doi.org/10.5994/jei.14.3.126 Kementrian Kesehatan RI. (2023). *Profil Kesehatan Indonesia 2023*.

Khairinisa, G. (2025). Upaya Pencegahan dan Pengendalian Vektor Demam Berdarah Melalui Edukasi dan Deteksi serta Pengukuran *Indeks Ovitrap* Nyamuk *Aedes Aegypti*. *Jurnal Inovasi Dan Pemberdayaan Masyarakat Laboratorium Kesehatan*, *1*(1), 1–11. https://doi.org/https://jurnal.aiptlmi-iasmlt.id/index.php/jipmaslab/article/view/239

Nugraheni, E., Rizqoh, D., & Sundari, M. (2023). Manifestasi Klinis Demam Berdarah Dengue (DBD). *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan : Publikasi Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya*, *10*(3), 267–274. https://doi.org/10.32539/jkk.v10i3.21425

Sinta, P. (2018). Hubungan Perilaku 3M Plus Masyarakat dengan Kejadian DBD di Wilayah Kerja Puskesmas Gambirsari Surakarta. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Media Husada*, *7*(2), 93–104. https://doi.org/10.33475/jikmh.v7i2.25

Soraya, S., Anggraeni, Y., & Setiawati, H. (2023). Pengukuran *Indeks Ovitrap* Terhadap Populasi Telur *Aedes sp*. *Jurnal Riset Kesehatan Poltekkes Depkes Bandung*, *15*(2), 567–574. https://doi.org/10.34011/juriskesbdg.v15i2.1933

Susanto, M. R., Ridwan, R., & Noviadi, P. (2022). Penyuluhan Pembuatan *Ovitrap* Terhadap Pengetahuan dan Sikap Ibu Rumah Tangga dalam Pengendalian DBD. *Health Sciences and Pharmacy Journal*, *6*(2), 63–68. https://doi.org/10.32504/hspj.v6i2.706

Susilowati, I., & Cahyati, W. H. (2021). Kejadian Demam Berdarah Dengue (DBD): Studi Kasus di Wilayah Kerja Puskesmas Wonokarto. *Indonesian Journal of Public Health and Nutrition*, *1*(2), 244–254.

Tomia, A. (2020). Gambaran Tingkat Kepadatan Nyamuk *Aedes Aegypti* Berdasarkan *Indeks Ovitrap* di Kota Ternate. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*, *16*(2), 143. https://doi.org/10.24853/jkk.16.2.143-150

WHO. (2024a). *Dengue - Global situation*. https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2024-DON518

WHO. (2024b). *Dengue and Severe Dengue*. https://www.who.int/newsroom/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue

Yunus, R., & Rosanty, A. (2016). R*elationship Between Knowledge, Action of Family in DCB (Drain, Close, and Bury) Program, and the Existence of Eggs of Aedes Aegypti Mosquito on Ovitrap in Kandai Kendari, Indonesia. Public Health of Indonesia*, *2*(4), 185–190. https://doi.org/10.36685/phi.v2i4.97

Yunus, R., Supiati, S., & Orno, T. G. (2021). Eliminasi Vektor Demam Berdarah Dengue melalui Penyuluhan dan Pemasangan *Ovitrap* di Kelurahan Puuwatu Kecamatan Puuwatu. *Jurnal Inovasi, Pemberdayaan Dan Pengabdian Masyarakat*, *1*(1), 17–22. https://doi.org/10.36990/jippm.v1i1.244

EFEKTIVITAS FIKSASI PADA SUHU 4°C DALAM MENINGKATKAN KUALITAS PEWARNAAN HE DAN INTEGRITAS DNA PADA SEDIAAN FFPE

Vandana Yesha[1] · Burhannudin[2]* · Puji Lestari[3]

[123]Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Jakarta III, Jawa Barat, Indonesia

e-Mail: burhannudin@kemkes.go.id
No Tlp WA : 08976766862

Abstract

Variations in fixation temperature have been shown to affect HE staining quality and DNA integrity as a result of changes in the fixation rate. This study aims to assess the HE staining quality and DNA integrity of FFPE samples fixed at 4°C, 25°C, and 37°C. This study is an experimental study with samples in the form of paraffin blocks from the liver tissue of Rattus norvegicus white rats. The assessment of HE staining quality was carried out using a scoring system for the quality of cell nucleus staining, cytoplasm staining quality, and the percentage of tissue color uniformity by an anatomical pathologist. DNA integrity was assessed quantitatively using a spectrophotometer and qualitatively using agarose gel electrophoresis. Next, PCR was performed with albumin gene targets measuring 565 and 266 bp to test DNA integrity as a PCR template. The Mann-Whitney test results showed a significant difference in the quality of cell nucleus staining (p<0.05) between 4°C and 25°C compared to 37°C, but there was no significant difference in the quality of cytoplasm staining and tissue color uniformity. However, qualitatively, 4°C provided the best results for HE staining quality (both in cell nuclei and cytoplasm). In the DNA integrity test, 4°C provided the best PCR results. In conclusion, fixation at 4°C provided the best results for HE staining quality and DNA integrity.

***Keywords**: temperature, 4°C, Hematoxylin Eosin, DNA, FFPE*

Abstrak

Variasi suhu fiksasi terbukti dapat memengaruhi kualitas pewarnaan HE dan integritas DNA, sebagai akibat dari adanya perubahan laju fiksasi. Penelitian ini bertujuan untuk menilai kualitas pewarnaan HE dan integritas DNA dari sampel FFPE yang difiksasi menggunakan suhu 4°C, 25°C, dan 37°C. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan sampel berupa blok parafin dari jaringan hati tikus putih *Rattus norvegicus*. Penilaian kualitas pewarnaan HE dilakukan dengan sistem *scoring* terhadap kualitas pewarnaan inti sel, kualitas pewarnaan sitoplasma, dan persentase keseragaman warna jaringan oleh ahli patologi anatomi. Penilaian integritas DNA dilakukan secara kuantitatif menggunakan spektrofotometer dan kualitatif menggunakan elektroforesis gel agarose. Selanjutnya, dilakukan PCR dengan target gen albumin berukuran 565 dan 266 bp untuk menguji integritas DNA sebagai *template* PCR. Hasil Uji Mann-Whitney menunjukan terdapat perbedaan signifikan pada kualitas pewarnaan inti sel (p<0,05) antara suhu 4°C dan 25°C terhadap suhu 37°C, namun tidak terdapat perbedaan signifikan pada kualitas pewarnaan sitoplasma dan keseragaman warna jaringan. Namun, secara kualitatif suhu 4°C memberikan hasil terbaik terhadap kualitas pewarnaan HE (baik pada inti sel maupun sitoplasma). Pada uji integritas DNA, suhu 4°C memberikan gambaran hasil PCR terbaik. Kesimpulannya, fiksasi pada suhu 4°C memberikan hasil terbaik pada kualitas pewarnaan HE dan integritas DNA.

Kata Kunci: suhu, 4°C, Hematoksilin Eosin, DNA, FFPE

PENDAHULUAN

Pemeriksaan histopatologi dan molekuler penting dilakukan dalam penegakan diagnosis dan penentuan terapi kanker. Pada beberapa kanker dari jaringan solid, mutasi terjadi pada sel somatik, sehingga pengambilan sampel untuk ekstraksi DNA harus dipastikan dari sel kanker, bukan sel normal (Chevalier dkk., 2020; Kim dkk., 2019; Peixoto dkk., 2020). Analisis mutasi somatik berbasis molekuler pada sel kanker sangat penting untuk dilakukan karena pemeriksaan molekuler dapat membantu dokter dalam menentukan terapi target yang paling efektif berdasarkan mutasi pada gen target serta pemantauan pengobatan pasien (King dkk., 2025). Sebagai contohnya, pasien *Non-Small Cell Lung Cancer* (NSCLC) dengan mutasi gen *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR) hanya dapat dideteksi dengan molekuler, hal ini karena mutasi tersebut tidak secara langsung memengaruhi ekspresi protein yang bisa dideteksi dengan Imunohistokimia (IHC), melainkan terjadi perubahan pada urutan DNA gen itu sendiri. Adapun pasien dengan mutasi ini dapat merespons baik terhadap pengobatan dengan *Tyrosine Kinase Inhibitor* (TKI) seperti Erlotinib atau Gefitinib (De Jager dkk., 2024). Penentuan sel kanker atau normal hanya dapat diketahui setelah pemeriksaan histopatologi dengan pengamatan secara mikroskopis menggunakan sediaan dari sampel awetan jaringan *Formalin Fixed Paraffin Embedded* (FFPE) (Hafy dkk., 2018; Wiraditya, 2023). Oleh karena itu, sediaan FFPE sangat diperlukan dalam praktik klinis.

Pemrosesan sediaan FFPE diawali dengan fiksasi jaringan yang dilanjutkan dengan dehidrasi, *clearing*, impregnasi, *embedding*, sectioning, hingga pewarnaan jaringan (Puspita, 2023). Fiksasi jaringan menggunakan larutan berbasis formalin menjadi tahap penting dalam proses pembuatan jaringan FFPE karena formalin berperan sebagai agen *cross-linking* untuk menstabilkan struktur jaringan dengan menciptakan hubungan kovalen antara makromolekul, seperti DNA-DNA, DNA-protein, dan protein-protein (Ottestad dkk., 2022; Wiraditya, 2023). Terdapat beberapa faktor yang memengaruhi proses fiksasi, diantaranya pH, *penetration rate* (laju

penetrasi), ketebalan pemotongan jaringan (ukuran dimensi spesimen), konsentrasi larutan, volume fiksasi, durasi fiksasi, dan suhu fiksasi (Erick & Dewi, 2017). Pengaruh suhu fiksasi dapat menjadi faktor utama yang memengaruhi integritas DNA karena suhu dapat mengubah kecepatan formalin dalam pembentukan *cross-linking* antara DNA dengan protein (Berrino dkk., 2020). Perubahan suhu juga berdampak pada laju degenerasi sel yang dapat memengaruhi perubahan morfologi jaringan dan penurunan integritas DNA. Mekanisme cross-linking ini menyebabkan degradasi melalui pelepasan basa purin dari asam nukleat dan terinduksinya fragmentasi DNA dari sampel FFPE (Erick & Dewi, 2017; Ottestad dkk., 2022; Wiraditya, 2023).

Penelitian ini bertujuan untuk melihat kualitas pewarnaan HE dan integritas DNA dari sediaan FFPE yang dibuat dengan variasi suhu fiksasi pada suhu 4°C, 25°C, dan 37°C. Pengujian ini dilakukan terhadap integritas DNA dengan perbandingan terhadap hasil pewarnaan HE untuk melihat kesesuaian diagnosis. Penelitian ini akan memvalidasi suhu fiksasi terbaik dalam proses pembuatan FFPE terhadap kualitas pewarnaan HE dan integritas DNA.

BAHAN DAN METODE

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Inkubator merk Memmert I IN 30, *Ludwig Schneider Stirring Thermometer,* Kulkas Merk Glacio, Set Elektroforesis, *Geldoc* merk Biorad, dan *Thermal Cycler* merk SensoQuest. Adapun bahan yang digunakan adalah blok jaringan hati tikus putih *Rattus novergicus* sebanyak 27 buah, aquades, *pewarna Mayer-Hematoxylin, OG-6, EA-50, Xylol*, Entelan, Semua reagen dalam 2x Taq Plus PCR Mix (with dye), *Primer Forward dan Reverse*, *Nuclease Free Water* (NFW), *DNA template* hasil ekstraksi, bubuk *Agarose,* dan *TAE-buffer* konsentrasi 1x.

Penelitian dilakukan menggunakan *true-experimental research posttest only control group design* dengan membandingkan penggunaan variasi suhu fiksasi dalam pembuatan *Formalin Fixed Paraffin Embedded*

(FFPE) dari sampel hati tikus putih *Rattus novergicus* terhadap penilaian pewarnaan pewarnaan hematoksilin eosin (HE) dan integritas DNA. Penelitian diawali dengan preparasi jaringan tikus. Euthanasia dilakukan terhadap tubuh tikus dengan metode *serviks dislocation* yang selanjutnya dilakukan pengambilan organ hati tikus. Organ hati tikus hasil pembedahan segera dilakukan proses fiksasi dengan larutan NBF 10% dengan volume 10x volume jaringan hati sesuai dengan perlakuan penelitian. Perlakuan yang dilakukan dalam penelitian ditunjukkan dalam tabel 1.

Tabel 1. Kelompok Perlakuan

Kelompok	Keterangan
Kontrol (K)	Kelompok tanpa perlakuan yaitu menggunakan jaringan segar tanpa proses pembuatan parafin
Perlakuan 1 (P1)	Kelompok perlakuan dengan suhu fiksasi 4°C selama 24 jam
Perlakuan 2 (P2)	Kelompok perlakuan dengan suhu fiksasi 25°C selama 24 jam
Perlakuan 3 (P3)	Kelompok perlakuan dengan suhu fiksasi 37°C selama 24 jam

Jaringan hati segar tikus dipotong dengan ketebalan 1-2 mm yang selanjutnya dilanjutkan dengan proses pematangan jaringan. Pematangan jaringan diawali dengan dehidrasi selama 30 menit menggunakan alkohol 70%, 96%, dan absolut (100%). Selanjutnya, dilakukan tahap *clearing* selama 30 menit menggunakan xylol, tahap infiltrasi menggunakan parafin cair selama 60 menit di suhu 60-70°C, *embedding*, dan *blocking*. Jaringan yang telah dicetak menjadi blok parafin dilakukan *sectioning* menggunakan mikrotom. Hasil *sectioning* akan dilanjutkan ke dua tahap: pewarnaan HE dan ekstraksi DNA. Tabel 2 menunjukkan prosedur pewarnaan HE dengan modifikasi.

Tabel 2. Prosedur Pewarnaan HE dengan Modifikasi
Sumber : (Kinaya, 2024)

Tahapan	Larutan	Waktu
Deparafinisasi	Xylol 1	15 menit
	Xylol 2	15 menit
Rehidrasi	Alkohol Absolut 1	5 menit
	Alkohol Absolut 2	5 menit
	Alkohol 96%	5 menit

Tahapan	Larutan	Waktu
	Alkohol 70%	5 menit
	Cuci dengan air mengalir	1 menit
Pewarnaan Inti Sel	Hematoksilin	5 menit
	Cuci dengan air mengalir	1 menit
	Lithium Carbonate	3-5 celup
	Cuci dengan air mengalir	1 menit
Dehidrasi	Alkohol 70%	5 menit
	Alkohol 96%	5 menit
Pewarnaan Sitoplasma	Eosin	30 detik
Dehidrasi (Lanjutan)	Alkohol Absolut 1	3-5 celup
	Alkohol Absolut 2	3-5 celup
Clearing	Xylol 1	5 menit
	Xylol 2	5 menit
Mounting	Entelan	

Penilaian pewarnaan HE dilakukan secara mikroskopis dan diberikan *scoring* pewarnaan HE terhadap inti sel, sitoplasma, serta keseragaman warna jaringan oleh dokter Spesialis Patologi Anatomi (SpPA). Nilai *scoring* dimodifikasi dengan memisahkan penilaian terhadap inti dan sitoplasma yang selanjutnya dianalisis secara statistik (Kinaya, 2024; Shobariana, 2022).

Penelitian dilanjutkan dengan tahapan ekstraksi DNA terhadap sampel FFPE dan jaringan segar (kontrol). Tahapan ekstraksi DNA dari sampel FFPE menggunakan protokol dari TIANamp FFPE DNA Kit sedangkan tahapan ekstraksi DNA dari jaringan segar (kontrol) menggunakan protokol dari GeneJET™ Genomic DNA Purification Kit. Integritas DNA dinilai secara kuantitatif terhadap konsentrasi dan kemurnian DNA menggunakan Spektrofotometer Nanodrop serta penilaian secara kualitatif menggunakan elektroforesis gel agarose. *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dilakukan terhadap gen target albumin untuk mengevaluasi kemampuan amplifikasi gen DNA dengan besar produk 565 bp dan 266 bp.

Penelitian ini telah dinyatakan lulus kaji etik oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Universitas Muhammadiyah dan Purwokerto

dengan nomor registrasi: KEPK/UMP/234/III/2025. Data diolah menggunakan Uji *Mann-Whitney* terhadap hasil *scoring* serta analisa secara kualitatif terhadap penilaian mikroskopis pewarnaan HE dan integritas DNA untuk menentukan variasi terbaik dari hasil penelitian.

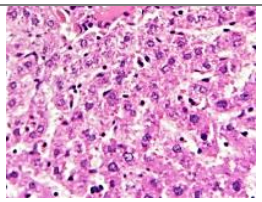
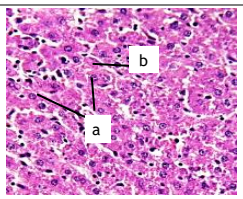
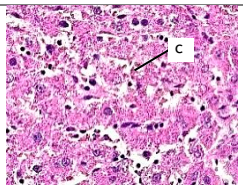
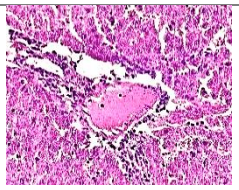
HASIL

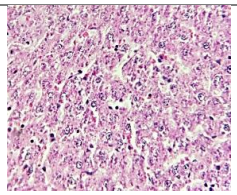
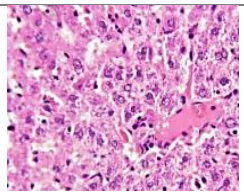
Penelitian ini menggunakan data yang berasal dari 27 blok jaringan hati tikus wistar (*Rattus norvegicus)* dengan perlakuan 3 suhu fiksasi berbeda yaitu pada suhu 4°C, 25°C, dan 37°C. Sejumlah 27 blok jaringan masing-masing dilakukan pembuatan *slide* dan diwarnai dengan pewarnaan hematoksilin eosin (HE). Selain itu, tiap-tiap blok jaringan juga dilakukan uji secara molekuler berupa uji kualitas hasil ekstraksi DNA dari sampel FFPE dan PCR dengan visualisasi gel elektroforesis.

1. Hasil Penilaian Pewarnaan HE

   Penilaian terhadap pewarnaan HE dilakukan dengan modifikasi nilai *scoring* yaitu dengan memisahkan nilai *scoring* terhadap inti dan sitoplasma. Tabel 3 menunjukkan perbedaan hasil pewarnaan HE antara suhu fiksasi 4°C, 25°C, dan 37°C.

Tabel 3. Perbedaan hasil pewarnaan HE antara suhu fiksasi 4°C, 25°C, dan 37°C (Sumber : Dokumentasi Pribadi)

	1 (tidak baik)	2 (kurang baik)	3 (baik)
Fiksasi suhu 4°C			
Fiksasi suhu 25°C			

	1 (tidak baik)	2 (kurang baik)	3 (baik)
Fiksasi suhu 37°C			

Keterangan : a) inti sel b) sitoplasma c) eritrosit

Perhitungan frekuensi hasil *scoring* pewarnaan terhadap inti sel dan sitoplasma dari tiap-tiap perlakuan disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Frekuensi Hasil Scoring Inti dan Sitoplasma dari Setiap Kelompok Perlakuan

		Jumlah (n%)			
	Perlakuan	***Scoring* 1 (tidak baik)**	***Scoring* 2 (kurang baik)**	***Scoring* 3 (baik)**	**Total**
Inti Sel	Suhu 4°C	0	22	78	100
	Suhu 25°C	0	33	67	100
	Suhu 37°C	22	78	0	100
Sitoplasma	Suhu 4°C	0	44	56	100
	Suhu 25°C	22	33	45	100
	Suhu 37°C	45	33	22	100

Frekuensi nilai *scoring* terhadap inti sel menunjukkan bahwa fiksasi pada suhu 4°C dan 25°C memberikan persentase tinggi pada nilai *scoring* 3 yaitu masing-masing 78% dan 67% dibandingkan fiksasi suhu 37°C yang dominan pada nilai *scoring* 2 sebanyak 78%. Namun, hasil berbeda ditunjukkan pada frekuensi nilai *scoring* terhadap sitoplasma yang memberikan hasil terbaik pada perlakuan fiksasi dengan suhu 4°C dengan persentase tinggi pada nilai skoring 3 sebesar 56%. Hal ini menunjukkan bahwa fiksasi menggunakan suhu 4°C memberikan frekuensi nilai *scoring* pewarnaan HE yang lebih unggul terhadap inti dan sitoplasma dibandingkan variasi fiksasi dengan suhu 25°C dan 37°C.

Uji statistik dilakukan untuk mengetahui perbandingan hasil dari tiap-tiap perlakuan fiksasi. Uji statistik diawali dengan uji normalitas

menggunakan metode analitik *Shapiro-Wilk*. Hasil uji menunjukkan distribusi data tidak normal dengan nilai p<0,05 sehingga uji dilanjutkan menggunakan statistik non parametrik yaitu uji Kruskal Wallis dengan uji Post Hoc yaitu *Mann-Whitney U*. Hasil Pengujian *Mann-Whitney U* ditampilkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Uji *Mann-Whitney* terhadap *scoring* Pewarnaan HE

Pewarnaan	Perlakuan	Median (nilai bawah – nilai atas)	P value
Inti Sel	Suhu 4°C	3 (2-3)[a]	<0,05
	Suhu 25°C	3 (2-3)[b]	
	Suhu 37°C	2 (1-2)[a,b]	
Sitoplasma	Suhu 4°C	3 (2-3)	>0,05
	Suhu 25°C	2 (1-3)	
	Suhu 37°C	2 (1-3)	
Keseragaman Warna	Suhu 4°C	60 (40–80)	>0,05
	Suhu 25°C	60 (40–80)	
	Suhu 37°C	60 (40–80)	

Keterangan : nilai a dan b menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara 2 kelompok yang berbeda

Kualitas pewarnaan HE dinilai dan dianalisis berdasarkan 3 kategori, yaitu kualitas pewarnaan terhadap inti sel, sitoplasma, dan persentase keseragaman warna pada jaringan. Tabel 5 menunjukkan adanya perbedaan pewarnaan inti sel antara kelompok P1 dengan P3 (a) dan antara kelompok P2 dengan P3 (b) dengan nilai p<0,05 tanpa adanya perbedaan signifikan antara kelompok P1 dengan P2 dengan nilai p=0,78. Selain itu, pada *scoring* pewarnaan terhadap sitoplasma dan keseragaman warna jaringan didapatkan tidak adanya perbedaan signifikan dengan nilai masing-masing p=0,128 dan p=0,770 pada ketiga perlakuan. Hasil diuji secara keseluruhan pada tingkat kepercayaan 95% (α = 0,05). Hal ini menunjukkan bahwa secara statisik, fiksasi menggunakan suhu 4°C maupun suhu 25°C lebih baik dibandingkan suhu 37°C.

2. Hasil Kualitas Molekuler

Terdapat dua cara untuk menilai integritas DNA pada penelitian ini, yaitu secara kuantitatif dengan spektrofotometri berupa konsentrasi dan kemurnian DNA, serta secara kualitatif dengan elektroforesis gel agarose

a. Hasil Konsentrasi dan Kemurnian DNA

Konsentrasi dan kemurnian DNA hasil ekstraksi sampel FFPE diukur menggunakan uji spektrofotometri nanodrop. Hasil uji kepada kelompok perlakuan sampel ditampilkan pada Tabel 6.

Tabel 6. *Mean*, Standar Deviasi, serta Frekuensi dari Konsentrasi dan Kemurnian DNA

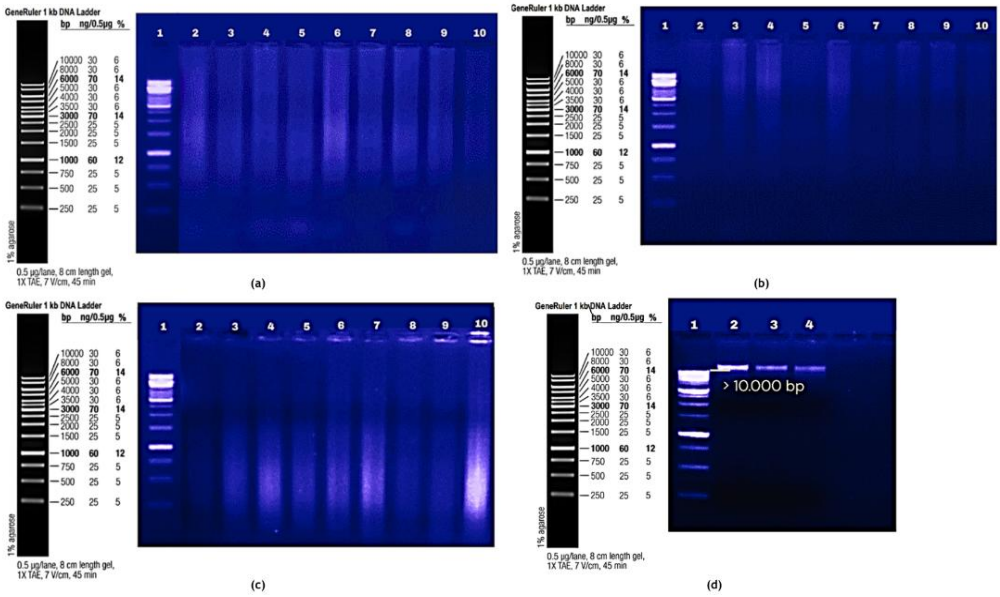
	Konsentrasi DNA (ng/µL)	Kemurnian DNA					
		Å260/Å280			**Å260/Å230**		
		Mean ± SD	**n (%)**		**Mean ± SD**	**n (%)**	
			murni	**Terkonta-minasi**		**murni**	**Terkonta-minasi**
4°C	101,8 ± 33,0	1,9 ± 0,0	100	-	2,2 ± 0,2	22	78
25°C	109,0 ± 29,7	1,9 ± 0,0	100	-	2,0 ± 0,3	44	56
37°C	89,3 ± 30,6	1,9 ± 0,0	100	-	2,8 ± 0,4	11	89
K	13,4 ± 3,5	1,9 ± 0,1	100	-	1,5 ± 0,4	0	100

Tabel 6 menunjukkan hasil kemurnian DNA yang diukur terhadap 2 rasio panjang gelombang yaitu pada rasio Å260/Å280 dan Å260/Å230. Nilai rasio Å260/Å280 terhadap seluruh sampel dan kontrol menunjukkan *mean* yang berada pada rentang DNA yang murni. Namun, hasil uji spektrofotometri nanodrop Å260/Å230 menunjukkan rasio kemurnian yang lebih bervariasi dibandingkan Å260/Å280. Menurut Saputri dkk., 2023, pengukuran rasio Å260/Å230 secara opsional dilakukan untuk melihat hasil dari kontaminasi lain yang tidak terukur dalam panjang gelombang 260 nm dan 280 nm. Rasio Å260/Å230 yang lebih tinggi disebabkan karena hambatan dalam proses pengukuran absorbansi berupa kotornya *pedestal* pada alat Spektrofotometer Nanodrop sedangkan, rasio Å260/Å230 seringkali lebih rendah akibat kontaminasi DNA

dengan residu fenol, guanidin, dan glikogen pada tahap ekstraksi DNA.

b. Hasil Elektroforesis Gel Agarose.

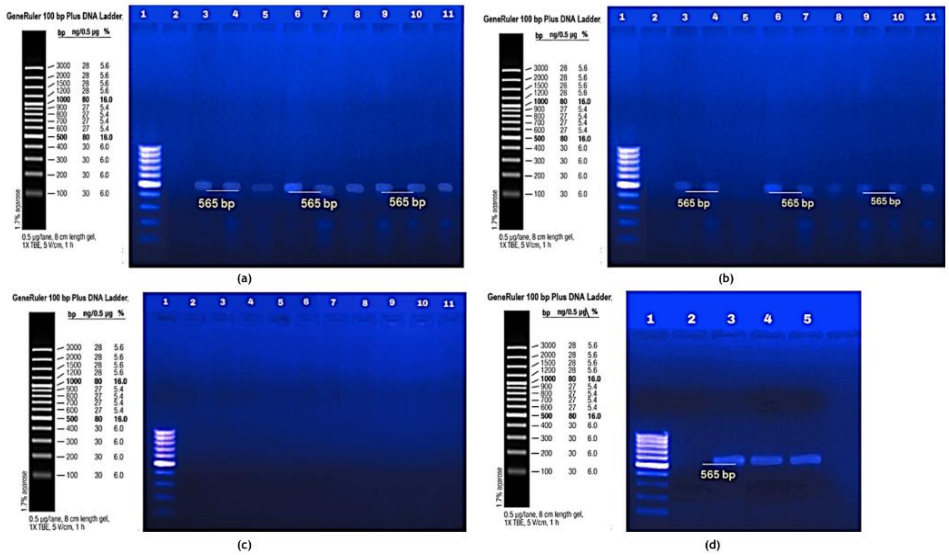
Penilaian kualitas ekstraksi DNA dari sampel FFPE dilakukan menggunakan metode elektroforesis. Penilaian ini bertujuan untuk mengetahui 3 parameter yaitu, kualitas pita DNA (utuh atau terfragmentasi), DNA *yield* (tebal atau tipisnya pita DNA), dan mengetahui perkiraan ukuran DNA hasil ekstraksi.



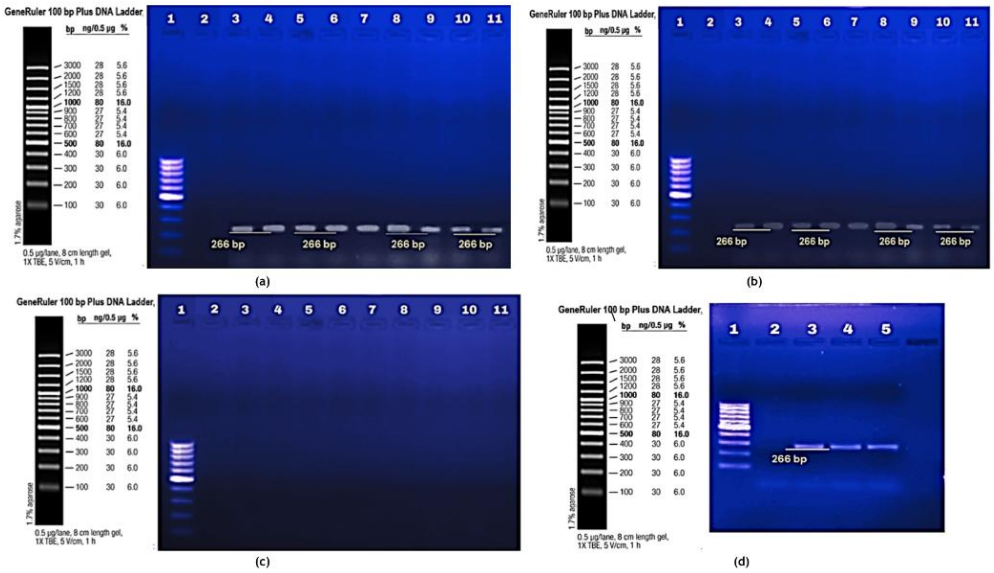
Gambar 1. Visualisasi elektroforesis hasil ekstraksi DNA : (a) sampel FFPE yang difiksasi menggunakan suhu 4°C (b) sampel FFPE yang difiksasi menggunakan suhu 25°C (c) sampel FFPE yang difiksasi menggunakan suhu 37°C (d) Kontrol.

Gambar 1a hingga 1c menunjukkan hasil ekstraksi DNA dari sampel FFPE pada ketiga perlakuan mengalami efek *smearing*. Namun, hasil berbanding terbalik ditampilkan oleh Gambar 1d yang menunjukkan hasil ekstraksi kontrol yang tegas dan utuh. Hal ini memberikan gambaran bahwa DNA hasil ekstraksi FFPE tidak utuh atau memiliki integritas kurang baik. Selain itu, tebal tipisnya pita DNA menunjukkan DNA *yield* yang dimiliki oleh tiap-tiap sampel. Hasil visualisasi DNA *yield* dari sampel FFPE yang difiksasi pada ketiga variasi suhu memberikan gambaran *yield* yang tipis. Hal ini menunjukkan bahwa DNA yang berhasil diekstraksi memiliki jumlah yang rendah dan/atau adanya kontaminan yang mengganggu

visualisasi pita DNA (Saputri dkk., 2023; Yesha dkk., 2024)



Gambar 2. Hasil elektroforesis produk PCR 1 (565 bp): (a) sampel FFPE yang difiksasi menggunakan suhu 4˚C (b) sampel FFPE yang difiksasi menggunakan suhu 25˚C (c) sampel FFPE yang difiksasi menggunakan suhu 37˚C (d) Kontrol. Uji PCR dinyatakan valid karena tidak terbentuk pita pada *No Template Control/NTC* (kolom 2)



Gambar 3. Hasil elektroforesis produk PCR 2 (266 bp):(a) sampel FFPE yang difiksasi menggunakan suhu 4˚C (b) sampel FFPE yang difiksasi menggunakan suhu 25˚C (c) sampel FFPE yang difiksasi menggunakan suhu 37˚C(d) Kontrol. Uji PCR dinyatakan valid karena tidak terbentuk pita pada *No Template Control/NTC* (kolom 2)

Gambar 2 dan 3 merepresentasikan hasil visualisasi elektroforesis terhadap amplikon PCR dengan panjang produk yang berbeda yaitu 565 bp dan 266 bp. Hasil visualisasi menunjukkan terjadinya penurunan kualitas pita DNA pada penggunaan suhu fiksasi

yang semakin tinggi. Hasil penelitian serupa menunjukkan bahwa suhu 37°C memberikan dampak peningkatan laju degenerasi jaringan sehingga dapat memengaruhi morfologi jaringan dan penurunan integritas DNA (Bamisi & Alese, 2020; Jeong, 2024; Muthiawati dkk., 2023). Selain itu, terbentuknya pita yang utuh dari amplikon PCR hasil ekstraksi DNA sampel FFPE yang difiksasi menggunakan suhu 4°C dan suhu 25°C menunjukkan kemampuan DNA FFPE untuk diamplifikasi menggunakan PCR oleh primer dengan panjang produk 266 bp dan 565 bp. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa DNA FFPE mampu secara efektif diamplifikasi pada panjang produk kurang dari 200 bp (Bhagwate dkk., 2019). Namun, ketika hasil PCR DNA sampel FFPE pada ketiga variasi perlakuan dibandingkan dengan hasil PCR kontrol menunjukan bahwa suhu 4°C memberikan hasil yang paling mendekati kualitas kontrol dibandingkan suhu 25°C dan 37°C.

DISKUSI

Fiksasi menggunakan larutan berbasis formalin menjadi bagian dari tahapan penting dalam pembuatan jaringan FFPE. Formalin berperan sebagai agen *cross-linking* untuk stabilisasi struktur jaringan dengan menciptakan hubungan kovalen antara makromolekul, seperti DNA-DNA, DNA-protein, dan protein-protein (Erick & Dewi, 2017; Ottestad dkk., 2022). Aspek yang perlu dipertimbangkan dalam fiksasi yaitu, suhu fiksasi, jenis larutan fiksatif, durasi fiksasi, dan konsentrasi larutan fiksatif (Mariyam dkk., 2020). Faktor suhu dapat menjadi bagian yang penting dalam proses fiksasi karena suhu jaringan memengaruhi kecepatan reaksi kimia antara unsur fiksatif dengan sel atau jaringan (Sari, 2023). Perbedaan suhu dapat mengubah kecepatan formalin dalam pembentukan *cross-linking* antara DNA dengan protein (Berrino dkk., 2020). Perubahan suhu juga berdampak pada laju degenerasi sel yang dapat memengaruhi perubahan morfologi jaringan dan penurunan integritas DNA. Mekanisme cross-linking ini menyebabkan degradasi melalui pelepasan basa purin dari asam nukleat dan

terinduksinya fragmentasi DNA dari sampel FFPE (Erick & Dewi, 2017; Ottestad dkk., 2022; Wiraditya, 2023). Penelitian ini berfokus untuk menentukan suhu terbaik fiksasi terhadap kualitas pewarnaan HE dan integritas DNA yaitu pada suhu 4°C, 25°C, dan 37°C dalam larutan *Neutral Buffer Formaline* (NBF) 10% selama 24 jam.

Berdasarkan hasil uji statistik dan penilaian secara kualitatif terhadap hasil pewarnaan HE, fiksasi menggunakan suhu 4°C memberikan hasil terbaik karena mampu memberikan hasil pewarnaan dengan nilai yang paling baik. Hal ini karena suhu fiksasi yang lebih rendah menyebabkan perlambatan *autolysis* (kerusakan jaringan akibat enzim sendiri) dan difusi berbagai komponen seluler (Bamisi & Alese, 2020). Perlambatan difusi formalin inilah yang menjaga integritas komponen seluler yaitu membantu mencegah hilangnya protein, lipid, dan molekul kecil lainnya yang ada di dalam jaringan dan menghambat terjadinya pengerutan jaringan. Adapun pengerutan jaringan harus dihindari karena dapat menyebabkan perubahan ukuran dan bentuk sel yang dapat mengganggu penilaian patologis (Alkali dkk., 2024). Suhu 4°C juga dapat menjaga struktur inti sel tetap utuh dan mempertahankan kemampuan jaringan dalam menyerap pewarnaan inti dan sitoplasma menjadi lebih terang dan efektif (Bamisi & Alese, 2020).

Selain berhubungan dengan kualitas pewarnaan jaringan, suhu fiksasi dapat memengaruhi integritas DNA FFPE (Berrino dkk., 2020; Prahanarendra, 2015). Mekanisme *cross-linking* yang dilakukan oleh formalin dapat menyebabkan efek *smearing* pada DNA hasil visualisasi elektroforesis. Hal ini karena formalin dapat memberikan umpan balik negatif terhadap struktur asam nukleat dengan cara pelepasan basa purin dari asam nukleat dan menginduksi fragmentasi DNA FFPE. Efek *smearing* menunjukkan bahwa DNA terfragmentasi menjadi potongan molekul yang lebih kecil (Berrino dkk., 2020; Prahanarendra, 2015). Selain itu, mekanisme *cross-linking* juga menjadi salah satu penyebab *Ethidium Bromide* (EtBr) tidak dapat mewarnai pita DNA. Mekanisme *cross-linking* dapat menghalangi EtBr untuk mampu berikatan dengan basa nitrogen dari DNA yang bersifat hidrofobik, sehingga DNA tidak dapat tervisualisasi

dibawah sinar UV (Akbar, 2021). Namun, efek *smearing* tidak secara mutlak menunjukkan bahwa DNA hasil ekstraksi tidak dapat digunakan untuk uji PCR. DNA yang *smear* dapat digunakan untuk PCR jika memiliki konsentrasi yang cukup serta memiliki fragment yang cukup panjang dan utuh untuk menjadi *template* PCR (Prasetyoningrum dkk., 2023).

Metode PCR dilakukan terhadap DNA dari sampel FFPE untuk mengatasi rendahnya integritas DNA hasil ekstraksi akibat proses fiksasi formalin yang menyebabkan DNA terfragmentasi dan terdegradasi (Lestari dkk., 2022). Hasil PCR DNA sampel FFPE pada ketiga variasi perlakuan dibandingkan dengan hasil PCR kontrol yang menunjukan bahwa suhu 4°C memberikan hasil yang paling mendekati kualitas kontrol dibandingkan suhu 25°C dan 37°C. Hal ini disebabkan karena proses fiksasi menggunakan suhu 4°C dapat memungkinkan formalin untuk penetrasi ke dalam jaringan sebelum terjadinya *cross-linking* sehingga dapat mengawetkan DNA dan RNA dengan lebih baik (The Royal College of Pathologists of Australasia, 2016). Perlakuan fiksasi jaringan menggunakan suhu 4°C memberikan gambaran hasil PCR yang paling utuh dan jelas pada amplifikasi dengan panjang produk 266 bp. Namun, hasil visualisasi elektroforesis PCR dari perlakuan serupa menunjukkan pita DNA yang utuh dan cukup samar pada amplikon dengan panjang produk 565 bp. Hal ini menunjukkan bahwa fiksasi FFPE menggunakan suhu 4°C memberikan kualitas hasil PCR yang paling baik karena mampu memvisualisasikan amplikon PCR dengan panjang produk 266 bp dan 565 bp dengan pita yang paling jelas dibandingkan dengan amplikon PCR dari variasi fiksasi pada suhu 25°C dan 37°C.

Penelitian ini secara keseluruhan menunjukkan bahwa suhu 4°C memiliki hasil yang paling optimum baik terhadap hasil pewarnaan histologi dan analisis secara molekuler dibandingkan dengan fiksasi pada suhu 25°C dan suhu 37°C. Tabel 7 menunjukkan rangkuman hasil kualitas pewarnaan HE dan integritas DNA dari variasi suhu fiksasi yang berbeda.

Tabel 7. menunjukkan rangkuman hasil kualitas pewarnaan HE dan integritas DNA dari jaringan yang difiksasi dengan suhu 4°C, 25°C, dan 37°C

Perlak-uan	Pewarnaan HE	Kons. DNA (ng/µL)	Integritas DNA				
			Kemurnian DNA		Visualisasi Elektroforesis		
			Å260/Å280	Å260/Å230	Hasil Ekstraksi	PCR 1 (565 bp)	PCR 2 (266 bp)
4°C	direkomendasikan	>20	• Murni: 100% • Terkontaminasi: 0%	• Murni: 22% • Terkontaminasi: 78%	DNA *smear* dan tipis	Pita DNA utuh namun tipis	Pita DNA utuh dan tebal
25°C	direkomendasikan	>20	Murni: 100% Terkontaminasi: 0%	• Murni: 44% • Terkontaminasi: 56%	DNA *smear* dan tipis	Pita DNA utuh namun tipis	Pita DNA utuh namun tipis
37°C	tidak direkomendasikan	>20	• Murni: 100% • Terkontaminasi: 0%	• Murni: 11% • Terkontaminasi: 89%	DNA *smear* dan tipis	Tidak terbentuk pita DNA	Tidak terbentuk pita DNA

Keterangan : tabel dengan latar belakang abu-abu adalah perlakuan yang dipilih secara pewarnaan HE dan molekuler (integritas DNA)

Terbatasnya variasi suhu yang digunakan dalam penelitian ini menyebabkan kurangnya variasi gambaran pewarnaan histologi dan integritas DNA yang dapat diamati. Penelitian ini berfokus pada tahapan fiksasi, kemungkinan banyak faktor lain yang dapat memengaruhi seperti pada pematangan jaringan, pewarnaan jaringan, dan ekstraksi DNA FFPE.

KESIMPULAN

Berdasarkan penilaian secara statistik dan kualitatif dapat disimpulkan bahwa jaringan yang difiksasi menggunakan suhu 4°C memberikan hasil terbaik terhadap kualitas pewarnaan HE dan integritas DNA.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis memberikan ucapan terima kasih kepada Michael Alfian Grey, S.Tr.Kes selaku Pranata Laboratorium Pendidikan (PLP) yang telah mendampingi penulis selama pengerjaan di Laboratorium Sitohistoteknologi dan Biologi Molekuler Poltekkes Kemenkes Jakarta III. Penulis juga memberikan ucapan terima kasih kepada dr. Evalina Panorangan M, Sp.PA yang telah berkenan untuk mengamati dan memberikan penilaian (*scoring*) terhadap pewarnaan HE yang dibuat oleh penulis.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini

REFRENSI

Akbar, A. T. R. (2021). *Evaluasi Hasil Isolasi DNA dari Jaringan Terfiksasi Formalin dan Jaringan Segar Hepar Ayam dari Ayam Boiler*. Universitas Brawijaya Malang.

Alkali, I. M., Colombo, M., Rodak, O., Nizanski, W., & Luvoni, G. C. (2024). Effect of Fixatives and Fixation Period on Morphology and Immunohistochemistry of Feline Ovarian Tissue. *Animals*, *14*(6), 825. https://doi.org/10.3390/ani14060825.

Bamisi, O. D., & Alese, M. O. (2020). Effects of various fixatives and temperature on the quality of glycogen demonstration in the brain and liver tissues. *Annals of Diagnostic Pathology*, *48*, 151604. https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2020.151604.

Berrino, E., Annaratone, L., Miglio, U., Maldi, E., Piccinelli, C., Peano, E., Balmativola, D., Cassoni, P., Pisacane, A., Sarotto, I., Venesio, T., Sapino, A., & Marchiò, C. (2020). Cold Formalin Fixation Guarantees DNA Integrity in Formalin Fixed Paraffin Embedded Tissues: Premises for a Better Quality of Diagnostic and Experimental Pathology With a Specific Impact on Breast Cancer. *Frontiers in Oncology*, *10*, 173. https://doi.org/10.3389/fonc.2020.00173.

Bhagwate, A. V., Liu, Y., Winham, S. J., McDonough, S. J., Stallings-Mann, M. L., Heinzen, E. P., Davila, J. I., Vierkant, R. A., Hoskin, T. L., Frost, M., Carter, J. M., Radisky, D. C., Cunningham, J. M., Degnim, A. C., & Wang, C. (2019). Bioinformatics and DNA-extraction strategies to reliably detect genetic variants from FFPE breast tissue samples. *BMC Genomics*, *20*(1), 689. https://doi.org/10.1186/s12864-019-6056-8.

Chevalier, L.-M., Billaud, A., Fronteau, S., Dauvé, J., Patsouris, A., Verriele, V., & Morel, A. (2020). Somatic mRNA Analysis of BRCA1 Splice Variants Provides a Direct Theranostic Impact on PARP Inhibitors. *Molecular Diagnosis & Therapy*, *24*(2), 233–243. https://doi.org/10.1007/s40291-020-00452-z.

De Jager, V. D., Timens, W., Bayle, A., Botling, J., Brcic, L., Büttner, R., Fernandes, M. G. O., Havel, L., Hochmair, M., Hofman, P., Janssens, A., Van Kempen, L., Kern, I., Machado, J. C., Mohorčič, K., Popat, S., Ryška, A., Wolf, J., Schuuring, E., & Van Der Wekken, A. J. (2024). Future perspective for the application of predictive biomarker testing

in advanced stage non-small cell lung cancer. *The Lancet Regional Health - Europe*, *38*, 100839. https://doi.org/10.1016/j.lanepe.2024.100839.

Erick, K., & Dewi, I. (2017). *Sitohistoteknologi* (2017 ed., Vol. 1). Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.

Hafy, Z., Larasati, V., Puspita, R. S., S, N., M, H., A, R., & R, S. (2018). Hubungan Lama Penyimpanan Sampel Arsip Jaringan Dalam Blok Parafin Terfiksasi Formalindengan Kualitas Hasil Ekstraksidna Mitokondria Jaringan. *SRIWIJAYA JOURNAL OF MEDICINE*, *1*(3), 157–162. https://doi.org/10.32539/SJM.v1i3.31.

Jeong, D. (2024). A Study on the Stainability and DNA Conservation of Tissue Slides according to Fixation Time and Temperature. *Korean Journal of Clinical Laboratory Science*, *56*(3), 217–227. https://doi.org/10.15324/kjcls.2024.56.3.217.

Kim, K.-K., Seung, B.-J., Kim, D., Park, H.-M., Lee, S., Song, D.-W., Lee, G., Cheong, J.-H., Nam, H., Sur, J.-H., & Kim, S. (2019). Whole-exome and whole-transcriptome sequencing of canine mammary gland tumors. *Scientific Data*, *6*(1), 147. https://doi.org/10.1038/s41597-019-0149-8.

Kinaya, A. G. (2024). *Perbandingan Processing Sediaan Histologi Dengan Menggunakan Xilol dan Isopropanol Sebagai Agen Deparafinisasi Pada Pewarnaan Hematoxylin Eosin*. Health Polytechnic Ministry of Health Jakarta III.

King, D., Atlasi, Y., & Rafiee, G. (2025). *DNABERT-2: Fine-Tuning a Genomic Language Model for Colorectal Gene Enhancer Classification* (Versi 1). arXiv. https://doi.org/10.48550/ARXIV.2509.25274.

Lestari, P., Gayosi, N., & Perdana, A. B. (2022). *Optimasi Teknik Fragment Analysis untuk Deteksi Microsatellite Instability (MSI) Menggunakan Spesimen Formalin-Fixed Paraffin Embedded (FFPE)*.

Mariyam, S., Khristian, E., Hilmi, D., & Romlah, S. (2020). *Pengaruh Perbandingan Larutan Fiksasi Terhadap Organ*. *1*.

Muthiawati, S., Wiryanti, W., Durachim, A., & Mulia, Y. S. (2023). Optimasi Waktu Dan Suhu Fiksasi Spesimen Terhadap Kualitas Preparat Jaringan. *Jurnal Kesehatan Siliwangi*, *4*(1), 479–484. https://doi.org/10.34011/jks.v4i1.1508.

Ottestad, A. L., Emdal, E. F., Grønberg, B. H., Halvorsen, T. O., & Dai, H. Y. (2022). Fragmentation assessment of FFPE DNA helps in evaluating NGS library complexity and interpretation of NGS results. *Experimental and Molecular Pathology*, *126*, 104771.

https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2022.104771.

Peixoto, A., Pinto, P., Guerra, J., Pinheiro, M., Santos, C., Pinto, C., Santos, R., Escudeiro, C., Bartosch, C., Canário, R., Barbosa, A., Gouveia, A., Petiz, A., Abreu, M. H., Sousa, S., Pereira, D., Silva, J., & Teixeira, M. R. (2020). Tumor Testing for Somatic and Germline BRCA1/BRCA2 Variants in Ovarian Cancer Patients in the Context of Strong Founder Effects. *Frontiers in Oncology*, *10*, 1318. https://doi.org/10.3389/fonc.2020.01318.

Prahanarendra, G. (2015). *Studi Awal Histoteknik: Gambaran Histologi Organ Ginjal, Hepar, dan Pankreas Tikus Sprague Dawley Dengan Pewarnaan HE Dengan Fiksasi 3 Minggu*. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.

Prasetyoningrum, P. A., Junitha, I. K., & Yulihastuti, D. A. (2023). Kuantitas Dan Kualitas DNA Hasil Ekstraksi Dari Bercak Darah Pada Pisau Pasca Paparan Sinar Ultraviolet Dan Matahari. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, *10*(1), 176. https://doi.org/10.24843/metamorfosa.2023.v10.i01.p19

Puspita, I. (2023). *Optimalisasi Fiksasi Histopatologi Menggunakan Hotplate Suhu 60°C Dengan Variasi Waktu 3 Menit, 5 Menit, dan 10 Menit*. Poltekkes Kemenkes Jakarta III.

Saputri, F., Rusdi, B., & Miswar Fattah. (2023). Optimasi Metode Polymerase Chain Reaction (PCR) Untuk Identifikasi Polimorfisme Gen SLCO1B1 Sebagai Farmakogen Statin. *Bandung Conference Series: Pharmacy*, 145–152. https://doi.org/10.29313/bcsp.v3i2.8381.

Sari, A. N. (2023). *Optimalisasi Fiksasi Histopatologi Menggunakan Hotplate Suhu 70°C Dengan Variasi Waktu 3 Menit, 5 Menit, dan 10 Menit di Laboratorium Sitohistoteknologi*. Poltekkes Kemenkes Jakarta III.

Shobariana, A. (2022). *Pengaruh Variasi Waktu Penundaan Larutan Fiksasi Pada Sediaan Histologi Menggunakan Natrium Klorida Fisiologis*. Poltekkes Kemenkes Jakarta III.

The Royal College of Pathologists of Australasia. (2016). *Guideline RCPA : Fixation of Tissues*. The Royal College of Pathologists of Australasia.

Wiraditya, N. E. (2023). Dampak Lama Penyimpanan Arsip Sampel Formalin-Fixed Paraffin-Embedded (FFPE) dengan Konsentrasi Ribonucleid acid (RNA) yang Diekstraksi Menggunakan Kit Komersial. *MANILKARA: Journal of Bioscience*, *1*(2), 80–85. https://doi.org/10.33830/manilkara.v1i2.4442.2023.

Yesha, V., Lestari, P., Astuti, D., & Maharani, E. A. (2024). *Potential Use Of Seaweed Agar As A Substitute For Agarose Gel In DNA Electrophoresis.*

GAMBARAN KADAR HEMOGLOBIN DAN JUMLAH ERITROSIT PADA REMAJA

Oktafirani Al Sas[1]* · Asep Munandar[2] · Alif Nabila[3]

[1,2,3]D3 Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas An Nasher Cirebon, Indonesia.
e-Mail : alsasoktafirani@gmail.com
No Tlp WA : 085224196553

Abstract

Normal Hb levels are important for optimal body function. If it is too low, it can cause anemia, whereas if it is too high, it increases the risk of circulatory disorders. Erythrocytes or red blood cells, which contain Hb, are produced by the bone marrow and play a role in oxygen transport. The balance of erythrocyte count is very important because an excess or deficiency negatively impacts health. Adolescent girls are among the vulnerable groups to anemia due to blood loss during menstruation and poor dietary habits. A poor diet, low in iron and vitamins, can hinder the production of Hb and red blood cells. Regular blood tests and a balanced diet are highly recommended to prevent anemia, especially in at-risk groups such as adolescent girls and pregnant women. This study aims to determine the hemoglobin levels and erythrocyte counts in adolescent girls. The sample examined consisted of 35 adolescent girls. The sampling technique used was purposive sampling. The research method used was a descriptive survey, with hemoglobin levels and erythrocyte counts examined using an automatic device called a hematology analyzer. From the research results, 18 adolescent girls had normal hemoglobin levels, and 17 adolescent girls had below-normal hemoglobin levels. In terms of erythrocyte counts, 29 adolescent girls had normal erythrocyte counts, 3 adolescent girls had below-normal erythrocyte counts, and 3 adolescent girls had above-normal erythrocyte counts.

***Keywords** : Anemia, Hemoglobin Levels, Red Blood Cell Count, Adolescent Girls.*

Abstrak

Kadar Hb yang normal penting untuk fungsi tubuh yang optimal. Jika terlalu rendah, dapat menyebabkan anemia, sedangkan jika terlalu tinggi, meningkatkan risiko gangguan sirkulasi. Eritrosit atau sel darah merah, yang mengandung Hb, diproduksi oleh sumsum tulang dan berperan dalam transportasi oksigen. Keseimbangan jumlah eritrosit sangat penting karena kelebihan atau kekurangannya berdampak negatif bagi kesehatan. Remaja putri termasuk kelompok rentan terhadap anemia akibat kehilangan darah saat menstruasi dan kebiasaan makan yang kurang bergizi. Pola makan yang buruk, rendah zat besi dan vitamin, dapat menghambat produksi Hb dan sel darah merah. Pemeriksaan darah secara rutin serta konsumsi gizi seimbang sangat dianjurkan untuk mencegah anemia, terutama pada kelompok berisiko seperti remaja putri dan ibu hamil. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar hemoglobin dan jumlah eritrosit pada remaja putri. Sampel yang diperiksa sebanyak 35 remaja putri. Teknik pengambilan sampel yaitu dengan *purposive sampling*. Metode penelitian yang digunakan yakni survey deskriptif, pemeriksaan kadar hemoglobin dan jumlah eritrosit menggunakan alat otomatis yaitu *hematology analyzer*. Dari hasil penelitian kadar hemoglobin 18 remaja putri memiliki kadar hemoglobin normal, dan 17 remaja putri memiliki kadar hemoglobin di bawah normal. Jumlah eritrosit 29 remaja putri memiliki jumlah eritrosit normal, 3 remaja putri memiliki jumlah eritrosit di bawah normal, dan 3 remaja putri memiliki jumlah eritrosit diatas normal.

Kata kunci: Anemia, Kadar Hemoglobin, Jumlah Eritrosit, Remaja Putri.

PENDAHULUAN

Hemoglobin (Hb) merupakan bagian dari sel darah merah yang berfungsi membawa oksigen dari paru-paru ke seluruh tubuh dan mengembalikan karbon dioksida ke paru-paru untuk dibuang. Hemoglobin mengandung zat besi yang sangat penting untuk mengikat oksigen. Jika kadar hemoglobin cukup, tubuh bisa bekerja dengan baik karena semua organ mendapatkan oksigen yang dibutuhkan. Namun, jika kadarnya terlalu rendah atau terlalu tinggi, bisa menimbulkan masalah kesehatan.

Kadar hemoglobin bisa berbeda-beda tergantung pada usia, jenis kelamin, dan kondisi tubuh seseorang. Umumnya, pria memiliki kadar hemoglobin pada pria berkisar antara 14 hingga 17,5 g/dL, sementara pada wanita antara 12,3 hingga 15,3 g/dL. Jika kadar Hb terlalu rendah, disebut anemia. Kondisi ini bisa disebabkan oleh kurang zat besi, kehilangan darah, atau gangguan pada tubuh, dan biasanya ditandai dengan lemas, pucat, dan cepat lelah. Sebaliknya, jika kadar Hb terlalu tinggi, darah menjadi lebih kental dan berisiko menyebabkan masalah seperti pembekuan darah atau stroke.

Dengan melakukan pemeriksaan Hb secara rutin, terutama bagi kelompok yang berisiko seperti remaja putri, ibu hamil, lansia, atau penderita penyakit kronis, gangguan kesehatan dapat diketahui lebih awal dan ditangani sebelum berkembang menjadi kondisi yang lebih serius.

Eritrosit, atau sel darah merah, adalah bagian dari darah yang paling banyak jumlahnya dan memiliki peran penting dalam tubuh manusia. Tugas utamanya adalah mengangkut oksigen dari paru-paru ke seluruh tubuh, serta membawa kembali karbon dioksida dari seluruh tubuh ke paru-paru untuk dikeluarkan. Dengan bantuan eritrosit, organ-organ tubuh bisa mendapatkan cukup oksigen untuk bekerja dengan baik, seperti otak, jantung, dan otot saat bergerak.

Setiap sel darah merah mengandung hemoglobin, yaitu protein yang berfungsi mengikat oksigen dan memberi warna merah pada darah. Sel darah merah diproduksi oleh sumsum tulang melalui proses yang dibantu oleh hormon

eritropoietin, yang dihasilkan oleh ginjal. Tubuh secara alami mengatur jumlah sel darah merah agar tetap seimbang, karena jika jumlahnya terlalu sedikit, tubuh bisa menjadi lemas akibat kekurangan oksigen, sedangkan jika terlalu banyak, darah menjadi lebih kental dan berisiko mengganggu sirkulasi. Secara umum, jumlah sel darah merah yang normal adalah antara 4,5 hingga 5,9 x 10^6 sel/mm^3 pada pria, sedangkan pada wanita berkisar antara 4,1 hingga 5,1 x 10^6 sel/mm^3. Pemeriksaan jumlah eritrosit ini penting untuk mengetahui kondisi kesehatan darah dan mencegah berbagai gangguan, seperti anemia maupun gangguan peredaran darah lainnya.

Jumlah sel darah merah yang cukup sangat penting untuk menjaga kesehatan dan energi sehari-hari. Kekurangan eritrosit bisa menyebabkan anemia, yang ditandai dengan gejala seperti cepat lelah, pucat, dan pusing. Sebaliknya, jika jumlahnya terlalu tinggi, bisa meningkatkan risiko penyakit jantung dan stroke. Karena itu, penting untuk menjaga pola makan sehat, cukup zat besi dan vitamin, serta memeriksakan kondisi darah secara rutin, terutama bagi mereka yang memiliki riwayat anemia atau keluhan kesehatan tertentu.

Remaja putri merupakan kelompok yang rentan mengalami anemia, terutama karena mereka mengalami menstruasi setiap bulannya. Proses menstruasi menyebabkan hilangnya darah secara rutin, yang jika tidak diimbangi dengan asupan zat besi yang memadai, dapat menurunkan kadar hemoglobin dalam darah. Selain itu, kebiasaan remaja putri dalam memilih makanan juga menjadi faktor yang mempengaruhi kondisi ini. Banyak dari mereka cenderung mengikuti tren makanan yang sedang viral, yang umumnya tinggi kalori namun rendah kandungan gizi, terutama zat besi, protein, dan vitamin penting lainnya. Pola makan seperti ini menyebabkan tubuh tidak memperoleh asupan nutrisi yang cukup untuk menunjang kebutuhan metabolisme dan proses pertumbuhan. Akibatnya, tidak jarang dijumpai remaja putri dengan postur tubuh yang sangat langsing, bahkan kekurangan berat badan, serta tampak pucat dan mudah lelah merupakan gejala klasik dari anemia.

Masa remaja merupakan fase peralihan yang menjadi jembatan antara

kehidupan anak-anak dan awal menuju kedewasaan. Dorongan untuk mengendalikan diri pada remaja berasal dari dua aspek utama. Pertama, dari pengaruh lingkungan sekitar yang terus berubah. Kedua, dari dalam diri remaja sendiri, di mana terdapat karakteristik yang membuatnya lebih rentan terhadap perubahan dibandingkan dengan tahap perkembangan lainnya (Pratama & Sari, 2021). Remaja adalah kelompok usia 10 tahun sampai berusia 18 tahun (Kemenkes, 2024).

Kebutuhan nutrisi remaja sangat tinggi karena mereka sedang dalam masa pertumbuhan dan perkembangan yang aktif. Namun, pola makan yang tidak sehat seringkali menjadi kendala, sehingga dapat menghambat potensi pertumbuhan optimal mereka. (Mokoginta *et al.*, 2016).

Kesehatan yang baik sangat bergantung pada pola makan yang sehat dan seimbang. Dengan memenuhi kebutuhan nutrisi setiap hari, kita dapat mencegah berbagai masalah kesehatan (Mokoginta *et al.*, 2016). Banyak remaja putri sangat memperhatikan penampilan fisik mereka, terutama ukuran tubuh. Hal ini sering kali membuat mereka menghindari makanan tertentu, bahkan jika makanan tersebut sebenarnya bergizi (Putri *et al.*, 2024).

Remaja putri seringkali memiliki pola makan yang buruk, ditandai dengan kebiasaan melewatkan sarapan, kurang minum air putih, dan mengonsumsi banyak makanan ringan yang kurang bergizi. Mereka cenderung lebih memperhatikan bentuk tubuh daripada kandungan nutrisi dalam makanan, sehingga sering membatasi asupan karbohidrat, vitamin, mineral, dan protein hewani (Harahap *et al.*, 2023).

Cairan merah yang dikenal sebagai darah mengalir dalam tubuh melalui jaringan sistem sirkulasi. Darah memiliki fungsi sebagai pengatur keseimbangan asam basa dalam tubuh, mengirim nutrisi ke seluruh tubuh, mengatur suhu tubuh, sebagai transportasi untuk membawa oksigen, yaitu hemoglobin, karbohidrat, dan metabolit. Darah tersusun atas dua elemen utama, yaitu unsur seluler dan plasma. Sel-sel darah, termasuk eritrosit, leukosit, dan trombosit, membentuk sekitar 45% dari total darah. Sebaliknya, plasma menyumbang

sekitar 55%, dengan kandungan utama berupa air (92%) dan sisanya (8%) terdiri dari berbagai zat seperti ion dan glukosa. Volume darah dalam tubuh manusia berbeda-beda tergantung berat badan, dengan rata-rata sekitar 7% dari berat badan total, atau berkisar antara 4 hingga 5 liter. Darah juga merupakan jaringan penghubung antara sel-sel lain untuk berkomunikasi dengan lingkungan seperti membawa oksigen, nutrisi, sekresi hormon, dan sistem kekebalan tubuh (Sitepu, 2020).

Karakteristik Komponen Darah :

1. Plasma Plasma darah adalah bagian dominan dalam darah, menyumbang sekitar 55% dari keseluruhan volume darah. Plasma darah memiliki beberapa komponen, terdiri dari 92% air, protein, faktor pembekuan darah, dan elektrolit; serum, di sisi lain, tidak mengandung faktor pembekuan darah (Sitepu, 2020).
2. Sel darah dalam tubuh berjumlah sekitar 45%, dan terdiri dari beberapa penyusun antara lain : Sel eritrosit 99%, trombosit 0,6-1% dan leukosit 0,2% (Sitepu, 2020).

Hemoglobin merupakan jenis protein yang kaya akan zat besi dan ditemukan dalam eritrosit. Fungsinya adalah untuk mengikat dan menyebarkan oksigen ke seluruh bagian tubuh. Dengan demikian, oksigen diangkut dari paru-paru menuju berbagai bagian jaringan tubuh. Hemoglobin, yang terdapat pada eritrosit, memainkan peranan penting dalam proses pengangkutan oksigen (Chen *et al.*, 2018).

Hemoglobin berperan penting dalam proses pertukaran oksigen (O2) dan karbondioksida (CO2) baik di dalam tubuh maupun di dalam sel darah merah. Sebagai contoh, hemoglobin mengikat oksigen dalam darah. Jika kadar hemoglobin menurun, hal ini dapat membahayakan kesehatan tubuh, karena sel darah merah (eritrosit) yang memberi warna merah pada darah juga dipengaruhi oleh penurunan kadar tersebut (Chen *et al.*, 2018).

Kadar hemoglobin normal yang ditetapkan oleh WHO adalah 15 g/100 ml darah, namun dapat dipengaruhi faktor seperti usia, pola makan, aktivitas, dan

latar belakang etnis, Kadar hemoglobin pada pria dewasa 13 gr/dl dan wanita dewasa 12 gr/dl (Chen *et al*., 2018).

Faktor yang Mempengaruhi Hemoglobin :

1. Jenis Kelamin Selama menstruasi, kehilangan zat besi menyebabkan kadar hemoglobin pada perempuan umumnya lebih rendah dibandingkan dengan laki-laki. Namun, pada usia enam bulan, kadar hemoglobin pada bayi perempuan justru lebih tinggi daripada bayi laki-laki. Secara keseluruhan, perempuan memiliki kadar hemoglobin yang lebih rendah, terutama pada masa menstruasi (Chen *et al*., 2018).
2. Usia Penurunan kadar hemoglobin sering terjadi pada tiga kelompok usia: anak-anak, orang tua, dan ibu hamil. Pada anak-anak, pola makan yang tidak teratur dan kurang gizi menjadi penyebab utama. Sementara itu, pada orang tua, penurunan fungsi tubuh, terutama sumsum tulang, mengakibatkan bearinrkurangnya produksi sel darah merah (Chen *et al*., 2018).
3. Aktivitas Penting untuk diingat bahwa aktivitas fisik yang terlalu intens dapat menyebabkan kerusakan pada sel darah merah serta menurunkan kadar hemoglobin dalam tubuh (Chen *et al*., 2018).
4. Kecukupan Besi dalam Tubuh Zat besi memiliki fungsi yang sangat penting untuk kesehatan tubuh, terutama dalam pembentukan hemoglobin, yaitu protein yang bertugas mengedarkan oksigen ke seluruh jaringan. Apabila tubuh kekurangan zat besi, ukuran sel darah merah dapat mengecil, dan jumlah hemoglobin pun menurun, yang bisa mengakibatkan anemia (Chen *et al*., 2018).

Kandungan besi pada orang dewasa sehat mencapai 4 gram, dengan 2,5 gram terdapat dalam hemoglobin dan 150 mg dalam myoglobin, cytochrome phorphyrin, limfa sumsum tulang, dan hati (lebih dari 200–1500 mg). Tubuh memiliki dua bagian besi: satu untuk kebutuhan metabolik dan satu lagi untuk cadangan.

Pemeriksaan Hemoglobin terdiiri atas :

1. POCT (Point of Care Testing) didefinisikan sebagai teknologi diagnostik yang dilakukan di lokasi yang berdekatan dengan pasien. Secara lebih luas, POCT mencakup jenis pemeriksaan yang dapat dioperasikan oleh tenaga kesehatan non-laboratorium, bahkan oleh pasien itu sendiri (Kurniaristi, 2020).
2. Metode Sahli dalam pemeriksaan hemoglobin memerlukan tahap inkubasi, yang bertujuan untuk memastikan terjadinya reaksi antara larutan-larutan yang digunakan hingga membentuk campuran yang homogen. Proses inkubasi ini idealnya berlangsung selama 3 hingga 5 menit (Chalisa, 2021).
3. Metode Cyanmethemoglobin Metode ini menjelaskan cara untuk menentukan kadar hemoglobin dengan menggunakan solusi Drabkin, yang terdiri dari kalium ferisianida dan kalium sianida. Kedua bahan ini berfungsi mengubah hemoglobin menjadi cyanmethemoglobin yang bersifat stabil. Salah satu keterbatasan dari metode pemeriksaan cyanmethaemoglobin terletak pada potensi gangguan akibat kekeruhan sampel, yang dapat memengaruhi keakuratan hasil pengukuran (Adolph, 2016).
4. *Hematology analyzer* memiliki sejumlah kelebihan, antara lain tingkat presisi yang tinggi serta kemampuan untuk menganalisis banyak sampel secara simultan. Meskipun demikian, penggunaan alat ini menuntut pemeliharaan berkala, pelaksanaan kalibrasi secara rutin, serta keterlibatan tenaga teknis yang terlatih dalam pengoperasiannya (Fauzi *et al*., 2024).

Eritrosit, atau lebih dikenal sebagai sel darah merah, merupakan elemen penting dalam komposisi darah. Sel-sel ini memiliki bentuk cakram yang cekung di kedua sisinya, berukuran sangat kecil, dan tidak memiliki inti. Tugas utama eritrosit adalah mengangkut oksigen ke seluruh tubuh, yang dilakukan dengan bantuan hemoglobin, sebuah protein yang mengandung zat besi. Pembentukan eritrosit berlangsung di dalam sumsum tulang (Febriyanto *et al*., 2023).

Pemeriksaan Hitung Jumlah Eritrosit :

1. Metode Manual Penghitungan sel darah merah secara manual memerlukan larutan pengencer yang isotonik, anti-hemolisis, anti-krenasi, anti-koagulan, anti-agregasi, dan anti-rouleaux untuk menjaga integritas sel dan

memungkinkan visualisasi morfologi sel. Larutan pengencer seperti Hayem, Salline, Ressecker, dan Gower juga digunakan (Febriyanto *et al*., 2023).

2. Metode Otomatis Metode otomatis untuk menghitung sel darah merah memang lebih praktis dan cepat, namun membutuhkan biaya perawatan yang lebih tinggi serta penanganan alat yang sangat hati-hati (Febriyanto *et al*., 2023).

Kekurangan darah atau anemia adalah sebuah masalah kesehatan yang muncul saat tubuh tidak memiliki cukup sel darah merah atau hemoglobin (Chen *et al*., 2018).

Anemia di kalangan remaja perempuan merupakan masalah kesehatan yang kompleks dengan banyak penyebab. Selain kekurangan zat besi akibat pola makan yang tidak seimbang dan rendahnya asupan suplemen zat besi, terdapat juga beberapa faktor lain yang berkontribusi, seperti siklus menstruasi yang tidak teratur, gangguan sistem kekebalan tubuh, penyakit kronis, masalah pada sumsum tulang, dan faktor genetik. Di samping itu, kurangnya pemahaman remaja mengenai anemia dan pentingnya asupan zat besi, serta kebiasaan mengonsumsi teh setelah makan yang menghambat penyerapan zat besi, semakin memperburuk situasi ini (Alfian *et al*., 2023).

Kekurangan zat besi dapat mengakibatkan suatu kondisi yang disebut Anemia Defisiensi Besi (ADB), yang merupakan jenis anemia yang paling sering ditemui, terutama di negara-negara yang masih berkembang. Ketidakcukupan zat besi ini mengganggu proses pembentukan hemoglobin, yang berdampak pada penurunan jumlah sel darah merah, sehingga memicu terjadinya anemia (Febriani & Sijid, 2021).

Pencegahan anemia tidak hanya terbatas pada penggunaan obat-obatan seperti tablet besi atau suntikan. Meskipun obat-obatan dapat membantu meningkatkan kadar hemoglobin, namun cara yang lebih alami dan aman adalah dengan memperbaiki pola makan. Dengan mengonsumsi makanan yang tinggi kandungan zat besi, tubuh akan memperoleh asupan zat besi yang diperlukan secara alami. Selain itu, penting untuk dicatat bahwa makanan yang kaya akan

vitamin C dapat meningkatkan efisiensi penyerapan zat besi dalam tubuh. Edukasi tentang gizi yang baik sangat penting untuk meningkatkan kesadaran masyarakat tentang pentingnya zat besi bagi kesehatan dan cara mendapatkannya dari makanan. Dengan demikian, kita dapat mencegah anemia secara efektif dan mengurangi ketergantungan pada obat-obatan (Chen *et al.*, 2018).

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini menerapkan pendekatan kuantitatif dengan desain deskriptif dan cross-sectional. Populasi penelitiannya adalah remaja putri usia 15-18 tahun dengan jumlah 140 remaja putri di Madrasah Aliyah Ash-Shiddiqiyyah. Menggunakan teknik purposive sampling dan didapatkan 35 sampel remaja putri, dengan kriteria tidak sedang menstruasi, usia 15-18 tahun dan tidak memiliki penyakit yang dapat mempengaruhi pemeriksaan. Teknik pengumpulan data primer melalui uji laboratorium dan data sekunder didapatkan melalui kuesion penelitian dilaksanakan di Puskesmas Watubelah Kabupaten Cirebon. Analisis data menggunakan aplikasi statistik yaitu dengan uji statistik sederhana.

Cara Kerja

Prosedur Pengambilan Sampel

1. Memasangkan torniket pada jarak sekitar 4–5 jari di atas lokasi tusukan vena yang dipilih, kemudian alcohol swab pada bagian vena yang dipilih.
2. Memasukkan jarum ke dalam vena yang telah dipilih dengan posisi lubang jarum menghadap ke atas dan kemiringannya sekitar 30 derajat.
3. menarik piston jarum suntik untuk mengumpulkan darah ke dalam tabung hingga cukup.
4. Setelah darah cukup, menarik jarum secara perlahan dan menggunakan plester untuk menutupi bagian yang ditusuk.
5. Masukkan darah yang diperoleh dari vena ke dalam tabung yang berisi EDTA.

Prosedur Pemeriksaan Hb dan eritosit

1. Pengambilan sampel & Labeling.

2. Darah dicampur secara merata dengan menggoyangkan tabung beberapa kali untuk memastikan sel darah tersebar dengan baik.

HASIL

Tabel 1. Analisis Persentase Kadar Hemoglobin

	Frequency	Percent	Valid	Cumulative Percent
Valid Normal	18	51.4	51.4	51.4
< Normal	17	48.6	48.6	100.0
Total	35	100.0	100.0	

Tabel 2. Analisis Persentase Jumlah Eritrosit

	Frequency	Percent	Valid	Cumulative Percent
Valid Normal	29	82.8	82.8	82.8
< Normal	3	8.6	8.6	91.4
> Normal	3	8.6	8.6	100.0
Total	35	100.0	100.0	

Berdasarkan Gambar 1 Diagram persentase kadar hemoglobin menunjukkan bahwa terdapat 51% remaja putri yang mempunyai kadar hemoglobin yang normal, sedangkan 49% remaja putri mempunyai kadar hemoglobin yang kurang dari normal. Pada gambar 2 diagram persentase jumlah eritrosit menunjukkan bahwa terdapat 82% remaja putri mempunyai jumlah eritrosit yang normal, 9% remaja putri mempunyai jumlah eritrosit kurang dari normal, dan 9% remaja putri mempunyai jumlah eritrosit lebih dari normal.

DISKUSI

Penelitian ini ialah penelitian yang bersifat deskriptif yaitu hanya menjelaskan kadar hemoglobin dan jumlah eritrosit pada remaja putri di Madrasah Aliyah Ash Shiddiqiyyah menggunakan metode *hematology analyzer* di Laboratorium Puskesmas Watubelah. Penelitian ini hanya didapatkan 35 sampel

remaja putri usia 15-18 tahun di Madrasah Aliyah Ash Shiddiqiyyah.

Pemeriksaan yang dilakukan pada penelitian kadar hemoglobin dan jumlah eritrosit pada remaja putri dari 35 sampel yang diperiksa dapat diketahui kadar hemoglobin dan jumlah eritrositnya. Kadar hemoglobin tertinggi adalah 14,2 g/dl dan terendah adalah 8,8 g/dl dengan rata-rata 12 g/dl. Pada jumlah eritrosit tertinggi adalah 5,3 juta/mikroliter dan terendah adalah 3,8 juta/mikroliter dengan rata-rata 4,6 juta/mikroliter.

Hasil penelitian saya memperlihatkan bahwasanya sebagian besar remaja putri mempunyai kadar hemoglobin dan jumlah eritrosit yang normal. Sebanyak 18 responden (51%) mempunyai kadar hemoglobin normal serta 29 responden (82%) memiliki jumlah eritrosit normal. Ini kemungkinan besar karena sebagian besar dari mereka rutin mengonsumsi tablet tambah darah serta rajin makan sayur, buah, kacang-kacangan, dan daging. Namun, ada juga 17 responden (49%) yang kadar hemoglobinnya di bawah normal, 3 responden (9%) memiliki jumlah eritrosit di bawah normal, dan 3 responden (9%) yang jumlah eritrositnya diatas normal. Kondisi ini bisa jadi disebabkan oleh remaja putri yang tidak rutin minum tablet tambah darah serta tidak menjaga pola makannya.

Penelitian ini mendukung hasil studi Meitasari (2022) yang mengkaji hubungan antara kepatuhan minum tablet tambah darah (TTD) serta kadar hemoglobin pada remaja putri. Mayoritas (61,7%) remaja perempuan dalam studi Meitasari mempunyai kadar hemoglobin di bawah 12 g/dL, suatu kondisi yang dikenal sebagai anemia, sementara 38,3% memiliki kadar hemoglobin normal. Lebih lanjut, dari kelompok yang anemia, sebagian besar (90,3% atau 28 orang) tidak rutin minum TTD. Sebaliknya, dari kelompok yang tidak anemia, sebagian besar (87,5% atau 14 orang) patuh minum TTD. Temuan ini dengan jelas menunjukkan bahwa kepatuhan dalam mengonsumsi TTD sangat memengaruhi risiko anemia. Kadar hemoglobin yang rendah 6,7% lebih sering terjadi pada remaja putri yang tidak patuh meminum TTD sesuai resep dibandingkan dengan remaja putri yang meminumnya (Meitasari *et al*., 2022).

Studi sebelumnya telah mengaitkan kadar hemoglobin remaja putri dengan

konsumsi protein, zat besi, serta vitamin C, juga siklus serta lama menstruasi. Temuan studi tersebut menunjukkan adanya korelasi positif antara konsumsi zat besi serta kadar hemoglobin. Maksudnya, peningkatan asupan zat besi cenderung diikuti oleh meningkatnya kadar hemoglobin, meskipun tingkat hubungan yang ditemukan tergolong lemah (Ayu Silvia, Apoina Kartini, 2019).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa dari 34 remaja putri yang disurvei, hampir semuanya (97%) mengaku mengonsumsi makanan cepat saji. Dalam kelompok ini, 18 responden 51% mempunyai kadar hemoglobin normal, sementara 17 responden 49% mampunyai kadar hemoglobin di bawah normal. Temuan ini didukung oleh penelitian Manila dan Hartati Deri, yang menemukan bahwa sekitar separuh responden (50,9%) mengalami anemia, dan sebagian besar dari mereka (43,4%) mempunyai pola makan yang kurang baik. Anemia pada remaja tidak hanya diakibatkan oleh kebiasaan makan yang kurang baik. Ini terlihat dari studi yang menunjukkan ada 4 responden (7,5%) yang tetap mengalami anemia, padahal pola makan mereka sudah baik. Artinya, ada faktor lain selain pola makan yang bisa menyebabkan anemia. Contohnya, asupan vitamin B12, protein, serta asam folat yang kurang dalam makanan (Manila, 2021).

Anemia umumnya ditandai dengan gejala seperti mudah merasa lelah, tubuh terasa lemas, sering pusing, penglihatan kabur, serta kulit tampak pucat. Beberapa faktor, termasuk pendarahan yang berlebihan, kadar zat besi yang rendah, serta kekurangan asam folat, vitamin B12, dan vitamin C, bisa menyebabkan penyakit ini. Selain itu, beberapa gangguan (seperti leukemia, penyakit kronis, infeksi cacing, ataupun malaria), nutrisi yang tidak memadai, menstruasi yang berat, pendidikan orang tua yang rendah, ketidaktahuan mengenai nutrisi, serta kesulitan ekonomi ialah variabel lain yang bisa memengaruhi kesehatan anak (Muhayari & Ratnawati, 2015).

KESIMPULAN

Berdasarkan dari hasil penelitian dan pembahasan mengenai kadar hemoglobin dan jumlah eritrosit pada remaja putri dapat disimpulkan bahwa:

1. Kadar hemoglobin pada 18 remaja putri memiliki kadar hemoglobin normal dan 17 remaja putri memiliki kadar hemoglobin di bawah normal.
2. Jumlah Eritrosit pada 29 remaja putri memiliki jumlah eritrosit normal, 3 remaja putri memiliki jumlah eritrosit di bawah normal, dan 3 remaja putri memiliki jumlah eritrosit diatas normal.

UCAPAN TERIMAKASIH

Puji syukur kami panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penelitian ini dapat diselesaikan dengan baik. Kami mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan dan bantuan selama proses penelitian ini berlangsung. Terima kasih kami sampaikan kepada pihak-pihak yang telah bersedia menjadi partisipan dalam penelitian ini, sehingga data dapat terkumpul dengan lengkap dan valid. Kami juga berterima kasih kepada pembimbing yang dengan sabar memberikan arahan, motivasi, dan ilmu pengetahuan selama penyusunan manuskrip ini. Tidak lupa kepada keluarga dan teman-teman yang selalu memberikan semangat dan dukungan moril, sehingga kami bisa menyelesaikan tugas ini dengan baik. Semoga hasil penelitian ini dapat memberikan kontribusi positif bagi perkembangan ilmu kesehatan, khususnya dalam memahami kondisi hematologis remaja di Indonesia, serta bermanfaat bagi pembaca dan peneliti selanjutnya.

REFRENSI

Adolph, R. (2016). *Hemoglobin dan Pestisida*. 1–23.

Alfian, Y., Malik, M. O., & Arfania, M. (2023). Penyebab Anemia Pada Remaja Puteri. *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*, *2023*(6), 649–657. https://doi.org/10.5281/zenodo.7790245

Ayu Silvia, Apoina Kartini, S. A. N. (2019). *HUBUNGAN ASUPAN ZAT GIZI (PROTEIN, ZAT BESI, VITAMIN C) DAN POLA (SIKLUS, LAMA) MENSTRUASI DENGAN KADAR HEMOGLOBIN (Studi pada Remaja Putri di SMK Negeri 10 Semarang)*. *7*, 504–516.

Chalisa. (2021). Perbedaan Hasil Pemeriksaan Kadar Hemoglobin (Hb) Metode Sahli Dan Point Of Care Testing (POCT). *Naskah Pullikasi*, *2*(2), 98–115.

Chen, Tsai, M. Y. (2018). Hemoglobin. *Nucleic Acids Research*, *6*(1), 1–7.

Fauzi, A., Novilla, A., Ratna, N., & Iis, N. (2024). *Perbandingan Kadar Hemoglobin Menggunakan POCT (Point Care Of Testing) dengan Alat Hematology Analyzer Pada Pasien Normal dan Anemia Abstrak*. *16*(September), 386–394.

Febriani, A. Y. U., & Sijid, S. T. A. (2021). *Review : Anemia Defisiensi Besi*. *November*, 137–142.

Febriyanto, T., Sahidan, S., & Windy Juny Elzy, A. (2023). Gambaran Pemeriksaan Hitung Jumlah Eritrosit Metode Hematologi Analyzer Dan Mikroskopik Larutan Gower. *Jurnal Fatmawati Laboratory & Medical Science*, *3*(2), 69–81. https://doi.org/10.33088/flms.v3i2.558

Harahap, A. N., Purba, R., & Nainggolan, E. S. (2023). Literature Review: Efektivitas Program Tablet Tambah Darah dan Asupan Protein dalam Pencegahan Anemia pada Remaja Putri. *Media Gizi Ilmiah Indonesia*, *1*(1), 33–42. https://doi.org/10.62358/mgii.v1i1.9

Kemenkes. (2024). *Peraturan Kesehatan Republik Indonesia Nomor 25 Tahun 2014*. 1–19. www.hukumonline.com

Kurniaristi, A. (2020). *Pengaruh Penundaan Waktu Terhadap Kadar Gula Darah Sewaktu Dengan Metode Poct (Point Of Care Testing)*. 5–16.

Manila, H. D. (2021). Hubungan Pola Makan Dengan Kejadian Anemia Pada Remaja Putri Kelas X Sma Murni Padang. *Jurnal Kesehatan Saintika Meditory*, *4*(1), 77. https://doi.org/10.30633/jsm.v4i1.1033

Meitasari, A. A. Y. U., Studi, P., Gizi, I., Kesehatan, F. I., & Surakarta, U. M. (2022). *HUBUNGAN KEPATUHAN KONSUMSI TABLET TAMBAH DARAH*.

Mokoginta, F. S., Budiarso, F., & Manampiring, A. E. (2016). Gambaran pola asupan makanan pada remaja di Kabupaten Bolaang Mongondow Utara Kandidat Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado gizi , dan sangat penting untuk memenuhi Tercapainya gizi seimbang dapat bermanfaat untuk mencegah terjadin. *Jurnal E-Biomedik (EBm)*, *4*, 2.

Muhayari, A., & Ratnawati, D. (2015). Hubungan Antara Status Gizi Dengan Kejadian Anemia. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, *4*(4), 563–570.

Pratama, D., & Sari, Y. P. (2021). Karakteristik Perkembangan Remaja | Jurnal Edukasimu. *Edukasimu.Org*, *1*(3), 1–9. http://edukasimu.org/index.php/edukasimu/article/view/49

Putri, S. K., Jeki, A. G., & Fatmawati, T. Y. (2024). Status Gizi, Tingkat Konsumsi Zat Gizi Besi (Fe) dan Siklus Menstruasi Dengan Kejadian Anemia Remaja Putri. *Jurnal Diskursus Ilmiah Kesehatan*, *2*(1), 9–15. https://doi.org/10.56303/jdik.v2i1.155

Sitepu, P. M. D. A. S. S. N. T. H. S. S. W. (2020). Hitung Jumlah Eritrosit. *Journal GEEJ*, *7*(2), 7–18.

SENSITIVITAS PCR GEN IS6110 DALAM DETEKSI *Mycobacterium tuberculosis* PADA PASIEN HIV/AIDS DENGAN BTA NEGATIF: STUDI VALIDASI DENGAN GENEXPERT

Suwarny[1]* · Sugireng[1] · Mursidin[1]

[1] Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Mandala Waluya, Provinsi Sulawesi Tenggara, Indonesia

e-Mail: suwarny73@gmail.com
No Tlp WA : 082323261773

Abstract

Tuberculosis (TB) remains the leading opportunistic infection in HIV/AIDS patients with immunosuppression, where conventional Acid-Fast Bacilli (AFB) microscopy frequently yields false-negative results. This study aimed to analyze the sensitivity of Polymerase Chain Reaction (PCR) targeting the IS6110 gene in detecting Mycobacterium tuberculosis among HIV/AIDS patients with negative AFB results, using GeneXpert as the reference standard. A descriptive analytical cross-sectional study was conducted on 5 HIV/AIDS patients with suspected TB at Lepo-Lepo Primary Health Center from January to May 2025. Sputum samples were examined using Ziehl-Neelsen staining and GeneXpert Molecular Rapid Test, while blood samples were analyzed by PCR using IS6110 gene-specific primers. DNA extraction utilized Geneaid kit, amplification followed standard protocol (35 cycles), and visualization through 2% agarose gel electrophoresis. All samples showed negative AFB results but were positive for MTB (detected low) on GeneXpert examination. PCR analysis detected IS6110 gene in all blood samples (100%), demonstrated by DNA band formation at 123 bp with concentrations ranging 0.472-89.39 µg/mL. The 2×2 diagnostic table showed perfect concordance (true positive=5, false negative=0), yielding PCR sensitivity of 100%. PCR method targeting IS6110 gene demonstrates very high sensitivity in detecting M. tuberculosis in HIV/AIDS patients with negative AFB results, showing perfect concordance with GeneXpert, making it an effective molecular diagnostic alternative for high-risk populations with paucibacillary manifestations.
***Keywords** : Tuberculosis, HIV/AIDS, IS6110, PCR sensitivity, GeneXpert*

Abstrak

Tuberkulosis (TB) merupakan infeksi oportunistik utama pada pasien HIV/AIDS dengan sistem imun yang tersupresi, dimana pemeriksaan Bakteri Tahan Asam (BTA) konvensional sering memberikan hasil negatif palsu. Penelitian ini bertujuan menganalisis sensitivitas metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan target gen IS6110 dalam mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* pada pasien HIV/AIDS dengan hasil BTA negatif, menggunakan GeneXpert sebagai standar referensi. Penelitian deskriptif analitik dengan desain *cross-sectional* dilakukan terhadap 5 pasien HIV/AIDS dengan suspek TB di Puskesmas Lepo-Lepo periode Januari-Mei 2025. Sampel sputum diperiksa menggunakan metode pewarnaan *Ziehl-Neelsen* dan Tes Cepat Molekuler (TCM) GeneXpert, sedangkan sampel darah dianalisis dengan PCR menggunakan primer spesifik gen IS6110. Ekstraksi DNA menggunakan kit Geneaid, amplifikasi mengikuti protokol standar (35 siklus), dan visualisasi melalui elektroforesis gel agarosa 2%. Seluruh sampel menunjukkan hasil BTA negatif namun positif MTB (*detected low*) pada pemeriksaan GeneXpert. Analisis PCR mendeteksi gen IS6110 pada semua sampel darah (100%), ditunjukkan dengan pembentukan pita DNA berukuran 123 bp dengan konsentrasi berkisar 0,472-89,39 µg/mL. Tabel diagnostik 2×2 menunjukkan konkordansi sempurna (*true positive*=5, *false negative*=0), menghasilkan nilai sensitivitas PCR sebesar 100%. Metode PCR dengan target gen IS6110 memiliki sensitivitas sangat

tinggi dalam mendeteksi *M. tuberculosis* pada pasien HIV/AIDS dengan hasil BTA negatif dan menunjukkan konkordansi sempurna dengan GeneXpert, sehingga dapat menjadi alternatif diagnostik molekuler yang efektif untuk populasi berisiko tinggi dengan manifestasi *paucibacillary*..
Kata Kunci : tuberkulosis, HIV/AIDS, IS6110, sensitivitas PCR, geneXpert

PENDAHULUAN

Tuberkulosis (TB) tetap menjadi masalah kesehatan terbesar secara global, khususnya pada pasien dengan infeksi HIV/AIDS yang mengalami penurunan daya tahan tubuh. Menurut *World Health Organization* (2022), TB merupakan penyebab utama kematian di antara pasien HIV/AIDS dengan tingkat ko-infeksi yang tinggi, khususnya di wilayah endemik seperti di Indonesia. Pasien HIV/AIDS memiliki risiko 20 kali lebih tinggi untuk mengidap TB aktif dibandingkan populasi umum, dikarenakan penurunan jumlah sel CD4 yang mengakibatkan gagal mempertahankan bakteri TB dalam keadaan laten, sehingga memicu progresinya menjadi penyakit TB aktif (Muna & Cahyati, 2019).

Deteksi TB pada pasien HIV/AIDS menimbulkan masalh tersendiri, karena gejala klinis sering tidak khas dan beban bakteri dalam sputum cenderung rendah (*paucibacillary*). Metode konvensional seperti pemeriksaan mikroskopis Bakteri Tahan Asam (BTA) memiliki sensitivitas rendah, sehingga sering memberikan hasil negatif palsu (Dewi et al., 2019). Hal ini menyebabkan keterlambatan diagnosis dan pengobatan, yang berdampak buruk pada prognosis pasien maupun potensi penularan penyakit.

Perkembangan teknologi molekuler, khususnya *Polymerase Chain Reaction* (PCR), menawarkan solusi potensial untuk meningkatkan akurasi diagnostik TB pada pasien HIV/AIDS. Gen IS6110 (*Insertion Sequence* 6110) merupakan elemen penyisipan yang eksklusif ditemukan pada *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTBC) dengan jumlah kopi 10-20 per genom, menjadikannya target molekuler yang ideal untuk deteksi spesifik (Mitani et al., 2016). Keberadaan *multiple copies* IS6110 dalam genom *M. tuberculosis* meningkatkan sensitivitas amplifikasi PCR, memungkinkan deteksi hingga 20 sel bakteri atau setara 100 pg DNA (Adhyatma et al., 2020).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa PCR dengan target IS6110 memiliki sensitivitas 55-90% dengan waktu deteksi kurang dari 24 jam, jauh melampaui metode mikroskopis konvensional (Apriyani, 2024). Namun, implementasi PCR sebagai alat diagnostik rutin di Indonesia masih terbatas, terutama di fasilitas kesehatan primer dengan akses terbatas terhadap teknologi GeneXpert yang lebih mahal.

Data epidemiologi dari Dinas Kesehatan Provinsi Sulawesi Tenggara tahun 2021 mencatat 949 kasus HIV/AIDS, dengan Puskesmas Lepo-Lepo menjadi salah satu fasilitas dengan jumlah pasien terbanyak (38 kasus pada periode Januari-Mei 2025). Tingginya prevalensi ko-infeksi TB-HIV di wilayah ini menuntut pengembangan algoritma diagnostik yang lebih akurat dan hemat biaya (*cost-effective*). Penelitian ini bertujuan menganalisis sensitivitas metode PCR dengan target gen IS6110 dalam mendeteksi *M. tuberculosis* pada pasien HIV/AIDS dengan hasil BTA negatif, menggunakan GeneXpert sebagai standar referensi, serta memberikan rekomendasi implementasi diagnostik molekuler yang dapat diterapkan di fasilitas kesehatan dengan sumber daya terbatas.

BAHAN DAN METODE

Populasi penelitian adalah seluruh pasien HIV/AIDS yang tercatat di Puskesmas Lepo-Lepo peride Januari – Mei 2025 sebanyak 38 pasien. Sampel dipilih menggunakan teknik *purposive sampling* dengan kriteria inklusi: (1) pasien HIV/AIDS terkonfirmasi secara serologis, (2) hasil pemeriksaan BTA negatif, (3) bersedia berpartisipasi dalam penelitian dengan menandatangani *informed consent*. Berdasarkan hal di atas diperoleh 5 responden yang memenuhi kriteria penelitian.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi sampel sputum pagi dan darah vena pasien HIV/AIDS, Kit Isolasi DNA Geneaid (*Genomic DNA Mini Kit*), *Proteinase K*, *Phosphate Buffered Saline* (PBS), GSB *buffer*, etanol absolut, W1 *buffer*, *Wash buffer*, *Elution buffer*, primer forward IS6110 (5'-CTCGTCCAGCGCCGCTTCGG-3'), primer reverse IS6110 (5'-CCTGCGAGCGTAGGCGTCGG-3'), *GoTaq Green Master Mix*, agarosa, buffer TAE

(*Tris Acetate EDTA*) 1X pH 8, *gel red*, *aquabides*, dan reagen pewarnaan *Ziehl-Neelsen*. Adapun peralatan yang digunakan Peralatan yang digunakan meliputi *thermocycler* PCR, *microcentrifuge*, spektrofotometer UV-Vis, perangkat elektroforesis horizontal, *UV transilluminator*, *laminar air flow*, *waterbath*, *vortex*, mikropipet (10 µL, 100 µL, 1000 µL), *tips* steril, tabung *eppendorf*, *hot plate*, neraca analitik, dan mikroskop cahaya.

Prosedur penelitian di laksanakan dalam beberapa tahapan di antaranya adalah:

1. Pemeriksaan BTA dan TCM GeneXpert
   Sampel sputum pagi dikumpulkan dalam wadah steril bervolume 50 mL. Pemeriksaan BTA dilakukan menggunakan metode pewarnaan *Ziehl-Neelsen* dengan protokol standar sesuai pedoman nasional Program Pengendalian Tuberkulosis. TCM GeneXpert MTB/RIF dilakukan sesuai instruksi manufaktur Cepheid untuk deteksi simultan *M. tuberculosis* dan resistensi rifampisin.
2. Ekstraksi DNA
   Sampel darah vena sebanyak 3 mL dikoleksi menggunakan tabung EDTA. Ekstraksi DNA dilakukan menggunakan Geneaid DNA Extraction Kit dengan prosedur: (1) transfer 200 µL darah ke tabung *eppendorf* dan tambahkan 20 µL *Proteinase K* serta 200 µL PBS, (2) inkubasi pada *waterbath* 60°C selama 5 menit, (3) tambahkan 200 µL GSB *buffer* dan inkubasi kembali pada 60°C selama 5 menit dengan pembalikan berkala, (4) tambahkan 200 µL etanol absolut dan *vortex* 10 detik, (5) transfer larutan ke kolom GS dan sentrifugasi 12.000 rpm selama 1 menit, (6) pencucian menggunakan 400 µL W1 *buffer* dan 600 µL *Wash buffer* dengan sentrifugasi berturut-turut, (7) sentrifugasi kering selama 3 menit, (8) elusi DNA menggunakan 100 µL *Elution buffer* dengan sentrifugasi 12.000 rpm selama 2 menit (Apriyani, 2024).
3. Pengukuran Konsentrasi DNA
   Konsentrasi dan kemurnian DNA diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm. Konsentrasi DNA

dihitung menggunakan rumus: [DNA] = A_{260} × 50 µg/mL × faktor pengenceran. Rasio kemurnian DNA ditentukan melalui perbandingan A_{260}/A_{280}, dengan nilai ideal berkisar 1,8-2,0 untuk DNA murni.

4. Amplifikasi PCR

   Reaksi PCR dilakukan dalam volume total 12,5 µL menggunakan GoTaq Green Master Mix dengan komposisi: 6,25 µL *master mix*, 0,5 µL primer forward (10 µM), 0,5 µL primer reverse (10 µM), 3,25 µL *nuclease-free water*, dan 2 µL DNA template. Protokol amplifikasi menggunakan *thermocycler* dengan program: predenaturasi 95°C selama 2 menit, diikuti 35 siklus yang terdiri dari denaturasi 95°C selama 30 detik, *annealing* 55°C selama 30 detik, ekstensi 72°C selama 15 detik, dan ekstensi akhir 72°C selama 5 menit (Adhyatma et al., 2020).

5. Elektroforesis dan Visualisasi

   Produk PCR dianalisis melalui elektroforesis gel agarosa 2% yang dibuat dengan melarutkan 0,30 gram agarosa dalam 15 mL buffer TAE 1X pH 8. Setelah pemanasan hingga mendidih dan pendinginan hingga 60°C, ditambahkan 1 µL *gel red*. Elektroforesis dilakukan pada tegangan 100 volt selama 60 menit. Visualisasi pita DNA dilakukan menggunakan *UV transilluminator* dan dokumentasi dengan sistem *gel documentation*. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya pita DNA spesifik pada ukuran 123 *base pair* (bp).

6. Analisis Data

   Sensitivitas metode PCR dihitung menggunakan tabel diagnostik 2×2 dengan formula: Sensitivitas = [TP / (TP + FN)] × 100%, dimana TP (*true positive*) adalah jumlah sampel positif pada PCR dan GeneXpert, sedangkan FN (*false negative*) adalah jumlah sampel negatif pada PCR tetapi positif pada GeneXpert. Data disajikan dalam bentuk tabel dan gambar dengan deskripsi naratif.

7. Pernyataan Etik

   Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik dari institusi terkait dan *informed consent* dari seluruh responden dengan menjamin

konfidensialitas data sesuai prinsip *autonomy*, *beneficence*, *non-maleficence*, dan *justice*

HASIL

1. Karakteristik Responden

Penelitian ini melibatkan 5 pasien HIV/AIDS dengan suspek TB yang memenuhi kriteria inklusi. Distribusi responden berdasarkan jenis kelamin menunjukkan predominasi laki-laki sebanyak 4 orang (80%) dan perempuan 1 orang (20%). Rentang usia responden berada pada kelompok produktif, dengan mayoritas berusia 21-31 tahun sebanyak 4 orang (80%) dan kelompok usia 29-30 tahun sebanyak 1 orang (20%).

2. Hasil Pemeriksaan BTA dan TCM GeneXpert

Tabel 1 menunjukkan distribusi hasil pemeriksaan BTA dan TCM *GeneXpert* pada seluruh sampel penelitian.

Tabel 1. Distribusi Hasil Pemeriksaan BTA dan TCM GeneXpert dalam Deteksi *Mycobacterium tuberculosis*

Metode	Positif n (%)	Negatif n (%)	Total
BTA (Ziehl-Neelsen)	0(0)	5 (100)	5
TCM GeneXpert	5 (100)	0 (0)	5

Seluruh sampel (100%) menunjukkan hasil BTA negatif pada pemeriksaan mikroskopis *Ziehl-Neelsen*, namun terdeteksi positif MTB dengan kategori *detected low* pada TCM GeneXpert. Pola ini mengindikasikan kondisi *paucibacillary* yang khas pada pasien HIV/AIDS dengan imunosupresi, dimana jumlah bakteri dalam sputum berada di bawah ambang deteksi mikroskopis (5.000-10.000 bakteri/mL) namun masih dapat dideteksi melalui amplifikasi molekuler GeneXpert (minimal 131 bakteri/mL).

3. Hasil Analisis Molekuler PCR

Hasil pengukuran konsentrasi DNA dari sampel darah kelima responden disajikan pada Tabel 2.

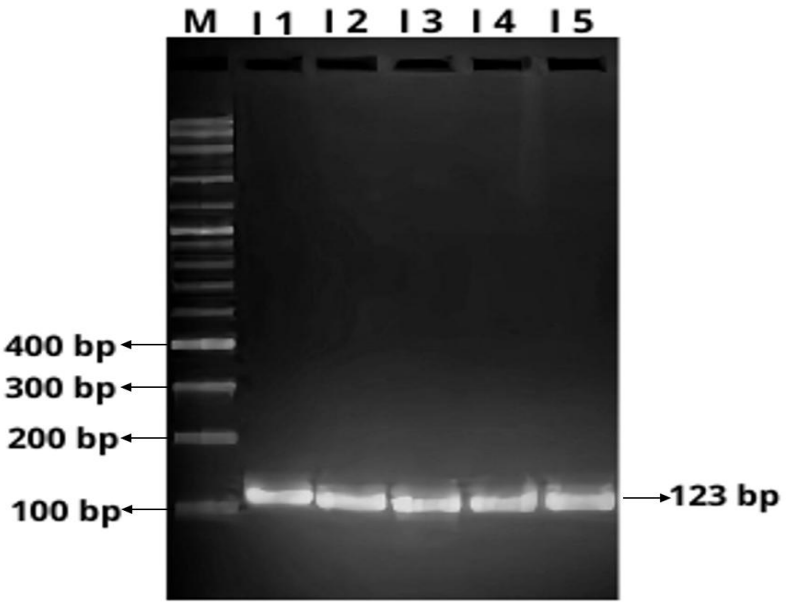
Tabel 2. Hasil Pengukuran Konsentrasi dan Kemurnian DNA Menggunakan Spektrofotometer

Kode sampel	Absorbansi λ_{260}	Absorbansi λ_{280}	Konsentrasi DNA (µg/mL)	Rasio A_{260}/A_{280}
I1	0,073	0,072	0,472	1,086
I2	3,442	3,247	89,39	1,068
I3	3,400	3,256	86,80	1,050
I4	3,394	3,280	85,38	1,039
I5	3,412	3,263	87,21	1,052

Konsentrasi DNA berkisar antara 0,472-89,39 µg/mL dengan rata-rata 69,85 µg/mL. Sampel I2 memiliki konsentrasi tertinggi (89,39 µg/mL), sedangkan sampel I1 memiliki konsentrasi terendah (0,472 µg/mL). Rasio kemurnian DNA (A_{260}/A_{280}) berada pada rentang 1,039-1,086, sedikit di bawah standar ideal (1,8-2,0) yang mengindikasikan kemungkinan kontaminasi protein residual atau etanol. Meskipun demikian, seluruh sampel tetap dapat diamplifikasi dengan sukses mengingat sensitivitas tinggi metode PCR dan toleransi enzim *Taq polymerase* terhadap kontaminan minor.

4. Deteksi Gen IS6110 Melalui Amplifikasi PCR

Hasil amplifikasi PCR divisualisasikan melalui elektroforesis gel agarosa 2% dan dokumentasi menggunakan UV transilluminator seperti ditampilkan pada gambar 1.



Gambar 1. Visualisasi elektroforesis produk PCR Gen IS6110. M = *DNA Marker*, I1–I5 = sampel pasien HIV/AIDS. Pita DNA spesifik berukuruan 123 bp terdeteksi pada seluruh sampel, mengonfirmasi keberadaan *M. tuberculosis*

Visualisasi gel elektroforesis menunjukkan pembentukan pita DNA yang jelas dan spesifik pada ukuran 123 bp di seluruh sampel (I1-I5), mengonfirmasi keberadaan gen IS6110 sebagai penanda eksklusif *M. tuberculosis*. Intensitas pita yang relatif homogen mengindikasikan keberhasilan amplifikasi PCR meskipun dengan konsentrasi dengan konsentrasi DNA template yang bervariasi.

5. Analisis Sensitivitas PCR

Perbandingan hasil PCR dengan TCM GeneXpert sebagai standar referensi disajikan dalam tabel diagnostik 2×2 (Tabel 3).

Tabel 3. Tabel Diagnostik 2×2 Perbandingan PCR dengan TCM GeneXpert

	TCM GeneXpert Positif	**TCM GeneXpert Negatif**	**Total**
PCR Positif	5 (*True Positive*)	0 (*False Positive*)	5
PCR Negatif	0 (*False Negative*)	0 (*True Negative*)	0
Total	5	0	5

Berdasarkan tabel diagnostik 2×2, diperoleh nilai *true positive* (TP) = 5 dan *false negative* (FN) = 0. Perhitungan sensitivitas menggunakan formula:

$$\textbf{Sensitivitas} = \left[\frac{TP}{(TP + FN)}\right] \times 100\%$$

$$\textbf{Sensitivitas} = \left[\frac{\mathbf{5}}{(\mathbf{5}+\mathbf{0})}\right] \times \mathbf{100\%}$$
$$= \mathbf{100\%}$$

Hasil analisis menunjukkan konkordansi sempurna (100%) antara metode PCR gen IS6110 dengan TCM GeneXpert dalam mendeteksi *M. tuberculosis* pada pasien HIV/AIDS dengan hasil BTA negatif. Tidak terdapat sampel yang memberikan hasil negatif palsu (*false negative*) pada PCR, mengindikasikan reliabilitas tinggi metode ini untuk populasi *paucibacillary*.

DISKUSI

Penelitian ini mengonfirmasi bahwa metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan target gen IS6110 memiliki sensitivitas yang sanngat itnggi dalam mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) pada pasien HIV/AIDS yang hasil pemeriksaan Bakteri Tahan Asam (BTA) negatif. Hal ini penting mengingat pemeriksaan BTA konvensional dengan pewarnaan Ziehl-Neelsen sering kali menghasilkan hasil negatif palsu pada populasi HIV/AIDS karena jumlah bakteri yang rendah (*paucibacillary*) dalam sputum pasien. Keberhasilan deteksi 100% gen IS6110 pada sampel darah memalui PCR menunjukkan bahwa teknik molekuler ini dapat menjadi alternatif yang efektif dibandingkan metode mikroskopis yang kurang sensitif (Dewi et al., 2019).

PCR menggunakan target gen IS6110 berpotensi tinggi sebagai metode diagnostik karena gen ini merupakan elemen penyisipan yang spesifik untuk *Mycobacterium tuberculosis complex* dan terdapat dalam jumlah copy yang cukup banyak pada genom, meningkatkan peluang amplifikasi DNA yang berhasil walaupun dengan jumlah bakteri rendah (Mitani et al., 2016). Meskipun kemurnian DNA yang diukur dalam penelitian ini sedikit di bawah standar ideal (rasio A260/A280 < 1,8), sensitivitas tinggi PCR dan toleransi enzim *Taq polymerase* terhadap kontaminan minor memastikan proses amplifikasi tetap optimal (Adhyatma et al., 2020).

Konsistensi hasil PCR dengan metode standar GeneXpert MTB/RIF yang juga menunjukkan 100% deteksi MTB pada sampel yang sama menegaskan

validitas dan realibilitas metode PCR ini sebagai alat pendeteksi molekuler. geneXpert yang dikenal memiliki sensitivitas tinggi dan waktu deteksi singkat menjadi standar rujukan yang ideal, sehingga konkordansi sempurna (sensitivitas 100%) dengan PCR IS6110 membuka peluang penerapan metode pCR ini secara luas khususnya pada fasilitas kesehatan primer dengan keterbatasan sumber daya dan akses terhadap teknologi GeneXpert yan grelatif mahal (Apriyani, 2024).

Kejadian negatif palsu pada pemeriksaan BTA di kalangan pasien HIV/AIDS disebabkan oleh imunosupresi yang menurunkan jumlah sel CD_4, sehingga infeksi MTB cenderung menunjukkan manifestasi *paucibacillary* dan klinis yang tidak spesifik. Oleh karena itu, diagnosis TB pada kelompok ini membutuhkan metode laboratorium dengan tingkat sensitivitas tinggi seperti PCR gen IS6110 agar pengobatan dapat dimulai lebih awal dan transmisi infeksi dapat dicegah secara lebih efektif (Muna & Cahyati, 2019).

Penelitian ini juga memiliki impliasi epidemiologis, mengingat tingginya prevalensi ko-infeksi TB-HIV di wilayah Sulawesi Tenggara yang menuntut metode diagnosis yang cepat, akurat, dan hemat biaya. Implementasi PCR gen IS6110 sebagai alat diagnostik molekuler alternatif dapat memperkuat program pengendalian TB serta meningkatkan deteksi kasus yang selama ini sulit diidentifikasi menggunakan metode konvensional, terutama pada pasien dengan imunodefisiensi berat. Hasil penelitian ini memberikan kontribusi penting dalam bidang diagnostik molekuler TB pada pasien HIV/AIDS, megusulkan bahwa metode PCR gen IS6110 dapat menjadi strategi diagnostik tambahan yang efektif, akurat, serta sesuai untuk diterapkan di fasilitas kesehatan tingkat primer untuk mendukung deteksi dini dan terapi tepat waktu pada populasi berisiko tinggi

KESIMPULAN

Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan target gen IS6110 memiliki sensitivitas yang sangat tinggi dalam mendeteksi Mycobacterium tuberculosi pada pasien HIV/AIDS dengan hasil BTA negatif, terbukti dengan konkordansi sempurna terhadap GeneXpert. Teknik PCR ini menunjukkan potensi sebagai alternatif diagnostik molekuler yang efektif, cepat, dan hemat biaya khususnya pada populasi berisiko tinggi dengan manifestasi *paucibacillary*. Implementasi PCR gen IS6110 di fasilitas kesehatan primerdapat mempercepat diagnosis, mendukung pengobatan tepat waktu, dan memperkuat program pengendalian tuberculosis di wilayah dengan prevalensi ko-infeksi TB-HIV yang tinggi.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada seluruh staf Puskesmas Lepo-Lepo atas dukungan dan kerja sama selama pelaksanaan penelitian, serta kepada Universitas Mandala Waluya, khususnya Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Sains & Teknologi yang telah menyediakan fasilitas laboratorium untuk analisis molekuler.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan yang relevan terkait penelitian ini.

REFRENSI

Adhyatma, E., Santoso, W., & Putra, R. (2020). Sensitivitas metode PCR target gen IS6110 dalam deteksi Mycobacterium tuberculosis. *Jurnal Mikrobiologi Klinik*, 14(2), 101-109.

Apriyani, D. (2024). Evaluasi efektivitas GeneXpert dalam deteksi tuberkulosis pada pasien HIV/AIDS. *Jurnal Kesehatan Indonesia*, 10(1), 47-55.

Dewi, L. C., Prasetyo, A., & Hidayati, N. (2019). Tantangan diagnostik tuberkulosis pada pasien HIV/AIDS dengan hasil BTA negatif. *Jurnal Penyakit Infeksi*, 7(3), 205-213.

Mitani, K., Yamada, H., & Nakamura, T. (2016). Insertion sequence IS6110 as molecular marker for Mycobacterium tuberculosis detection. *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 20(8), 1049-1054.

Muna, W., & Cahyati, S. (2019). Hubungan tingkat CD4 dan risiko tuberkulosis aktif pada pasien HIV/AIDS. *Jurnal Imunologi Indonesia*, 12(2), 65-72.

World Health Organization. (2022). Global Tuberculosis Report 2022. *Geneva: World Health Organization*.

OPTIMASI KONSENTRASI DAN LAMA WAKTU PERENDAMAN PEWARNA PADA PRODUK RT-PCR *SECRETOGLOBIN FAMILY 2A MEMBER 2* (SCGB2A2) METODE ELEKTROFORESIS GEL *AGAROSE* SEBAGAI PENANDA KANKER PAYUDARA

Azzira Fatimatuzzahra[1]* · Betty Nurhayati[1] · Wiwin Wiryanti[1] · Fusvita Merdekawati[1] · Asep Iin Nur Indra[1]

[1]Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Bandung, Jawa Barat, Indonesia

e-Mail: azzirafatimatuzzahra294@gmail.com
No Tlp WA : 082115664944

Abstract

Breast cancer is one of the leading causes of death among women in Indonesia. Molecular-based early detection provides a sensitive and specific approach, one of which is by identifying the expression of the SCGB2A2 gene that encodes mammaglobin-A protein as a potential biomarker. This study aimed to optimize the concentration and immersion time of the fluorescent dye SerRed on RT-PCR products of the SCGB2A2 gene using the agarose gel electrophoresis method. This optimization is important because the intensity of cDNA band visualization greatly depends on the number of intercalated dye molecules and the duration of gel immersion, both of which affect the accuracy of PCR result interpretation. The study was conducted using a quasi-experimental design with variations in dye concentration (1× and 3×) and immersion time (10, 20, and 30 minutes). cDNA band visualization was observed using a UV transilluminator and quantitatively analyzed using ImageJ software based on band area. The results showed that the combination of 3× concentration and 30 minutes of immersion produced the most optimal visualization, with the highest band areas of 44,913.33 and 59,858.84. Therefore, optimizing dye concentration and immersion time plays an important role in improving the quality of RT-PCR product visualization of the SCGB2A2 gene as a molecular marker for breast cancer, especially in the application of conventional RT-PCR methods in laboratories with limited facilities.

***Keywords** : SCGB2A2, SerRed, agarose gel electrophoresis, RT-PCR, breast cancer*

Abstrak

Kanker payudara merupakan salah satu penyebab kematian tertinggi pada wanita di Indonesia. Deteksi dini berbasis molekuler menjadi pendekatan yang sensitif dan spesifik, salah satunya dengan mengidentifikasi ekspresi gen SCGB2A2 yang mengkode protein mammaglobin-A sebagai biomarker potensial. Penelitian ini bertujuan untuk mengoptimalkan konsentrasi dan lama waktu perendaman pewarna fluoresen yaitu SerRed terhadap produk RT-PCR gen SCGB2A2 menggunakan metode elektroforesis gel agarose. Optimasi ini penting karena intensitas visualisasi pita cDNA sangat bergantung pada jumlah molekul pewarna yang berinterkalasi serta durasi perendaman ke dalam gel untuk menentukan akurasi interpretasi hasil PCR. Penelitian dilakukan secara quasi eksperimen dengan variasi konsentrasi pewarna (1× dan 3×) serta lama perendaman (10, 20, dan 30 menit). Visualisasi pita diamati menggunakan UV transilluminator dan dianalisis secara kuantitatif menggunakan perangkat lunak ImageJ berdasarkan luas area pita. Hasil menunjukkan bahwa kombinasi konsentrasi 3× dan waktu perendaman 30 menit memberikan hasil visualisasi paling optimal, dengan luas area pita tertinggi sebesar 44.913,33 dan 59.858,84. Dengan demikian, optimasi konsentrasi dan waktu perendaman pewarna berperan penting dalam meningkatkan kualitas visualisasi hasil amplifikasi RT-PCR gen SCGB2A2 sebagai

penanda molekuler kanker payudara, terutama dalam penerapan metode RT-PCR konvensional di laboratorium dengan fasilitas terbatas.
Kata Kunci : SCGB2A2, SerRed, elektroforesis gel *agarose*, RT-PCR, kanker payudara

PENDAHULUAN

Menurut Badan Internasional untuk Penelitian Kanker (IARC), terdapat sekitar 20 juta kasus kanker baru dan 9,7 juta kematian akibat kanker secara global pada tahun 2022. Jenis kanker terbanyak adalah kanker paru-paru (12,4%), diikuti kanker payudara (11,6%), kolorektal, dan prostat. Dengan meningkatnya usia, jumlah penduduk, serta perubahan faktor risiko, jumlah kasus kanker global diperkirakan mencapai 35 juta pada tahun 2050 (The Lancet Publichealth, 2024).

Di Indonesia, berdasarkan data *Global Cancer Observatory* (GLOBOCAN) tahun 2022, kanker payudara tercatat sebagai jenis kanker dengan prevalensi tertinggi pada wanita, yaitu sebanyak 65.858 kasus baru. (Nur Rosyidah & Supriani, 2023) Tanpa peningkatan deteksi dini, kasus global diperkirakan melebihi 13 juta pada tahun 2030, dan kasus di Indonesia diproyeksikan meningkat hingga 63% pada periode 2025–2040 (Kemenkes RI, 2024).

Deteksi dini merupakan faktor penting dalam meningkatkan tingkat kesembuhan dan menurunkan angka kematian akibat kanker payudara. Metode konvensional seperti mamografi memiliki keterbatasan dalam hal biaya dan aksesibilitas. Oleh karena itu, deteksi berbasis biomarker genetik menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menjadi alternatif yang sensitif dan spesifik (Gezer et al., 2022).

Salah satu biomarker potensial adalah gen SCGB2A2 (Gorbokan et al., 2023), yang terekspresi tinggi secara spesifik pada jaringan kanker payudara dan mengkode protein mammaglobin-A, yang terdeteksi pada sekitar 90% kasus kanker payudara primer (Suryawisesa & Manuaba, 2024). Karena ekspresinya berupa RNA, diperlukan tahap transkripsi balik menjadi cDNA menggunakan enzim *reverse transcriptase*, sebelum dilanjutkan dengan PCR konvensional untuk mendeteksi ekspresi gen SCGB2A2 secara efisien (Putri et al., 2025).

Protein mammaglobin-A merupakan biomarker spesifik yang berpotensi untuk deteksi kanker payudara, sehingga diperlukan penelitian yang menargetkan gen SCGB2A2 sebagai pengkode protein tersebut. Laboratorium Biologi Molekuler Poltekkes Kemenkes Bandung saat ini mengembangkan sintesis protein rekombinan mammaglobin-A dengan desain primer baru terhadap gen SCGB2A2 untuk deteksi dalam sampel darah. Karena menggunakan primer baru, diperlukan optimasi PCR. PCR konvensional dipilih karena sederhana, efektif, dan sesuai untuk laboratorium dengan fasilitas terbatas.

Elektroforesis gel agarosa digunakan untuk memvisualisasikan hasil amplifikasi cDNA pada PCR konvensional, namun kualitas visualisasi sangat dipengaruhi oleh konsentrasi dan lama perendaman dalam pewarna cDNA. Beberapa penelitian telah menggunakan variasi konsentrasi dan lama waktu, seperti konsentrasi 0.5µg/mL (dari stok 10 mg/mL) atau setara 1x EtBr (Salman Rasool et al., 2023), perendaman Etbr selama 10 menit (Yohana et al., 2018) , serta 3x GelRed dan SerRed selama 30 menit (Nataprawira, M. Dewi et al., 2022; Kit Servicebio). Namun, hingga kini, belum diketahui kondisi optimal untuk elektroforesis gen SCGB2A2.

Visualisasi pita cDNA diawali dengan proses interkalasi, dimana pewarna cDNA menyisip di antara pasangan basa cDNA dan membentuk ikatan yang stabil. Saat gel disinari dengan sinar ultraviolet (UV), pewarna yang terikat akan memancarkan cahaya fluoresen, sehingga pita cDNA tampak terang pada gel. Gambar gel kemudian dianalisis menggunakan perangkat lunak ImageJ, yang mengukur intensitas cahaya dari setiap pita. Semakin tinggi intensitas fluoresensi, semakin besar luas area yang terbaca. Luas area ini merepresentasikan tingkat visualisasi atau intensitas relatif pita cDNA, sehingga memungkinkan interpretasi hasil PCR secara objektif dan terukur. Oleh karena itu, diperlukan penelitian untuk menentukan kombinasi konsentrasi dan waktu perendaman pewarna DNA yang menghasilkan pita cDNA yang menghasilkan intensitas pita terbaik yang diukur berdasarkan luas area, terpisah dengan baik dan bebas smear. Optimasi ini penting untuk meningkatkan akurasi visualisasi

pita dan mendukung deteksi gen SCGB2A2 sebagai biomarker kanker payudara. Tanpa optimasi yang baik, interpretasi hasil PCR dapat terganggu, sehingga menurunkan efektivitas deteksi.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penulis melakukan penelitian yang berjudul: "Optimasi Konsentrasi Dan Lama Waktu Perendaman Pewarna Pada Produk RT-PCR *Secretoglobin Family 2A Member 2* (SCGB2A2) Metode Elektroforesis Gel *Agarose* Sebagai Penanda Kanker Payudara".

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sampel *Whole Blood* pasien kanker payudara, Kit ekstraksi RNA *(SV Total RNA Isolation System Promega), Go Taq Green PCR Master Mix Promega,* primer, *Nuclease Free Water, gel agarose, aquadest/aquabidest,* TAE *Buffer* 1x, *SerRed Nucleic Acid Dye* (10000×, *Water Soluble*).

Penelitian ini bersifat *quasi eksperimen*. Dalam penelitian ini dilakukan perlakuan terhadap variasi konsentrasi dan lama waktu perendaman yang optimal dengan pewarna yaitu menggunakan pewarna SerRed dalam mewarnai Gen SCGB2A2 setelah di elektroforesis. Pada penelitian ini, dilakukan isolasi RNA *Secretoglobin Family 2A Member 2* (SCGB2A2) yang merupakan gen pengkode Mamaglobin-A dari sampel *whole blood* pasien yang terdiagnosis kanker payudara sebanyak 1000 uL menggunakan *Kit ekstraksi RNA (SV Total RNA Isolation System Promega)*. Isolasi dilakukan satu kali dengan tujuan untuk memastikan jumlah RNA *template* yang cukup saat dilakukan amplifikasi. Hasil dari proses isolasi tersebut diperoleh 100 uL RNA *template* yang kemudian dijadikan sebagai bahan untuk amplifikasi menggunakan PCR dalam 3 reaksi. Proses amplifikasi ini melibatkan enzim *reverse transcriptase* untuk mengubah RNA menjadi cDNA, sehingga memungkinkan proses amplifikasi dan analisis sekuens gen menggunakan teknik PCR. Amplikon dari hasil amplifikasi selanjutnya dikumpulkan dalam satu microtube untuk dilakukan proses elektroforesis menggunakan gel *agarose* 2% dengan voltase 100 volt selama 60

menit. Gel *agarose* hasil elektroforesis kemudian direndam dalam larutan SerRed yang konsentrasinya divariasikan (1x dan 3x) dengan waktu perendaman yang divariasikan (10, 20, dan 30 menit). Hasil perendaman elektroforesis dengan pewarna SerRed dibaca oleh alat *UV Transluminator* untuk melihat visualisasi pita cDNA. Pita cDNA yang terbentuk kemudian didokumentasikan dan dianalisis luas areanya menggunakan aplikasi imageJ. Jumlah pengulangan dilakukan sebanyak 2 kali, Jumlah ulangan ini dipilih untuk memperoleh gambaran awal mengenai kecenderungan hasil antarperlakuan dan untuk menilai konsistensi metode yang digunakan. Analisis ini digunakan untuk mengamati tren hasil visualisasi serta mendukung validitas awal metode yang digunakan dalam penelitian.

Penelitian ini menggunakan sampel darah *whole blood* pasien kanker payudara yang telah disetujui oleh pasien dengan *informed consent* dan telah mendapatkan kelayakan etik oleh Komite Etik Penelitian Kesehatan *Health Research Etich Committee* Rumah Sakit Umum Daerah Cibabat Kota Cimahi dengan Nomor: 070/42/Ethical Clearance/RSUD Cibabat/V/2025.

HASIL

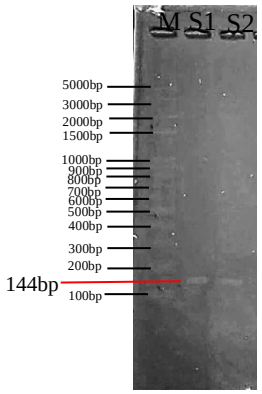
Hasil Pewarnaan Gel Agarose pada SerRed Konsentrasi 1x Selama 10, 20, dan 30 Menit



10 menit



20 menit



30 menit

Keterangan : M = Marker, S1 = Sampel pengulangan 1, S2 = Sampel pengulangan 2

Gambar 1. Hasil Pewarnaan Konsentrasi 1x

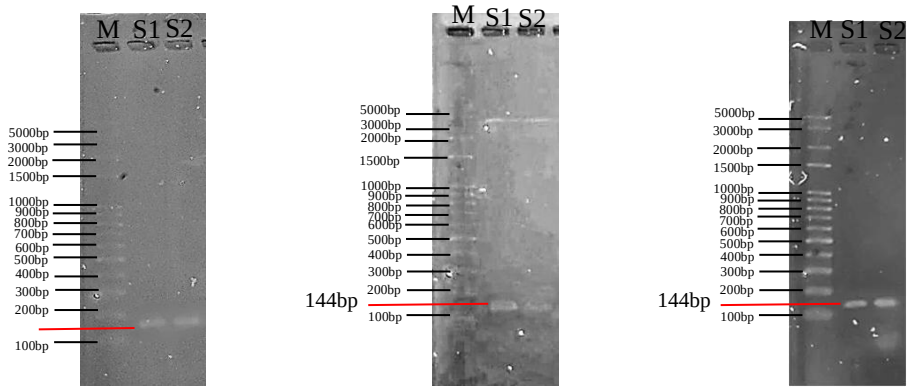
Gambar 1 menunjukkan hasil pewarnaan cDNA menggunakan SerRed dengan konsentrasi 1x dalam berbagai variasi waktu lama perendaman yaitu 10, 20 dan 30 menit. Pada penelitian ini digunakan marker berukuran 100bp. Pita *Secretoglobin Family 2A Member 2* (SCGB2A2) tidak terlihat pada lama waktu perendaman 10 dan 20 menit. Namun, hanya dapat terlihat pada waktu perendaman 30 menit dengan tampak garis tipis secara visual pada marker dan sampel. Pengulangan pewarna dilakukan sebanyak 2 kali. Pada konsentrasi pewarna 1x ini, pita hanya tampak pada lama waktu perendaman 30 menit, sehingga hanya waktu perendaman 30 menit yang dilakukan kuantifikasi pita menggunakan aplikasi ImageJ. Berikut disajikan hasil data ImageJ pada tabel 1.

Tabel 1. Nilai Luas Area Pita Pada Konsentrasi 1x

Luas Area Pita cDNA *Secretoglobin Family 2A Member 2* (SCGB2A2) menggunakan pewarna SerRed Konsentrasi 1x		
Lama Perendaman (Menit)	Pengulangan 1	Pengulangan 2
10	0	0
20	0	0
30	28.563,66	21.962,45

Berdasarkan Tabel 1, diperoleh hasil dari konsentrasi 1x dengan lama waktu perendaman 30 menit diketahui bahwa nilai luas area pita memiliki perbedaan yang masih tidak terlalu jauh dari kedua pengulangan.

Hasil Pewarnaan Gel Agarose pada SerRed Konsentrasi 3x Selama 10, 20, dan 30 Menit



Keterangan : M = Marker, S1 = Sampel pengulangan 1, S2 = Sampel pengulangan 2

Gambar 2. Hasil Pewarnaan Konsentrasi 3x

Gambar 2 menunjukkan hasil pewarnaan cDNA menggunakan SerRed dengan konsentrasi 3x dalam berbagai variasi waktu lama perendaman yaitu 10, 20 dan 30 menit. Pita *Secretoglobin Family 2A Member 2* (SCGB2A2) yang terbentuk tampak secara visual garis semakin terbentuk pada marker maupun sampel. Pada lama waktu perendaman 10 menit masih tampak tipis. Pada lama waktu perendaman 20 menit sudah mulai terlihat visual garisnya dan semakin terbentuk pada waktu perendaman 30 menit. Maka dari itu, dilakukan kuantifikasi pita menggunakan aplikasi ImageJ untuk membedakan pita yang terbentuk pada setiap lama waktu perendaman yang dilakukan. Berikut disajikan hasil ImageJ nilai luas area pita konsentrasi 3x pada tabel 2.

Tabel 2. Nilai Luas Area Pita Pada Konsentrasi 3x

Luas Area Pita cDNA *Secretoglobin Family 2A Member 2* (SCGB2A2) menggunakan pewarna SerRed Konsentrasi 3x		
Lama Perendaman (Menit)	Pengulangan 1	Pengulangan 2
10	30.266,70	26.650,87
20	46.512,12	32.588,79
30	44.913,33	59.858,84

Berdasarkan Tabel 2, diperoleh hasil dari konsentrasi 3x dengan lama waktu perendaman 10, 20 dan 30 menit diketahui bahwa nilai luas area pita memiliki perbedaan dari kedua pengulangan. Nilai luas area pita yang paling tinggi terbentuk pada konsentrasi 3x dengan lama waktu perendaman 30 menit sebesar 24.003,05 pada pengulangan 1 dan 32.013,93 pada pengulangan 2.

DISKUSI

Penelitian ini diperoleh menggunakan data primer yang didapat melalui proses eksperimen laboratorium yaitu dengan melakukan pengukuran kualitas band/pita hasil elektroforesis dengan variasi konsentrasi dan waktu perendaman menggunakan pewarna. Setelah itu, band/pita divisualisasikan menggunakan *UV Transluminator* dan dianalisis menggunakan *software* ImageJ sehingga didapatkan hasil berupa luas area pita. Semakin besar luas permukaan yang dihasilkan maka semakin baik kualitas pita yang dihasilkan. Hasil tersebut berupa data kuantitatif yang dapat digunakan dalam interpretasi hasil penelitian.

Pengukuran menggunakan imageJ dilakukan dengan *plotting area*, menggambar garis pada titik puncak yang diinginkan, kemudian mengukur luas area setiap puncaknya. ImageJ dapat menganalisa gambar dengan kuat dan fleksibel, serta dapat mengubah data kualitatif menjadi data kuantitatif melalui perhitungan luas area yang dihasilkan (Schindelin et al., 2012). Berdasarkan hasil yang telah diperoleh dari ImageJ, nilai luas area pita *Secretoglobin Family 2A Member 2* (SCGB2A2) setiap variasi konsentrasi dan lama waktu perendaman bervariasi. Hal ini dapat disebabkan karena beberapa hal. Pertama karena intensitas cahaya UV yang tidak merata pada permukaan transilluminator dapat menyebabkan perbedaan fluoresensi pita cDNA, sehingga berdampak pada nilai luas area yang terdeteksi oleh perangkat lunak ImageJ. Kedua, intensitas pita yang dihasilkan tidak jauh berbeda sehingga nilai luas area pita pun tidak jauh berbeda. Hal ini terjadi karena variasi waktu yang digunakan pada penelitian ini masih sangat berdekatan sehingga warna pita yang terbentuk juga tidak jauh berbeda.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, pita cDNA *Secretoglobin Family 2A Member 2* (SCGB2A2) dapat terbentuk dipengaruhi oleh konsentrasi pewarna dan lama waktu perendaman. Konsentrasi yang terlalu rendah akan menghasilkan fragmen yang sangat tipis pada gel atau bahkan tidak terlihat secara visual, sebaliknya konsentrasi yang terlalu tinggi akan menyebabkan *quenching* akibat agregasi molekuler dan fragmen terlihat tebal sehingga sulit untuk dibedakan antara satu fragmen dengan fragmen lainnya (Harahap, 2018). Selain itu, lama waktu perendaman memengaruhi efisiensi interkalasi zat pewarna ke dalam cDNA, di mana durasi yang lebih lama meningkatkan intensitas fluoresensi dan sensitivitas deteksi. Namun, perendaman yang berlebihan berisiko menyebabkan degradasi cDNA atau meningkatkan latar belakang fluoresensi yang dapat mengaburkan pita cDNA pada gel atau adanya smear pada hasil elektroforesis (Nataprawira, M. Dewi et al., 2022)

Setelah dilakukan pewarnaan dengan konsentrasi 1x dan 3x dengan variasi waktu 10, 20, dan 30 menit terhadap pita cDNA Secretoglobin Family 2A Member 2 (SCGB2A2) dengan dua kali pengulangan diperoleh pada konsentrasi 1x hanya terbentuk pita pada waktu 30 menit sedangkan pada waktu 10 dan 20 menit tidak terbentuk. Pada konsentrasi 3x diperoleh semua terbentuk pita, baik sampel maupun marker terpisah dengan baik. Konsentrasi 3x dalam waktu 10, 20 dan 30 menit menunjukkan kejelasan pita yang lebih terbentuk seiring dengan semakin lama waktu perendaman. Hasil perendaman tersebut setelah dianalisis dengan aplikasi imageJ diperoleh nilai luas area pita yang tertinggi yaitu pada waktu perendaman 30 menit dengan konsentrasi 3x dengan nilai 44.913,33 pada pengulangan 1 dan 59.858,84 Pada pengulangan 2. Setelah dilakukan pengukuran pada aplikasi ImageJ, diperoleh hasil bahwa semakin tebal pita yang dihasilkan maka luas area yang terukur juga semakin besar. Menurut penelitian terdahulu dengan pewarna GelRed yang dilakukan oleh Sri M. Dewi Nataprawira dkk dalam penelitiannya tentang optimasi GelRed sebagai pewarna DNA dalam biologi molekuler tahun 2022 telah menggunakan GelRed dengan konsentrasi 3x selama 30 menit dengan elektroforesis gel agarose

metode post staining dengan hasil terbentuk band pita yang cukup baik dan stabil. (Nataprawira, M. Dewi et al., 2022).

Visualisasi pita cDNA merupakan tahapan penting dalam analisis hasil amplifikasi cDNA, khususnya setelah proses elektroforesis gel agarosa. Tahapan ini bertujuan untuk menilai keberhasilan amplifikasi serta mengevaluasi kualitas pita cDNA yang terbentuk. Visualisasi pita cDNA diawali dengan proses interkalasi, di mana pewarna DNA menyisip di antara pasangan basa cDNA dan membentuk ikatan yang stabil. Mekanisme ini memungkinkan molekul pewarna SerRed untuk berasosiasi secara spesifik dengan struktur heliks ganda cDNA tanpa merusak urutan basa. Interkalasi bersifat reversible dan terjadi secara spontan saat cDNA berada dalam lingkungan yang mengandung pewarna selama proses perendaman gel. Saat gel disinari dengan sinar ultraviolet (UV), pewarna SerRed yang terikat akan memancarkan cahaya fluoresen, sehingga pita cDNA tampak terang pada gel. Fenomena fluoresensi ini terjadi karena molekul pewarna menyerap energi dari sinar UV, kemudian melepaskannya kembali dalam bentuk cahaya tampak. Intensitas cahaya yang dipancarkan inilah yang memungkinkan pita cDNA dapat terlihat secara visual, dan perbedaan intensitas antar pita bisa diamati dengan mata atau dianalisis lebih lanjut. Keberhasilan visualisasi dipengaruhi oleh faktor teknis seperti kejernihan gel, kualitas pewarna, dan kondisi pemaparan sinar UV.

Gambar gel kemudian dianalisis menggunakan perangkat lunak ImageJ, yang mengukur intensitas cahaya dari setiap pita. Perangkat lunak ini bekerja dengan cara mendeteksi nilai kecerahan (grayscale value) pada tiap piksel gambar, lalu menghitung total intensitas berdasarkan luas wilayah pita. Semakin tinggi intensitas fluoresensi, semakin besar luas area yang terbaca. Ini mencerminkan bahwa pita tersebut lebih dominan secara visual dan dapat digunakan sebagai indikator tingkat intensitas fluoresensi. Dalam konteks penelitian, pengukuran ini memberikan nilai kuantitatif yang objektif, sehingga dapat digunakan untuk membandingkan antar perlakuan atau replikasi.

Luas area ini merepresentasikan tingkat visualisasi atau intensitas relatif

pita cDNA, sehingga memungkinkan interpretasi hasil PCR secara objektif dan terukur. Dengan kata lain, teknik ini meminimalkan subjektivitas dalam pembacaan hasil, karena analisis dilakukan berbasis data digital, bukan hanya pengamatan visual semata. Data intensitas dapat digunakan sebagai dasar untuk mengevaluasi efektivitas proses pewarnaan, efisiensi PCR, dan kesesuaian metode yang digunakan (Armstrong & Schulz, 2015).

Kombinasi konsentrasi dan waktu perendaman pewarna DNA yang menghasilkan pita cDNA yang menghasilkan intensitas pita terbaik yang diukur berdasarkan luas area, terpisah dengan baik dan bebas smear sehingga konsentrasi 3x dan lama waktu perendaman 30 menit dengan luas area 44.913,33 pada pengulangan 1 dan 59.858,84 pada pengulangan 2 dengan tanpa smear dan terpisah dengan baik. Pemilihan konsentrasi pewarna yang tepat sangat penting agar tidak terjadi background noise yang tinggi atau saturasi sinyal. Demikian pula, waktu perendaman harus cukup untuk memungkinkan pewarna berinterkalasi sempurna, tetapi tidak terlalu lama sehingga menyebabkan degradasi cDNA atau meningkatkan latar belakang fluoresensi yang dapat mengaburkan pita cDNA pada gel atau adanya smear pada hasil elektroforesis. Kombinasi yang optimal akan menghasilkan pita yang dapat diukur dengan hasil luas area menunjukan semakin tebal pita yang dihasilkan maka luas area yang terukur juga semakin besar.

Faktor yang menyebabkan ketidakmunculan pita cDNA *Secretoglobin Family 2A Member 2* (SCGB2A2) dapat disebabkan oleh beberapa kemungkinan, seperti konsentrasi pewarna SerRed yang digunakan terlalu rendah sehingga intensitas pita yang terbentuk tidak cukup untuk terdeteksi pada gel elektroforesis, gel agarose yang telah diwarnai oleh SerRed terlalu pudar atau tipis sehingga sulit dibaca dan divisualisasikan pada alat *UV Transluminator*, jumlah produk cDNA yang tidak mencukupi untuk divisualisasikan secara visual dan lama waktu perendaman gel agarose terlalu singkat sehingga warna yang dihasilkan belum menyerap warna dengan baik sehingga belum terbentuk pita. Selain itu, perlu diperhatikan pada saat mendokumentasikan hasil visualisasi gel

agarose karena dapat berpengaruh pada luas area pita yang dihasilkan.

Dalam Kit Service bio, pewarna SerRed memiliki sifat sama seperti EtBr namun dengan sifat toksisitas yang lebih rendah. Pada prinsipnya pewarna DNA setelah elektroforesis selesai, gel direndam dalam larutan SerRed untuk memungkinkan molekul pewarna berinterkalasi ke dalam heliks ganda cDNA. Interkalasi ini menyebabkan fragmen cDNA memancarkan fluoresensi saat disinari dengan cahaya ultraviolet, sehingga pita-pita cDNA dapat diamati secara visual.

Pewarnaan gel agarose terdapat beberapa metode yaitu pre-loading/pre-staining, pre-cast, dan post-staining. Metode post-staining dipilih untuk menghindari potensi gangguan pewarna terhadap migrasi cDNA selama elektroforesis, sekaligus memastikan pewarna hanya berikatan dengan cDNA yang benar-benar ada dalam gel. Keberhasilan deteksi pita salah satunya sangat bergantung pada konsentrasi pewarna dan lama waktu perendaman (Fahlevi et al., 2017).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan mengenai optimasi konsentrasi dan lama waktu perendaman pewarna pada produk RT-PCR *Secretoglobin Family 2A Member 2* (SCGB2A2) Metode Elektroforesis Gel *agarose* Sebagai Penanda Kanker Payudara, diperoleh kesimpulan yaitu konsentrasi dan lama waktu perendaman pewarna yang optimum untuk dapat menghasilkan intensitas visualisasi pita yang diukur berdasarkan luas area pada deteksi produk RT-PCR SCGB2A2 dengan menggunakan pewarna SerRed adalah konsentrasi 3x dan lama waktu selama 30 menit dengan luas pita 44.913,33 dan 59.858,84 pada dua pengulangan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Puji dan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa, atas rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan penyusunan naskah hasil penelitian ini. Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada Ibu Dr. Betty Nurhayati, S.Si., M.Si, yang senantiasa membimbing dan mendukung penulis. Terimakasih juga kepada Ibu Wiwin Wiryanti, S.Pd, M.Kes., Ibu Fusvita Merdekawati, S.ST, MM., M.Si dan Bapak Asep Iin Nur Indra S.Si, M.Si yang turut membantu proses dalam menyelesaikan penelitian ini. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada orangtua, keluarga dan semua pihak yang sudah membantu dalam proses meyelesaikan penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan yang terkait dengan penelitian ini.

REFRENSI

Armstrong, J. A., & Schulz, J. R. (2015). *Agarose gel electrophoresis. Current Protocols in Essential Laboratory Techniques*, 2015(*May*), 7.2.1-7.2.22. https://doi.org/10.1002/9780470089941.et0702s10

Fahlevi, M. R. F., Bakti, D., & Sitepu, S. F. (2017). Karakterisasi Molekuler *Elaeidobius kamerunicus Faust*. (Coleoptera: Curculionidae) Asal Sumatera Utara Menggunakan Metode *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP). 5(4), 941–953.

Gezer, U., Bronkhorst, A. J., & Holdenrieder, S. (2022). *The Clinical Utility of Droplet Digital PCR for Profiling Circulating Tumor DNA in Breast Cancer Patients. Diagnostics,* 12(12). https://doi.org/10.3390/diagnostics12123042

Gorbokon, N., Timm, P., Dum, D., Menz, A., Büscheck, F., Völkel, C., Hinsch, A., Lennartz, M., Luebke, A. M., Hube-Magg, C., Fraune, C., Krech, T., Lebok, P., Clauditz, T. S., Jacobsen, F., Sauter, G., Uhlig, R., Steurer, S., Minner, S., … Höflmayer, D. (2023). *Mammaglobin-A Expression Is Highly Specific for Tumors Derived from the Breast, the Female Genital Tract, and the Salivary Gland. Diagnostics,* 13(6). https://doi.org/10.3390/diagnostics13061202

Kemenkes RI. (2024). Strategi Komprehensif Penanganan Kanker di Indonesia: Rencana Kanker Nasional 2024-2034. https://p2ptm.kemkes.go.id/informasi-p2ptm/strategi-komprehensif-penanganan-kanker-di-indonesia-rencana-kanker-nasional-2024-2034

Nataprawira, M. Dewi, S., Sidarta, E., & Chris, A. (2022). Optimasi GelRed Sebagai Pewarna DNA Dalam Biologi Molekuler. Syntax Literate: Jurnal Ilmiah Indonesia, 7(12).

Putri, A., Azahra, A., Listanto, P., Nur, K., Avrilyanti, T., Indriansyah, G., Khairunnisa, L. A., Dyah, L., & Arini, D. (2025). Peran Asam Nukleat dalam Proses Sintesis Protein : Analisis Mekanisme Universitas Duta Bangsa Surakarta , Indonesia dihasilkan sesuai dengan kebutuhan sel dan organisme secara keseluruhan . Pengaturan ekspresi. 2.

Rey Brandariz, J., Rumgay, H., Ayo-Yusuf, O., Edwards, R., Islami, F., Liu, S., Pérez-Ríos, M., Rodrigues Pinto Corrêa, P. C., Ruano-Ravina, A., & Soerjomataram, I. (2024). *Estimated impact of a tobacco-elimination strategy on lung-cancer mortality in 185 countries: a population-based birth-cohort simulation study. The Lancet Public Health,* 9(10), e745–e754. https://doi.org/10.1016/S2468-2667(24)00185-3

Salman Rasool, M., Akbar Hassan, M., Siddiqui, K., Mazhar, F., Hussain Shar, A., Hussain Rind, K., Ali Rind, N., Uddin Ansari, F., & Urooj Kazmi, S. (2023). *Expulsion of plasmid-mediated antibiotic resistance genes in E. coli by ethidium bromide and acridine orange treatment. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences,* 36(2), 587–594.

Suryawisesa, I. B. M., & Manuaba, I. B. T. W. (2024). *Overexpression of Mammaglobin-A in Primary Breast Tissue Tumor and High Concentration of mRNA Mammaglobin-A in Peripheral Blood as Risk Factors for Metastatic Breast Cancer. Asia Pacific Journal of Cancer Biology,* 9(2), 129–135. https://doi.org/10.31557/APJCB.2024.9.2.129

Yohana, K., Adisyahputra, & Trijatmiko, R. K. (2018). VALIDASI QTL DAN APLIKASINYA UNTUK PERBAIKAN SIFAT TOLERAN KERACUNAN Al PADA PADI (Oryza sativa L.). Bioma, 14(1), 2018. https://doi.org/10.21009/Bioma14(1).5

GAMBARAN KADAR KARBOKSIHEMOGLOBIN (COHb) PADA PENGENDARA OJEK *ONLINE* DI KOTA PEKANBARU

Karolina Rosmiati[1], Yosepha Viona Hotmawanti[1*], Aisyara Yuliandari[2]

[1]D-III Analis Kesehatan, Akademi Kesehatan John Paul II Pekanbaru, Riau, Indonesia
[2]D-IV Teknologi Laboratorium Medis ,Akademi Kesehatan John Paul II Pekanbaru, Riau, Indonesia

*e-Mail: yosephaviona22d3tlm@mahasiswa.akjp2.ac.id

No Tlp WA : +62 831-8664-6313

Abstract

Carbon monoxide (CO) is a toxic gas produced from the incomplete combustion of fossil fuels and can form carboxyhemoglobin (COHb) in the blood, thereby inhibiting oxygen binding to hemoglobin. Online motorcycle taxi drivers are at high risk of CO exposure due to prolonged contact with vehicle emissions in traffic. This study aimed to describe the levels of carboxyhemoglobin (COHb) among online motorcycle taxi drivers in Pekanbaru City. A descriptive study with a cross-sectional approach was conducted using venous blood samples from 19 respondents selected by purposive sampling. COHb levels were analyzed using a Genesys 150 UV-Vis spectrophotometer at a wavelength of 429 nm. The results showed that 13 respondents (68.42%) had high COHb levels, while 6 respondents (31.58%) had normal levels, based on the biological exposure index of <3.5%. These findings indicate that most online motorcycle taxi drivers experienced elevated COHb levels due to exposure to carbon monoxide from vehicle emissions. In conclusion, prolonged exposure to traffic-related air pollution may increase COHb concentrations in the blood. Preventive measures such as the use of protective masks and limiting working hours are essential to reduce the risk of CO-related health impacts.
***Keywords**: Carboxyhemoglobin (COHb), Carbon monoxide, Online motorcycle drivers, Air pollution exposure*

Abstrak

Karbon monoksida merupakan gas beracun yang dihasilkan dari pembakaran bahan bakar fosil yang tidak sempurna dan dapat membentuk karboksihemoglobin (COHb) dalam darah, sehingga menghambat pengikatan oksigen oleh hemoglobin. Pengendara ojek online memiliki risiko tinggi terpapar gas ini akibat paparan emisi kendaraan di jalan raya. Penelitian ini bertujuan untuk menggambarkan kadar karboksihemoglobin (COHb) pada pengendara ojek online di Kota Pekanbaru. Jenis penelitian yang digunakan adalah deskriptif dengan pendekatan *cross sectional*. Sampel berupa darah vena dari 19 pengendara ojek online yang dipilih melalui teknik *purposive sampling*. Analisis kadar COHb dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis Genesys 150 pada panjang gelombang 429 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 19 responden, 13 orang (68,42%) memiliki kadar COHb tinggi dan 6 orang (31,58%) memiliki kadar COHb normal berdasarkan nilai ambang batas <3,5%. Temuan ini menunjukkan bahwa sebagian besar pengendara ojek online mengalami peningkatan kadar COHb akibat paparan karbon monoksida. Kesimpulannya, pekerjaan dengan paparan gas kendaraan secara terus-menerus berpotensi meningkatkan kadar COHb dalam darah, sehingga diperlukan upaya pencegahan seperti penggunaan masker dan pembatasan jam kerja untuk meminimalkan risiko kesehatan.

Kata Kunci: Karboksihemoglobin (COHb), Karbon monoksida, Ojek online, Paparan udara

PENDAHULUAN

Kualitas udara di wilayah perkotaan mengalami penurunan signifikan seiring meningkatnya aktivitas transportasi dan industrialisasi. Salah satu polutan utama yang dihasilkan dari pembakaran bahan bakar fosil yang tidak sempurna adalah karbon monoksida (CO), gas beracun yang tidak berwarna, tidak berbau, dan tidak berasa. Gas ini memiliki afinitas 245 kali lebih kuat terhadap hemoglobin dibandingkan oksigen, sehingga membentuk senyawa karboksihemoglobin (COHb) yang dapat menghambat pengangkutan oksigen dalam darah (Dewanti, 2018). Kondisi tersebut menimbulkan risiko hipoksia jaringan dan gangguan fungsi organ vital seperti otak dan jantung (Sihombing et al., 2022).

Kelompok masyarakat yang berisiko tinggi terhadap paparan CO adalah pengendara ojek online yang bekerja di lingkungan lalu lintas padat dan terpapar langsung emisi kendaraan bermotor dalam waktu lama. Aktivitas mereka yang berlangsung rata-rata lebih dari delapan jam per hari meningkatkan kemungkinan akumulasi gas CO dalam darah (Susilowati et al., 2021). Penelitian terdahulu di Samarinda menunjukkan bahwa kadar COHb pada pengendara ojek online mencapai 6,02–9,72%, melebihi nilai ambang batas normal (<3,5%) (Wahid et al., 2023). Namun, penelitian serupa di Pekanbaru masih terbatas, padahal kota ini juga memiliki intensitas lalu lintas yang tinggi.

Berdasarkan kondisi tersebut, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah: bagaimana gambaran kadar karboksihemoglobin (COHb) pada pengendara ojek online di Kota Pekanbaru? Pertanyaan ini penting untuk mengetahui sejauh mana paparan gas karbon monoksida memengaruhi kadar COHb pada kelompok pekerja transportasi berbasis daring.

Penelitian ini bertujuan untuk mengukur dan mendeskripsikan kadar karboksihemoglobin (COHb) dalam darah pengendara ojek online di Kota Pekanbaru menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Hasil penelitian diharapkan memberikan bukti ilmiah mengenai tingkat paparan CO pada pekerja sektor transportasi informal serta menjadi dasar upaya preventif terhadap risiko kesehatan akibat polusi udara. Secara akademik, penelitian ini berkontribusi memperkaya kajian toksikologi lingkungan, khususnya dalam konteks biomarker paparan karbon monoksida di wilayah perkotaan Indonesia.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini menggunakan desain deskriptif dengan pendekatan *cross sectional* untuk memperoleh gambaran kadar karboksihemoglobin (COHb) pada pengendara ojek online di Kota Pekanbaru tanpa memberikan perlakuan terhadap sampel. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Akademi Kesehatan John Paul II Pekanbaru pada bulan Januari hingga Maret 2025.

Populasi penelitian adalah seluruh pengendara ojek online di Kota Pekanbaru, dengan sampel sebanyak 19 responden yang dipilih menggunakan teknik purposive sampling berdasarkan kriteria tertentu, yaitu pengendara aktif yang telah bekerja minimal lima tahun dan memiliki waktu kerja 8–12 jam per hari. Sampel penelitian berupa darah vena (whole blood) yang diambil dari setiap responden menggunakan tabung vacutainer berisi antikoagulan K_3EDTA untuk mencegah pembekuan.

Analisis kadar COHb dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis Genesys 150 pada panjang gelombang maksimum 429 nm menggunakan reagen ammonium 0,1% dan sodium dithionite ($Na_2S_2O_4$) sebagai reduktor. Nilai absorbansi yang diperoleh digunakan untuk menghitung kadar COHb berdasarkan persentase saturasi hemoglobin terhadap karbon monoksida. Data yang terkumpul kemudian dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel distribusi frekuensi untuk menggambarkan proporsi kadar COHb normal dan tinggi pada responden.

Pendekatan ini memungkinkan peneliti menilai tingkat paparan karbon monoksida pada kelompok pekerja transportasi berbasis daring serta memberikan data kuantitatif yang dapat menjadi indikator risiko kesehatan akibat polusi udara di lingkungan perkotaan.

HASIL

Hasil Penelitian

Penelitian pemeriksaan karboksihemoglobin (COHb) telah dilakukan pada pengendara ojek *online* di Kota Pekanbaru dengan menggunakan 19 sampel darah vena (*whole blood*). Kadar COHb diukur menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 429 nm. Hasil penelitian yang diperoleh adalah sebagai berikut :

Tabel 4. 1 Distribusi Responden Penelitian berdasarkan Jenis Kelamin

Jenis Kelamin	Jumlah	Persentase (%)
Laki – laki	19	100
Perempuan	0	0

Berdasarkan tabel 4.1 responden dalam penelitian ini berjenis kelamin laki – laki sebanyak 19 orang (100%), sedangkan responden berjenis kelamin perempuan tidak ada (0%).

Tabel 4. 2 Distribusi Responden berdasarkan Lama Bekerja

Kode Sampel	Lama Bekerja
S1	10 Tahun
S2	7 Tahun
S3	6 Tahun
S4	7 Tahun
S5	5,5 Tahun
S6	7 Tahun
S7	6 Tahun
S8	8 Tahun
S9	9 Tahun
S10	6 Tahun
S11	8 Tahun
S12	6 Tahun
S13	10 Tahun
S14	7 Tahun
S15	6 Tahun
S16	10 Tahun
S17	6 Tahun
S18	8 Tahun
S19	8 tahun

Berdasarkan Tabel 4.2, terdapat 19 responden dengan lama bekerja yang bervariasi, mulai dari 5,5 tahun hingga 10 tahun. Jumlah responden yang paling banyak 14 sampel (73,68%) memiliki masa kerja antara 6 hingga 8 tahun.

Tabel 4. 3 Gambaran Kadar Karboksihemoglobin (COHb) pada Pengendara Ojek *Online* di Kota Pekanbaru

Kode sampel	Usia	Kadar COHb (%)	Keterangan
S1	40 Tahun	3,67	Tinggi
S2	32 Tahun	2,42	Normal
S3	24 Tahun	2,37	Normal

S4	28 Tahun	1,68	Normal
S5	23 Tahun	3,44	Normal
S6	27 Tahun	3,86	Tinggi
S7	26 Tahun	4,32	Tinggi
S8	30 Tahun	5,29	Tinggi
S9	35 Tahun	4,41	Tinggi
S10	30 Tahun	5,74	Tinggi
S11	29 Tahun	4,42	Tinggi
S12	25 Tahun	5,24	Tinggi
S13	34 Tahun	4,14	Tinggi
S14	33 Tahun	4,32	Tinggi
S15	27 Tahun	4,11	Tinggi
S16	45 Tahun	4,17	Tinggi
S17	34 Tahun	2,27	Normal
S18	34 Tahun	3,60	Tinggi
S19	54 Tahun	2,88	Normal

Keterangan : menurut Permenkes Republik Indonesia Nomor 70, tahun 2016 tentang Indikasi Paparan Biologi (IPB) Nilai Ambang Batas (NAB) kadar karbon monoksida (CO) dalam darah adalah <3,5%.

Berdasarkan tabel 4.3 kadar COHb dari total 19 sampel ditemukan 13 sampel (68,42%) memiliki kadar COHb tinggi dan 6 sampel (46,15%) memiliki kadar COHb normal. Batas Nilai Ambang Batas (NAB) kadar COHb berdasarkan Permenkes Republik Indonesia Nomor 70, tahun 2016 adalah <3,5%

DISKUSI

Penelitian kadar karboksihemoglobin (COHb) dilakukan di Laboratorium Kimia Akademi Kesehatan John Paul II Pekanbaru pada bulan Januari - Maret 2025. Pengambilan sampel dilakukan dengan Teknik *Purposive Random Sampling* berdasarkan kriteria khusus yang ditentukan oleh peneliti. Kriteria sampel pada penelitian ini adalah pengendara ojek *online* yang telah bekerja ≥ 5 tahun, aktif berkendara selama 8-12 jam per hari dan bersedia dijadikan sampel. Pengendara motor, termasuk pengemudi ojek *online* adalah orang yang berisiko terpapar asap kendaraan (Novitasari *et al.*, 2021). Akibatnya mereka sering terhirup gas beracun yang membahayakan kesehatan seperti karbon monoksida yang berasal dari asap kendaraan (Susilowati *et al.*, 2021). Gas karbon monoksida adalah gas yang tidak

memiliki warna, bau, rasa dan tidak menyebabkan iritasi. Gas ini sangat mudah terbakar, bersifat mematikan, dan tidak bisa larut dalam air. Karbon monoksida terbentuk dari pembakaran bahan bakar yang tidak sempurna, seperti kendaraan bermotor, alat pemanas, dan peralatan lain yang memakai bahan bakar. Gas ini berbahaya karena dapat membentuk ikatan kuat dengan hemoglobin dalam darah, sehingga mengurangi kemampuan darah dalam mengangkut oksigen ke seluruh tubuh (Dharmawan & Susanti, 2012).

Sampel yang digunakan pada penelitian adalah darah vena *(whole blood)* yang diambil menggunakan tabung *vacutainer* tutup ungu berisi antikoagulan EDTA. EDTA bekerja dengan cara mengikat ion kalsium, sehingga proses pembekuan darah dapat dicegah. Hal ini karena ion kalsium berperan penting sebagai salah satu faktor pembekuan darah (Kiswari, 2002). Kadar COHb pada sampel dianalisis dengan menggunakan alat spektrofometer UV-Vis. Spektrofometer UV-Vis digunakan untuk menganalisis sampel dalam bentuk larutan, gas, atau uap. Namun, biasanya sampel perlu diubah terlebih dahulu menjadi larutan yang jernih agar pengukuran bisa dilakukan dengan akurat (Suhartati, 2019). Pengukuran kadar COHb sampel menggunakan spektrofotometer UV-Vis terlebih dahulu dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum. Panjang gelombang maksimum adalah panjang gelombang cahaya yang paling banyak diserap oleh larutan. Pengukuran dilakukan pada titik ini karena perubahan jumlah cahaya yang diserap paling mudah terlihat saat kadar larutan berubah, sehingga hasilnya bisa lebih akurat (Apriliyani *et al.*, 2018). Berdasarkan pengukuran yang dilakukan panjang gelombang maksimal kadar COHb yang diperoleh adalah 429 nm.

Hasil (tabel 4.1) menunjukkan bahwa seluruh responden pada penelitian ini adalah pengendara ojek online berjenis kelamin laki – laki. Beberapa penelitian yang melibatkan pengendara ojek *online* sebagai responden ditemukan lebih banyak laki – laki. Berdasarkan penelitian (Mahendra *et al.*, 2022) didapatkan hasil jumlah responden berjenis kelamin laki-laki sebanyak 20 orang (80%) dan perempuan sebanyak 5 orang (20%). Penelitian (Alhafids & Hardiman, 2024) juga menemukan persentase laki- laki lebih besar yaitu 85 orang (77,3%) dan perempuan 25 orang (22,7%). Sehingga dapat dilihat persentase pengendara ojek online lebih banyak berjenis kelamin laki – laki. Pandangan atau anggapan yang berkembang di masyarakat menunjukkan bahwa pekerjaan sebagai driver ojek *online* lebih banyak

dilakukan oleh laki-laki. Hal ini mencerminkan dominasi laki-laki, karena pekerjaan yang melibatkan debu, kendaraan, dan lalu lintas padat dianggap lebih cocok untuk laki-laki yang identik dengan kekuatan fisik dan ketangguhan (Arofah & Alam, 2019). Pada saat pelaksanaan penelitian ini ditemukan juga pengendara ojek *online* berjenis kelamin perempuan hanya saja tidak sesuai dengan kriteria.

Distribusi responden berdasarkan lama bekerja (tabel 4.2) menunjukkan hasil yang bervariasi yaitu antara 5,5 hingga 10 tahun. Jumlah responden yang paling banyak (73,68%) memiliki masa kerja 6 hingga 8 tahun. Semakin lama seseorang terpapar karbon monoksida, semakin besar jumlah karbon monoksida yang akan masuk dan beredar dalam darahnya (Basri *et al.*, 2017). Karbon monoksida dapat mengikat pada hemoglobin dalam darah, sehingga darah menjadi kurang mampu mengikat dan membawa oksigen (Kristianingsih *et al.*, 2024). Namun faktor lainnya yang dapat mempengaruhi kadar COHb dalam darah antara lain status gizi, riwayat penyakit paru-paru, serta penggunaan masker. Masker menjadi peranan yang penting untuk melindungi saluran pernapasan dari debu atau partikel yang masuk, dan dapat dibuat dari bahan kain dengan ukuran tertentu (Muthia & Hendrawan, 2017). Penelitian ini terdapat responden 36,84% selalu menggunakan masker saat bekerja dan diantara responden tersebut dengan kode sampel S5 dan S19 memiliki kadar COHb dalam kategori normal.

Berdasarkan data hasil pengukuran kadar COHb pada sampel (tabel 4.3) dari 19 sampel ditemukan persentase responden yang memiliki kadar COHb melebihi nilai ambang batas normal lebih banyak 13 sampel (68,42%) dan yang memiliki kadar COHb normal 6 sampel (46,15%). Hal yang sama juga didapatkan pada peneliti Wahid *et al.*, (2024) yang menganalisis kadar COHb pada darah pedagang kaki lima di pasar tradisional kota Samarinda. Hasilnya, 26 dari 25 responden (96,16%) memiliki kadar COHb tinggi, sedangkan hanya 1 responden (3,84%) memiliki kadar normal. Faktor lain tingginya kadar COHb juga dapat dipengaruhi oleh kebiasaan merokok (Sihombing *et al.*, 2022). Hal ini terjadi karena rokok mengandung gas karbon monoksida yang dapat terhirup dan masuk ke dalam tubuh perokok. Selain perokok aktif, perokok pasif pun berisiko terpapar gas CO melalui asap rokok yang ada di sekitarnya (Khairina, 2019). Jika gas ini terhirup masuk ke dalam tubuh, ia akan berikatan dengan hemoglobin dalam darah dan membentuk

senyawa COHb (Nuriyah *et al.*, 2022). Pada penelitian ini didapatkan seluruh responden merupakan perokok (100%).

Jika gas karbon monoksida terhirup dapat menyebabkan berbagai gangguan kesehatan tergantung pada lamanya paparan dan konsentrasinya. Paparan karbon monoksida selama satu jam atau lebih konsentrasi 50-100 ppm dan 250 ppm dapat menyebabkan sakit kepala, pusing, bahkan berisiko koma dan kerusakan sel otak. Paparan karbon monoksida dengan konsentrasi 750 ppm selama satu jam dapat menyebabkan kehilangan kesadaran, dan jika berlangsung selama 3-4 jam bisa menyebabkan kematian (Nuriyah *et al.*, 2022). Hal ini disebabkan oleh sifat toksik karbon monoksida secara metabolik, yang memungkinkan gas ini bereaksi dengan hemoglobin dalam darah membentuk senyawa COHb. Ikatan antara karbon monoksida dan hemoglobin ini jauh lebih kuat dibandingkan ikatan antara oksigen dan hemoglobin. Akibatnya, hemoglobin lebih memilih mengikat karbon monoksida dari pada oksigen, sehingga mengganggu peran utamanya dalam mengangkut oksigen ke seluruh tubuh (Rusmaya *et al.*, 2022).

KESIMPULAN

Sebagian besar pengendara ojek online di Kota Pekanbaru memiliki kadar karboksihemoglobin (COHb) tinggi yang melebihi nilai ambang batas normal. Dari 19 responden, 13 orang (68,42%) memiliki kadar COHb tinggi dan 6 orang (31,58%) normal. Hasil ini menunjukkan adanya hubungan antara paparan karbon monoksida dan peningkatan kadar COHb pada pekerja transportasi berbasis daring.

Penelitian ini menegaskan bahwa paparan gas kendaraan bermotor berisiko terhadap gangguan sistem pernapasan dan transportasi oksigen dalam darah. Oleh karena itu, diperlukan penggunaan masker pelindung, pengaturan jam kerja yang wajar, serta pemeriksaan kesehatan berkala bagi pengendara.

Penelitian ini berkontribusi dalam memperkuat kajian toksikologi lingkungan dengan menampilkan biomarker paparan karbon monoksida di wilayah perkotaan. Penelitian lanjutan disarankan melibatkan jumlah sampel lebih besar serta mempertimbangkan variabel lain seperti tingkat polusi udara, kebiasaan merokok, dan penggunaan alat pelindung diri untuk analisis risiko yang lebih komprehensif.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini dapat terlaksana dengan baik atas bantuan berbagai pihak terutama, terutama kepada Akademi Kesehatan John Paul II Pekanbaru dan pengendara ojek *online* di Kota Pekanbaru yang telah mendukung untuk tercapainya tujuan penelitian ini.

REFRENSI

Alhafids, M. S., & Hardiman, S. (2024). Analisis Faktor Kelelahan Kerja pada Pengendara Ojek Online di Kota Tanggerang Selatan. Ilmu Kesehatan, 14(3), 1–8.

Apriliyani, S. A., Martono, Y., Riyanto, C. A., Mutmainah, & Kusmita, L. (2018). Validation of UV-VIS Spectrophotometric Methods for Determination of Inulin Levels from Lesser Yam (Dioscorea esculenta L.). Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi, 21(4), 161–165.

Arofah, A. F. S., & Alam, Y. T. (2019). Eksistensi Driver Ojek Online Wanita Sebagai Bentuk Kesetaraan Gender. Sosiologi Nusantara, 5, 171–183.

Basri, S., Mallapiang, F., Ibrahim, I. A., Syarfaini, Ibrahim, H., & Basri, S. (2017). Gambaran Konsentrasi Karbon Monoksida Dalam Darah (COHb) Pada Mekanik General Repair Service Dan Suku Cadang Dealer Otomotif Makassar. Journal of Public Health, 3(3), 177–184.

Dewanti, I. R. (2018). Identification of CO Exposure, Habits, COHb Blood and Worker's Health Complaints on Basement Waterplace Apartment, Surabaya. Jurnal Kesehatan Lingkungan, 10(1), 59–69.

Dharmawan, W., & Susanti, D. (2012). Pengukuran Sensitivitas Sensor Gas Co Dari Material Wo 3 Hasil Proses Sol Gel Dan Kalsinasi Terhadap Variasi Konsentrasi Dan Temperatur Operasi. Jurnal Teknik Pomits, 1(1), 1–5.

Khairina, M. (2019). Gambaran Kadar CO Udara, COHb dan Tekanan Darah Pekerja Basment Pusat Perbelanjaan X Kota Malang. Jurnal Kesehatan Lingkungan, 11(2), 150–157.

Kiswari, R. (2002). Hematologi & Transfusi. Erlangga.

Kristianingsih, Y., Masdianto, Kurniawati, Y., & Ranggita, A. (2024). Hubungan Kadar Karbon Monoksida dalam Darah Pada Mahasiswa Universitas Mohammad Husni Thamrin dengan Perbedaan Usia, Jenis Kelamin, Kebiasaan Merokok dan Lama Perjalanan dengan Mengendarai Sepeda Motor. Anakes : Jurnal Ilmiah Analis Kesehatan, 10(1), 11–19.

Mahendra, Y. I., Setiawan, D., Fawwazir, A. H., Ratna, D., & Zahra, M. U. (2022). Analisis pengaruh stress kerja terhadap ojek online di Kota Medan. Nautical : Jurnal Ilmiah Multidisiplin Indonesia, 1(4), 246–252.

Muthia, A., & Hendrawan, A. (2017). Perancangan Masker Sebagai Alat Pelindung Diri Bagi Pengendara Sepeda Motor Wanita. Atrat, 5(3), 208–219.

Novitasari, A. E., Rosidah, & Farihah, N. (2021). Analisis Kadar SGPT dan SGOT Pengemudi Ojek Online yang Terpapar Asap Kendaraan Bermotor. Journals of Ners Community, 12(1), 114–119.

Nuriyah, S., Harningsih, T., & Purwati. (2022). Gambaran Kadar Karboksihemoglobin (COHb) Pada Mahasiswa Pengguna Sepeda Motor. Farmasetis, 11(1), 51–58.

Rusmaya, D., Hasbiah, A., & Dwikamila, C. (2022). Pengukuran Konsentrasi Karbon Monoksida dan Kadar Karboksihemoglobin pada Petugas Parkir di Pasar Ujung Berung Kota Bandung. Jurnal Infromatika,Manajemen Dan Teknologi, 24(2), 113–118.

Sihombing, O. E., Andaria, A. J., & Pascoal, K. G. (2022). Kadar Karboksihemoglobin (COHb) Pada Petugas Lalu Lintas Angkutan Jalan (LLAJ) Dinas Perhubungan Kota Manado. Kadar Karbosihemoglobin (COHb) Pada Petugas Lalu Lintas Angkutan Jalan (LLAJ) Dinas Perhubungan Kota Manado, 1(1), 16–22.

Suhartati, T. (2019). Dasar-dasar Spektrofotometer UV-Vis dan Spektrometri Massa untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik. Aura CV. Anugraj Utama Raharja Anggota IKAPI No.003/LPU/2013, 11(1), 1–14.

Susilowati, I. T., Adinar Widihastuti, L., & Risma Juniawati, E. (2021). Analisa Kadar Karbosihemoglobin (HbCO) pada Driver Ojek Online (GO-JEK) dan Petugas Sukarelawan Pengaturan Lalu Lintas di Surakarta. Jurnal Kesehatan Kusuma Husada, 82–88.

Wahid, R. S. A., Rahman, M. P. S., Raudah, S., Utami, R. A., Mawardani, M. T., & Marsudi, L. O. (2024). Analisa Kadar Karboksihemoglobin (COHb) pada Pedagang Kaki Lima di Pasar Tradisional Kota Samarinda. Borneo Jurnal Of Medical Laboratory Technology, 7(1), 598–605.

Wahid, R. S. A., Raudah, S., Utami, R. A., & Jelita, T. P. (2023). Uji Kadar Karboksihemoglobin (COHb) pada Pengendara Ojek Online di Samarinda Test Carboxyhemoglobin (COHb) Levels in Online Motorbike Taxi Drivers in Samarinda). Jurnal Teknologi Laboratorium Medik Borneo, 3(1), 35–40.

ANALISIS PEMANTAPAN MUTU INTERNAL DENGAN *SIGMA* METRIK PADA PEMERIKSAAN DARAH RUTIN, UREUM, DAN KREATININ DI LABORATORIUM RUMAH SAKIT UNS

Nathali Puspitasari Simarmata[1*] · Lailly Putri Alfiah Ramadhani[1] · Reny Pratiwi[1*] · R.M. Narindro Karsanto[2] · Dewi Sulistyawati[2] · Amiroh Kurniati[3,4]

[1]Program Studi D4 Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi, Jawa Tengah, Indonesia
[2]Program Studi D3 Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi, Jawa Tengah, Indonesia
[3]Program Pendidikan Dokter Spesialis Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta, Jawa Tengah, Indonesia
[4]RSUD Dr. Moewardi, Surakarta, Jawa Tengah, Indonesia

e-Mail: 14210999n@mhs.setiabudi.ac.id, reny.pratiwi@setiabudi.ac.id
No. Tlp. WA: 082147587989, 081292860075

Abstract

Internal Quality Control (IQC) plays a crucial role in ensuring the accuracy and precision of laboratory testing. This study aimed to evaluate the IQC system using the Sigma Metric approach in hematology and clinical chemistry tests at UNS Hospital Laboratory. A descriptive quantitative method with retrospective data analysis was applied using internal control results from the *Mindray BC-760 Hematology Analyzer* and *TMS 30i Chemistry Analyzer* from January to December 2024. Evaluation was conducted using *Levey-Jennings* charts, *Westgard Rules*, and Sigma Metric calculations. The findings revealed that most hematology parameters had sigma values ≥4 (good to excellent), with Hb and WBC reaching >6, indicating high analytical performance. In contrast, the clinical chemistry section showed moderate quality for urea (σ 3–5) and low quality for creatinine (σ 1–2), suggesting systematic errors due to reagent or calibration issues. Overall, the IQC implementation was effective in hematology testing, though further improvements are required in clinical chemistry assays to achieve optimal analytical.
Keywords: internal quality control, sigma metric, Westgard rules, hematology, clinical chemistry

Abstrak

Pemantapan Mutu Internal (PMI) merupakan bagian penting dalam menjamin ketelitian dan ketepatan hasil pemeriksaan laboratorium. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi sistem PMI menggunakan metode Sigma Metrik pada pemeriksaan hematologi dan kimia klinik di Laboratorium Rumah Sakit UNS. Penelitian dilakukan secara deskriptif kuantitatif dengan data retrospektif hasil kontrol internal pada alat *Hematology Analyzer Mindray BC-760* dan *Automatic Chemistry Analyzer TMS 30i* selama Januari–Desember 2024. Evaluasi dilakukan melalui grafik *Levey-Jennings*, penerapan aturan *Westgard*, serta perhitungan nilai *Sigma* untuk menilai kinerja analitik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sebagian besar parameter hematologi memiliki nilai *sigma* ≥4 (baik–sangat baik), terutama Hb dan WBC dengan *sigma* >6, menunjukkan akurasi dan presisi tinggi. Pada pemeriksaan kimia klinik, ureum berada pada kategori cukup baik (σ 3–5), sedangkan kreatinin menunjukkan nilai sigma 1–2 yang

mengindikasikan perlunya evaluasi lebih lanjut terhadap faktor analitik yang memengaruhi kinerja alat. Secara keseluruhan, sistem PMI di laboratorium ini berjalan efektif, dengan hasil analisis Sigma Metrik memberikan informasi penting untuk perbaikan berkelanjutan dan peningkatan mutu layanan laboratorium menuju standar analitik yang optimal.
Kata kunci: pemantapan mutu internal, sigma metrik, aturan Westgard, hematologi, kimia klinik

PENDAHULUAN

Laboratorium kesehatan merupakan bagian integral dari sistem pelayanan kesehatan yang berperan penting dalam penegakan diagnosis, pemantauan terapi, dan evaluasi kondisi kesehatan pasien (Aryani *et al*., 2024). Kualitas hasil pemeriksaan laboratorium sangat ditentukan oleh kemampuan laboratorium dalam menjaga akurasi (ketepatan) dan presisi (ketelitian) hasil analisis. Hasil yang tidak akurat dapat menyebabkan kesalahan diagnosis dan berdampak pada keselamatan pasien (Kamilla *et al.,* 2020). Oleh karena itu, diperlukan sistem pengendalian mutu yang terencana, sistematis, dan berkelanjutan.

Menurut Kementerian Kesehatan Republik Indonesia Nomor 43 Tahun 2013, Pemantapan Mutu Laboratorium adalah seluruh kegiatan yang ditujukan untuk menjamin ketelitian dan ketepatan hasil pemeriksaan. Pemantapan mutu terdiri dari dua bagian utama, yaitu Pemantapan Mutu Internal (PMI) dan Pemantapan Mutu Eksternal (PME) (Kemenkes RI, 2013). Pemantapan Mutu Internal dilaksanakan oleh laboratorium secara terus menerus untuk memantau performa alat, mendeteksi *error*, dan memastikan hasil tetap stabil (Woelansari *et al.,* 2019), sedangkan PME dilakukan oleh lembaga eksternal sebagai pembanding hasil antar laboratorium untuk menilai objektivitas dan keakuratan hasil (Anisa *et al.,* 2022).

Pemantapan Mutu Internal merupakan proses penting dalam menjamin mutu hasil pemeriksaan di seluruh tahapan kegiatan laboratorium, yaitu pra-analitik, analitik, dan pasca-analitik. Kesalahan terbanyak ditemukan pada tahap pra-analitik (60–70%), sedangkan kesalahan tahap analitik berkisar 10–15% dan pasca-analitik 15–20% (Setiawan, 2021). Oleh sebab itu, tahap analitik perlu

dikendalikan dengan ketat melalui metode statistik seperti grafik *Levey-Jennings* dan aturan Westgard (Westgard *et al.*, 2022). Grafik *Levey-Jennings* digunakan untuk memantau kestabilan hasil kontrol, sedangkan aturan Westgard membantu mendeteksi adanya kesalahan acak maupun sistematik dalam pemeriksaan (Ihda, 2020).

Selain menggunakan aturan Westgard, perkembangan teknologi laboratorium telah memperkenalkan pendekatan *Sigma* Metrik sebagai alat ukur kuantitatif untuk menilai kualitas proses analitik. *Sigma* metrik merupakan ukuran statistik yang menggambarkan performa proses berdasarkan jumlah kesalahan per sejuta peluang (*Defects Per Million Opportunities*/DPMO) (Westgard, 2020). Skala *sigma* berkisar antara 1 hingga 6; semakin tinggi nilai *sigma*, semakin baik kualitas hasil pemeriksaan (Kalra & Kopargaonkar, 2016). Laboratorium dengan nilai *sigma* ≥6 menunjukkan performa sangat baik dengan tingkat kesalahan yang sangat rendah, sedangkan nilai <3 menunjukkan perlu adanya evaluasi dan peningkatan mutu.

Dalam bidang hematologi, pemantapan mutu berperan penting karena pemeriksaan darah rutin seperti hemoglobin (Hb), hematokrit (HCT), sel darah merah (RBC), sel darah putih (WBC), dan trombosit (PLT) merupakan pemeriksaan dasar yang digunakan untuk menilai kondisi kesehatan pasien (Lugos *et al.*, 2018; Vis & Huisman, 2016). Pemeriksaan tersebut harus memiliki tingkat presisi dan akurasi tinggi agar dapat memberikan interpretasi klinis yang tepat. Sedangkan pada bidang kimia klinik, parameter seperti ureum dan kreatinin digunakan untuk menilai fungsi ginjal (Miksusanti, 2025). Hasil pemeriksaan yang tidak valid pada kedua parameter tersebut dapat mengakibatkan kesalahan penilaian fungsi ginjal yang berpotensi membahayakan pasien.

Beberapa penelitian terdahulu menunjukkan variasi penerapan metode *sigma* metrik dalam menilai kualitas pemeriksaan laboratorium. Penelitian Fuadi (2019) menemukan bahwa nilai rata-rata *sigma* metrik pada alat *Hematology Analyzer Cell Dyne Ruby* sebesar 4,75 dengan kategori *good*,

menunjukkan bahwa performa alat cukup baik namun masih perlu peningkatan. Penelitian Kumar & Mohan (2018) menjelaskan bahwa penggunaan *sigma* metrik lebih sering diterapkan pada bidang kimia klinik dibandingkan hematologi karena masa simpan bahan kontrol kimia klinik lebih panjang, sehingga hasilnya lebih stabil. Selain itu, penelitian oleh Kurniawan (2019) menyatakan bahwa penerapan pemantapan mutu internal secara rutin dapat mengurangi risiko *systematic error* dan meningkatkan efisiensi waktu analisis. Temuan tersebut diperkuat oleh Setiawan (2021) yang melaporkan bahwa pengendalian tahap analitik dengan metode statistik seperti Westgard *Rules* dan *sigma* metrik secara signifikan meningkatkan akurasi hasil pemeriksaan laboratorium.

Berbagai hasil penelitian telah menunjukkan bahwa penerapan sistem pemantapan mutu internal yang dikombinasikan dengan analisis *sigma* metrik memberikan pendekatan yang lebih menyeluruh untuk menilai performa laboratorium. Namun demikian, sebagian besar penelitian sebelumnya hanya berfokus pada satu bidang pemeriksaan saja, misalnya hematologi atau kimia klinik, sehingga belum banyak studi yang mengkaji perbandingan dan konsistensi hasil penerapan *sigma* metrik pada berbagai jenis alat laboratorium. Oleh karena itu, kajian yang lebih luas mencakup kedua bidang tersebut diperlukan untuk memberikan gambaran umum tentang efektivitas penerapan *sigma* metrik dalam meningkatkan mutu hasil pemeriksaan laboratorium.

Rumah Sakit UNS merupakan RS Pendidikan yang melakukan pemeriksaan hematologi rutin dan kimia klinik dengan jumlah pemeriksaan yang banyak setiap harinya. Laboratorium RS UNS telah melaksanakan PMI harian, namun evaluasi kinerja alat masih dilakukan secara periodik, oleh karena itu diperlukan analisis menyeluruh menggunakan sigma metrik pada parameter darah rutin (Hb, HCT, RBC, WBC, dan PLT) dan pemeriksaan kimia klinik (ureum dan kreatinin) untuk menilai mutu pemeriksaan pada alat yang digunakan. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kinerja analitik *Hematology Analyzer* Mindray BC-760 dan *Chemistry Analyzer* TMS 30i selama periode

Januari–Desember 2024. Hasil penelitian diharapkan dapat menjadi dasar evaluasi berkelanjutan, meningkatkan akurasi diagnosis klinis, serta memperkuat kualitas pelayanan laboratorium.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Rumah Sakit UNS dikota Surakarta, Jawa Tengah, pada bulan Januari hingga Maret 2025. Penelitian ini menggunakan metode deskriptif kuantitatif dengan pendekatan observasional retrospektif. Tujuan penelitian adalah mengevaluasi sistem Pemantapan Mutu Internal (PMI) dengan menggunakan pendekatan *Sigma* Metrik pada dua bidang pemeriksaan laboratorium, yaitu hematologi dan kimia klinik.

Sampel penelitian berupa data hasil pemeriksaan bahan kontrol internal dari dua instrumen, yaitu *Hematology Analyzer* Mindray BC-760 untuk pemeriksaan darah rutin yang meliputi parameter hemoglobin (Hb), hematokrit (HCT), sel darah merah (RBC), sel darah putih (WBC), dan trombosit (PLT), serta *Automatic Chemistry Analyzer* TMS 30i untuk pemeriksaan kimia klinik dengan parameter ureum dan kreatinin. Data kontrol yang digunakan merupakan hasil pengujian harian laboratorium selama minimal dua puluh kali pengulangan berturut-turut.

Dalam melaksanakan PMI, bahan kontrol yang digunakan terdiri atas *Hematology Control* (level rendah, normal, dan tinggi) untuk pemeriksaan hematologi, serta Serum *Control* untuk pemeriksaan kimia klinik. Seluruh bahan kontrol disimpan pada suhu 2–8°C sesuai anjuran penggunaan agar stabilitas bahan tetap terjaga. Selanjutnya, bahan kontrol diperiksa dengan metode yang sama seperti pemeriksaan sampel pasien. Hasil pemeriksaan bahan kontrol dikumpulkan dan diplot ke dalam grafik *Levey-Jennings* untuk menilai kestabilan hasil pemeriksaan. Evaluasi hasil dilakukan dengan menerapkan aturan Westgard (1_2s, 1_3s, 2_2s, R_4s, dan 4_1s) guna mendeteksi kesalahan acak dan sistematik. Bila hasil kontrol melanggar salah satu aturan tersebut,

pemeriksaan dihentikan sementara dan dilakukan evaluasi ulang terhadap alat, reagen, atau operator.

Setiap parameter kemudian dihitung nilai koefisien variasi (CV%), bias (%), dan *Sigma* Metrik (σ) menggunakan rumus:

$$sigma\ (\sigma) = \frac{\%\text{TEa} - \%\text{Bias}}{\%\text{CV}}$$

dengan TEa (*Total Allowable Error*) mengacu pada standar *Clinical Laboratory Improvement Amendments* (CLIA). Nilai TEa yang digunakan adalah 4% untuk Hb, 4% untuk HCT, 4% untuk RBC, 10% untuk WBC, 25% untuk PLT, 15,55% untuk ureum, dan 8,87% untuk kreatinin. Nilai *sigma* yang dihasilkan diinterpretasikan sebagai berikut: ≥6 menunjukkan mutu sangat baik, 5–6 baik, 4–5 cukup, 3–4 kurang, dan <3 menunjukkan mutu rendah.

Seluruh data hasil pemeriksaan dianalisis secara deskriptif kuantitatif menggunakan perangkat lunak *Microsoft Excel* untuk menghitung rata-rata, simpangan baku, koefisien variasi, bias, serta nilai *sigma*. Data disajikan dalam bentuk tabel dan grafik untuk menggambarkan kestabilan hasil kontrol dan mutu analitik alat. Hasil analisis digunakan untuk menilai tingkat akurasi, presisi, dan performa alat pada kedua bidang pemeriksaan, serta untuk mengevaluasi efektivitas penerapan sistem pemantapan mutu internal di laboratorium rumah sakit.

HASIL

1. Analisis Aturan Westgard dan nilai Sigma Pemeriksaan Hematologi Rutin

Tabel 1. Hasil Evaluasi Aturan Wesgard *Hematology*

Bulan	Parameter				
	Hb (g/dL)	HCT (%)	WBC (*10^9/L)	RBC (*10^{12}/L)	PLT (*10^9/L)
Januari	-	2_{2s} Hari ke-29	-	-	2_{2s} Hari ke-29
Februari	-	-	-	-	-

Bulan	Parameter				
	Hb (g/dL)	HCT (%)	WBC (*10^9/L)	RBC (*10^{12}/L)	PLT (*10^9/L)
Maret	-	-	-	-	-
April	-	-	-	-	-
Mei	-	-	-	-	-
Juni	-	-	-	-	-
Juli	-	-	-	-	-
Agustus	-	-	-	-	-
September	-	-	-	-	-
Oktober	-	-	-	-	-
November	-	-	-	-	-
Desember	-	-	-	-	-

Hasil evaluasi aturan Westgard pemeriksaan hematologi ditunjukkan pada Tabel 1, meliputi parameter Hb, HCT, WBC, RBC, dan PLT. Secara umum, hasil kontrol menunjukkan kestabilan yang baik tanpa banyak pelanggaran aturan, kecuali pelanggaran 2_{2s} pada parameter HCT dan PLT di bulan Januari. Pelanggaran ini menandakan adanya variasi acak ringan namun masih dalam batas wajar, sehingga sistem Pemantapan Mutu Internal (PMI) pada pemeriksaan hematologi dapat dikatakan berjalan efektif dan alat hematology analyzer berfungsi dengan stabil. Hasil analisis nilai sigma pemeriksaan darah rutin ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Nilai *Sigma* Pemeriksaan Darah Rutin

Bulan	Parameter									
	Hb (g/dL)		HCT (%)		WBC (*10^9/L)		RBC (*10^{12}/L)		PLT (*10^9/L)	
	Nilai *Sigma*	Interpretasi	Nilai *Sigma*	Interpretasi	Nilai *Sigma*	Interpretasi	Nilai *Sigma*	Interpretasi	Nilai Sigma	Interpretasi
Januari	>6	*World class*	<3	*Poor*	6	*World class*	4	*Good*	5	*Excellent*
Februari	>6	*World class*	<3	*Poor*	>6	*World class*	3	*Marginal*	>6	*World class*
Maret	5	*Excellent*	5	*Excellent*	6	*World class*	4	*Good*	>6	*World class*
April	>6	*World class*	5	*Excellent*	5	*Excellent*	4	*Good*	>6	*World class*
Mei	>6	*World class*	5	*Excellent*	5	*Excellent*	6	*World class*	>6	*World class*

Bulan	Parameter									
	Hb (g/dL)		HCT (%)		WBC (*10^9/L)		RBC (*10^{12}/L)		PLT (*10^9/L)	
	Nilai *Sigma*	Interpretasi	Nilai *Sigma*	Interpretasi	Nilai *Sigma*	Interpretasi	Nilai *Sigma*	Interpretasi	Nilai Sigma	Interpretasi
Juni	5	*Excellent*	3	*Marginal*	5	*Excellent*	4	*Good*	>6	*World class*
Juli	6	*World class*	5	*Excellent*	5	*Excellent*	5	*Excellent*	>6	*World class*
Agustus	5	*Excellent*	5	*Excellent*	6	*World class*	4	*Good*	>6	*World class*
September	5	*Excellent*	4	*Good*	>6	*World class*	4	*Good*	>6	*World class*
Oktober	5	*Excellent*	4	*Good*	>6	*World class*	5	*Excellent*	>6	*World class*
November	6	*World class*	3	*Marginal*	5	*Excellent*	4	*Good*	>6	*World class*
Desember	4	*Good*	3	*Marginal*	5	*Excellent*	4	*Good*	>6	*World class*

2. Analisis Aturan Westgard dan nilai Sigma pada Pemeriksaan Kimia Klinik

Hasil evaluasi aturan Westgard pada pemeriksaan kimia klinik untuk parameter ureum dan kreatinin ditunjukkan pada Tabel 3. Hasil menunjukkan beberapa pelanggaran seperti 4_{1s} dan 10x pada beberapa bulan, yang menandakan adanya kesalahan sistematik akibat faktor reagen, kalibrasi alat, atau stabilitas bahan kontrol. Kondisi ini menunjukkan bahwa kestabilan analitik pada kimia klinik masih perlu ditingkatkan melalui evaluasi dan perawatan rutin alat. Hasil analisis nilai sigma pemeriksaan kimia klinik ditunjukkan pada Tabel 4.

Tabel 3. Hasil Evaluasi Aturan Wesgard Kimia Klinik

Bulan	Parameter	
	Kreatinin (mg/dl)	**Ureum (mg/dl)**
Januari	-	-
Februari	-	10x
Maret	-	-
April	-	10x
Mei	-	-
Juni	-	-

Bulan	Parameter	
	Kreatinin (mg/dl)	**Ureum (mg/dl)**
Juli	4_{1s}	10x
Agustus	-	-
September	-	-
Oktober	-	-
November	10x	4_{1s} dan 10x
Desember	10x	4_{1s} dan 10x

Tabel 4. Hasil Nilai *Sigma* Pemeriksaan Kimia Klinik

Bulan	Parameter			
	Ureum (mg/dL)		**Kreatinin (mg/dL)**	
	Nilai *Sigma*	**Interpretasi**	**Nilai *Sigma***	**Interpretasi**
Januari	3	*Marginal*	<3	*Poor*
Februari	5	*Excellent*	<3	*Poor*
Maret	<3	*Poor*	<3	*Poor*
April	3	*Marginal*	<3	*Poor*
Mei	3	*Marginal*	3	*Marginal*
Juni	3	*Marginal*	<3	*Poor*
Juli	5	*Excellent*	<3	*Poor*
Agustus	3	*Marginal*	<3	*Poor*
September	5	*Excellent*	<3	*Poor*
Oktober	-	-	-	-
November	<3	*Poor*	<3	*Poor*
Desember	<3	*Poor*	<3	*Poor*

DISKUSI

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penerapan Pemantapan Mutu Internal (PMI) dengan metode *Levey-Jennings*, aturan Westgard, dan *Sigma* Metrik berperan penting dalam menilai kestabilan dan performa analitik alat

hematologi serta kimia klinik di Laboratorium Rumah Sakit UNS. Pendekatan kombinatif ini memungkinkan pemantauan menyeluruh terhadap presisi, akurasi, serta potensi penyimpangan hasil uji dari batas kendali yang telah ditetapkan.

Berdasarkan hasil evaluasi menggunakan aturan Westgard, sebagian besar parameter hematologi menunjukkan hasil yang stabil tanpa pelanggaran berarti. Hanya ditemukan pelanggaran aturan 2_{2s} pada hari ke-29 untuk parameter HCT dan PLT, yang mengindikasikan adanya variasi acak (random error) ringan namun masih dalam batas yang dapat diterima. Kondisi tersebut mencerminkan bahwa sistem kontrol internal hematologi berfungsi dengan baik dan mampu mendeteksi variasi hasil sebelum menimbulkan ketidaksesuaian klinis.

Pada pemeriksaan kimia klinik, ditemukan pelanggaran aturan 41s dan 10x pada parameter kreatinin dan ureum di beberapa periode pengamatan. Pola pelanggaran ini menandakan kemungkinan adanya kesalahan sistematik (*systematic error*), yang dapat dipengaruhi oleh stabilitas reagen, faktor kalibrasi, atau kondisi instrumen (Westgard *et al.,* 2022). Evaluasi berkala terhadap faktor-faktor tersebut penting dilakukan untuk memastikan kinerja analitik tetap berada dalam batas kendali yang sesuai dengan standar mutu laboratorium klinik.

Analisis menggunakan Sigma Metrik memperkuat hasil dari penerapan aturan Westgard. Pada pemeriksaan hematologi, parameter Hb dan WBC memiliki nilai *sigma* >6 (kategori *World class*), sedangkan HCT dan RBC berkisar antara 3–5 (*marginal–excellent*), artinya kinerja analitik masih dalam batas penerimaan hingga sangat baik. Nilai ini menunjukkan bahwa sistem analitik alat Hematology Analyzer Mindray BC-760 memiliki presisi dan akurasi yang tinggi. Hasil tersebut sejalan dengan penelitian Lugos et al. (2018), yang menyatakan bahwa pemeriksaan hematologi otomatis dapat mencapai kestabilan hasil yang optimal apabila sistem PMI diterapkan secara rutin dan konsisten.

Pada pemeriksaan kimia klinik, parameter ureum menunjukkan nilai sigma 3–5 (*marginal–excellent*), artinya kinerja analitik masih dalam batas penerimaan hingga sangat baik. Sementara pemeriksaan kreatinin berada pada nila sigma <3, artinya kinerja kurang stabil, dan disertai beberapa pelanggaran aturan Westgard. Temuan ini mengindikasikan perlunya evaluasi lanjutan terhadap proses analitik, termasuk performa reagen, kalibrasi alat, serta kondisi bahan kontrol (Kumar & Mohan, 2018; Setiawan, 2021). Nilai sigma yang lebih rendah tidak selalu menunjukkan kesalahan besar, tetapi menjadi indikator penting untuk perbaikan berkelanjutan dan peningkatan konsistensi hasil pengujian.

Secara keseluruhan, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa sistem PMI di Laboratorium Rumah Sakit UNS telah berjalan efektif, terutama pada bidang hematologi yang menunjukkan performa analitik konsisten dan akurat. Namun, pemeriksaan kimia klinik, khususnya kreatinin, masih memerlukan pemantauan rutin dan optimalisasi sistem analitik agar dapat mencapai standar mutu sigma ≥4. Penerapan terpadu antara aturan Westgard dan analisis Sigma Metrik terbukti efektif dalam mendeteksi potensi penyimpangan sejak dini, menjaga keandalan hasil laboratorium, dan mendukung upaya peningkatan keselamatan pasien melalui hasil uji yang valid dan terpercaya.

KESIMPULAN

Penerapan Pemantapan Mutu Internal (PMI) dengan metode Levey-Jennings, aturan Westgard, dan Sigma Metrik di Laboratorium Rumah Sakit UNS berjalan efektif dalam memantau kestabilan dan kinerja analitik alat. Pemeriksaan hematologi menunjukkan performa sangat baik dengan nilai sigma ≥4, sedangkan pemeriksaan kimia klinik, khususnya kreatinin, memerlukan evaluasi berkelanjutan untuk meningkatkan konsistensi hasil. Analisis kombinatif antara Westgard Rules dan Sigma Metrik terbukti mendukung deteksi dini penyimpangan hasil serta menjadi dasar peningkatan mutu layanan laboratorium.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak Laboratorium Rumah Sakit UNS di Kota Surakarta yang telah memberikan izin penelitian, fasilitas, serta dukungan data selama pelaksanaan penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan bahwa tidak terdapat konflik kepentingan dalam penelitian ini.

REFERENSI

Anisa, N., Pratiwi, D., & Wulandari, R. (2022). Evaluasi pelaksanaan pemantapan mutu eksternal pada laboratorium klinik swasta di Indonesia. *Jurnal Teknologi Laboratorium*, 11(2), 101–107. https://doi.org/10.xxxxxx/jtl.2022.11.2.101

Aryani, D., Wibowo, H., & Rahayu, T. (2024). Penerapan sistem mutu laboratorium untuk peningkatan akurasi hasil pemeriksaan klinik. *Jurnal Kesehatan Terpadu Indonesia*, 15(1), 25–33.

Definitia, I., & Woelansari, R. (2019). Penerapan pemantapan mutu internal pada pemeriksaan hematologi. *Jurnal Ilmiah Teknologi Laboratorium Medik*, 8(3), 200–208.

Fuadi, A. (2019). Evaluasi kualitas pemeriksaan hematologi menggunakan metode sigma metrik pada alat Cell Dyne Ruby. *Indonesian Journal of Laboratory Science*, 8(2), 45–51.

Ihda, R. (2020). Analisis penerapan grafik Levey-Jennings pada kontrol kualitas internal di laboratorium klinik. *Jurnal Sains dan Diagnostik Laboratorium*, 9(1), 32–39.

Kalra, J., & Kopargaonkar, A. (2016). Six sigma in clinical laboratory: A review. *International Journal of Clinical Biochemistry Research*, 3(1), 6–10. https://doi.org/10.5958/2394-6377.2016.00002.1

Kamilla, A., Nugraheni, E., & Prasetyo, R. (2020). Dampak kesalahan hasil laboratorium terhadap keselamatan pasien. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*, 11(4), 345–351.

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2013). *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 43 Tahun 2013 tentang Penyelenggaraan Laboratorium Kesehatan*. Jakarta: Kemenkes RI.

Kumar, A., & Mohan, S. (2018). Application of sigma metrics for assessing the analytical quality of clinical biochemistry analyzers. *International Journal of Clinical Chemistry*, 27(2), 118–124.

Kurniawan, B. (2019). Pengaruh penerapan pemantapan mutu internal terhadap efisiensi waktu analisis laboratorium klinik. *Jurnal Teknologi dan Laboratorium Medik*, 10(1), 65–71.

Lugos, M. D., Adhi, K., & Rahmawati, D. (2018). Pengendalian mutu pemeriksaan hematologi otomatis untuk menjaga akurasi hasil. *Jurnal Sains Laboratorium Medik*, 7(1), 55–61.

Miksusanti. (2025). *Analisis Laboratorium Klinik dan Interpretasi Hasil Pemeriksaan*. Palembang: Universitas Sriwijaya Press.

Setiawan, E. (2021). Evaluasi kesalahan tahap analitik pada pemeriksaan laboratorium menggunakan metode Westgard Rules. *Jurnal Kesehatan dan Sains Diagnostik*, 12(3), 145–152.

Vis, J. K., & Huisman, A. (2016). Analytical performance goals for hematology parameters based on biological variation: A review. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 54(1), 45–52. https://doi.org/10.1515/cclm-2015-0387

Westgard, J. O. (2020). *Six Sigma Quality Design and Control: Desirable Precision and Accuracy in Clinical Chemistry*. Madison, WI: Westgard QC, Inc.

Westgard, J. O., Bayat, H., & Westgard, S. A. (2022). The Westgard rules and Sigma metrics in laboratory quality management. *Clinical Biochemistry Reviews*, 43(1), 15–25.

RESPON IMUN TERHADAP PROTEIN REKOMBINAN MPT64 *M.tuberculosis* ISOLAT LOKAL SEBAGAI KANDIDAT IMUNOSERODIAGNOSTIK

Nurul Inayati[1]. Fihiruddin[1*]. Heri Setiyo Bekti[2]

[1] Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Mataram, Indonesia
[2] Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Denpasar, Indonesia

Email: fihir.analis@yahoo.co.id
081917499121

Abstrak

Latar Belakang: Pengembangan alat diagnostik untuk mendeteksi kasus TB sangat dibutuhkan. Alat deteksi seharusnya dapat menemukan penyakit TB lebih cepat, dengan spesifisitas dan sensitivitas yang optimal. Protein MPT64 merupakan antigen spesifik, bersifat imunogenik serta sangat berperan dalam menstimulasi sistem imun seseorang yang terinfeksi *M. tuberculosis*. Penelitian ini bertujuan mengetahui respon imun terhadap protein rekombinan MPT64 *M. tuberculosis* isolat lokal sebagai kandidat Imunoserodiagnostik. **Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian eksprimental, dimana Hasil PCR gen Rv1980c disisipkan pada plasmid pET SUMO, dan ditransformasikan ke sel kompeten E.coli BL21(DE3). Protein rekombinan diekpresikan pada media Luria Bertani serta diamati menggunakan SDS-PAGE dan Western Blotting. Uji proliferasi sel B dan sel T dilakukan secara invitro dengan uji MTT dan Optical dencitynya diukur menggunakan ELISA reader pada λ 595nm serta dianalisis dengan uji statistik One Way Anova.**Hasil:** Hasil PCR gen RV1980c *M.tuberculosis* adalah 619 bp. Pemeriksaan SDS-PAGE dan Western blotting protein MPT64 menunjukkan berat molekul 36-kDa. Hasil Optical Dencity sel B yang dipapar protein rekombinan MPT64 dengan konsentrasi 10µg/ml, 5µg/ml, 2,5µg/ml dan 1,25µg/ml masing-masing adalah 0.435, 0.381, 0.286 dan 0.252. Optical Dencity sel T masing-masing adalah 0.276,0.202,0.184 dan 0.178. Berdasarkan uji statistik ditemukan perbedaan yang signifikan diantara kelompok perlakuan (p=0,011) **Kesimpulan:** Protein rekombinan MPT64 M.tuberculosis isolat lokal bersifat imunogenik sehingga berpotensi dikembangkan menjadi bahan imunoserodiagnostik

Key Word: Protein Rekombinan MPT64, *M.tuberculosis*, Imunoserodiagnostik

PENDAHULUAN

Tuberkulosis (TB) merupakan masalah kesehatan yang sangat serius dan menyebabkan risiko gangguan pernapasan jangka panjang yang memerlukan perawatan dan perhatian. Penyakit TB bertanggung jawab atas jutaan kematian per tahun di seluruh dunia, terutama di negara-negara berkembang[1]. Penyakit TB pada manusia merupakan penyakit menular langsung yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) yang terutama menyerang organ paru-paru, dan organ tubuh lainnya. Data WHO menunjukkan bahwa terdapat 10,4 juta orang yang terinfeksi M. tuberculosis, terdiri dari 5,9 juta (56%) pria, 3,5 juta (34%) wanita, dan 1 juta (10%) anak-anak[2,3]. Indonesia menjadi negara dengan jumlah kasus tuberkulosis terbesar kedua di

dunia setelah India, dengan 387 kasus baru per 100.000 penduduk dan 44 kematian per 100.000 penduduk pada tahun 2024[4]. Pertumbuhan bakteri M.tuberculosis yang lambat, strain yang sangat beragam, dan pengobatan yang lama menjadi masalah utama dalam pengobatan TB. Tantangan tambahan meliputi keberadaan strain tuberkulosis yang resistan (MDR-TB), infeksi Human *Immunodeficiency Virus* atau *Auto Immune Deficiency Syndrome* (HIV atau AIDS), keberadaan infeksi laten yang mencapai 40-50% dari kasus infeksi, serta penurunan efektivitas vaksin dan metode diagnostik yang umumnya tidak efektif dalam mengembangkan pengobatan yang berhasil[2,5].

Beberapa strategi telah diteliti untuk mengendalikan dan mengeliminasi TB. Di antara strategi-strategi ini adalah pencarian kandidat vaksin yang lebih efektif dan protein yang mempunyai sifat antigenik sebagai komponen untuk merancang alat diagnostik. Sampai saat ini, *Bacillus Calmette-Guerin* atau BCG merupakan satu-satunya vaksin tuberkulosis yang digunakan pada manusia[3,6]. Vaksin BCG efektif dalam mencegah infeksi pada bayi baru lahir, tetapi memberikan perlindungan yang kurang optimal dan efikasi yang sangat bervariasi terhadap infeksi TB pada orang dewasa. Eliminasi sejumlah besar kasus TB secara global bergantung pada deteksi dini, diagnosis, dan penanganan kasus. Sampai saat ini, deteksi *M. tuberculosis* di laboratorium masih dilakukan melalui pemeriksaan mikroskpopik, kultur, serta *genexpert* (TCM). Pemeriksaan kultur membutuhkan waktu lebih dari 2 minggu dan memerlukan pengelolaan sampel sputum yang cermat. Lamanya waktu yang diperlukan untuk kultur menyebabkan diagnosis tuberkulosis menjadi tidak efektif [7,8].

Pemeriksaan mikroskopis metode *Ziehl-Neelsen* untuk menemukan basil tahan asam (AFB) kurang sensitif dan spesifik. Pemeriksaan PCR, tes Mantoux, dan tes serologis adalah beberapa tes tambahan yang dilakukan untuk diagnosis infeksi tuberkulosis. Teknik amplifikasi DNA menggunakan PCR mempunyai banyak kelebihan, terutama kemampuan untuk melacak M. tuberculosis meskipun jumlahnya terbatas. Namun, metode ini mahal[9,10]. Salah satu pilar utama dalam mengatasi tuberkulosis adalah pengembangan instrumen diagnostik. Alat diagnostik yang ideal harus dapat mendeteksi semua jenis tuberkulosis lebih awal, dengan sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi, dan

memiliki hasil yang akurat. Penemuan protein yang bersifat antigenik untuk mendeteksi antibodi *M. tuberculosis* adalah alternatif alternatif yang efektif sebagai uji diagnostik karena prosesnya yang sederhana dan cepat [11].

MPT 64 adalah protein yang memainkan peran penting dan merupakan antigen khusus *M. tuberculosis*. Protein antigenic ini dikodekan oleh Gen Rv1980c yang terletak pada wilayah *Regions of Differences* (RD) 2. protein ini disekresikan oleh *M. tuberculosis* pada fase awal infeksi yang berpotensi dikembangkan sebagai antigen yang menjanjikan untuk uji serodiagnostik[12]. MPT64 memiliki antigen yang sangat dominan yang dikenali oleh sel T dan berperan sebagai faktor virulensi *M. tuberculosis*. Protein ini memindahkan bakteri dalam fagosom ke sitoplasma sel pada saat infeksi awal. MPT-64 secara kuat menginduksi sel T dan *Interferon-gamma* (INF-γ) karena mengandung epitop yang dikenali oleh sel T dan sel B pada pasien [13,14]. Produksi protein rekombinan dari gen pengkode MPT64 dapat menghasilkan antigen yang dapat digunakan sebagai bahan membuat alat diagnostik[15]. Cloning gen dilakukan untuk mendapatkan protein MPT64 dalam jumlah besar. Penelitian ini bertujuan mengetahui respon imun terhadap protein rekombinan MPT64 *M. tuberculosis* yang di isolat dari isolate lokal sebagai kandidat Imunoserodiagnostik.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental yang dilakukan dengan menguji proliferasi limfosit T dan limfosit B secara in vitro. DNA *M.tuberculosis* yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari hasil penelitian terdahulu. Gen Rv1980c penyandi protein MPT64 diamplifikasi menggunakan primer spesifik. Primer forward yang digunakan adalah: 5'- GCG CCC AAG ACC TAC TGC GAG GAG -3', primer reverse: 5'- CTA GGC CAG CAT CGA GTC GAT CGC -3'. Amplifikasi gen pengkode MPT64 dilakukan menggunakan mesin PCR Amplitron (*Thermolyne*) dalam volume reaksi 25 µL. Optimasi dilakukan dalam 35 siklus yang terdiri dari pradenaturasi selama 5 menit pada suhu 95ºC; Setiap siklus terdiri dari denaturasi selama 30 detik pada suhu 95ºC, annealing selama 30 detik pada suhu 56ºC, dan ekstensi selama 1 menit pada suhu 72ºC. Tahap

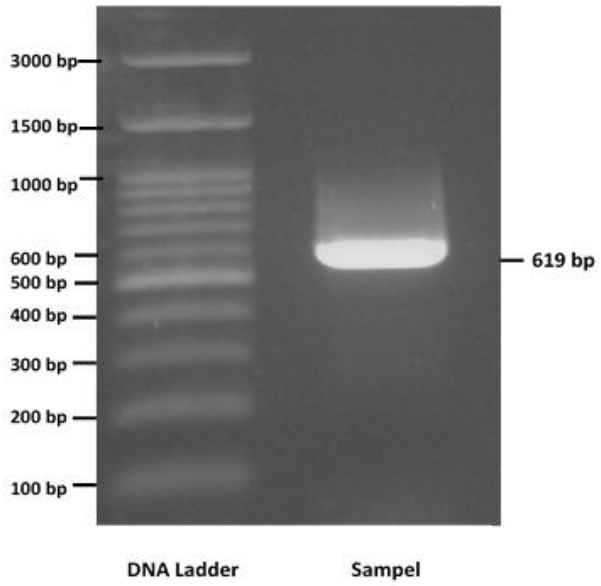
ekstensi dilakukan selama 10 menit pada suhu 72°C. Produk PCR divisualisasikan melalui elektroforesis dan inspeksi dilakukan di bawah sinar ultraviolet (UV) yang menunjukkan pita spesifik untuk *gen Rv1980c* sebesar 619 bp.

Proses ligasi produk hasil PCR dan plasmid pET SUMO dilakukan dengan DNA ligase T4. Transformasi plasmid pET SUMO ke sel Kompeten E.coli BL21 (DE3) dilakukan dengan metode *heat-shock* pada suhu 42°C. Selanjutnya, hasil transformasi ditambahkan 250 µl media SOC, diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam pada shaker inkubator berkecepatan 200 rpm dan disebarkan pada media LB agar yang mengandung kanamisin. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 sampai 48 jam. Pertumbuhan koloni dalam media LB diamati dan dilakukan perbanyakan jumlah koloni yang tumbuh pada media LB cair. Ekpresi protein rekombinan pada media LB cair dilakukan dengan penambahan IPTG 1.0 mM setelah *E.coli BL21* mencapai kekeruhan 0,6. Sonikasi dilakukan pada pellet *E.coli BL21* untuk memperoleh protein rekombinan, selanjutnya protein rekombinan dilakukan pemurnian menggunakan kolom kromatografi (Ni-NTA Purification System). Prosedur pemurnian protein rekombinan dikerjakan berdasarkan manual prosedur kit kolom *Protino™ Ni-NTA System* (Merck KGaA, Darmstadt, Germany). Hasil pemurnian protein rekombinan kemudian divisualisasikan dengan pemeriksaan SDS-PAGE dan Western Blotting.

Uji proliferasi sel B dan sel T dilakukan secara in vitro menggunakan media RPMI. Kelompok perlakuan dikelompokkan menjadi 4 kelompok untuk sel B dan 4 kelompok untuk sel T. Setiap kelompok intervensi diberikan protein MPT64 dengan konsentrasi 1,25 µg/ml, 2,5 µg/ml, 5 µg/ml, dan 10 µg/ml, selanjutnya diinkubasi pada inkubator CO2 5% suhu 37°C selama 48 jam. Setelah diinkubasi, larutan MTT (5 mg/mL) sebanyak 10 µL ditambahkan ke setiap well, kemudian diinkubasi kembali pada suhu 37°C selama 4 jam. Optical dencity yang dihasilkan di ukur serapannya menggunakan alat *ELISA reader* (mrc, Auto Microplate Reader) pada panjang gelombang 595 nm. Nilai densitas optik dari hasil uji MTT dianalisis menggunakan uji statistik One Way Anova.

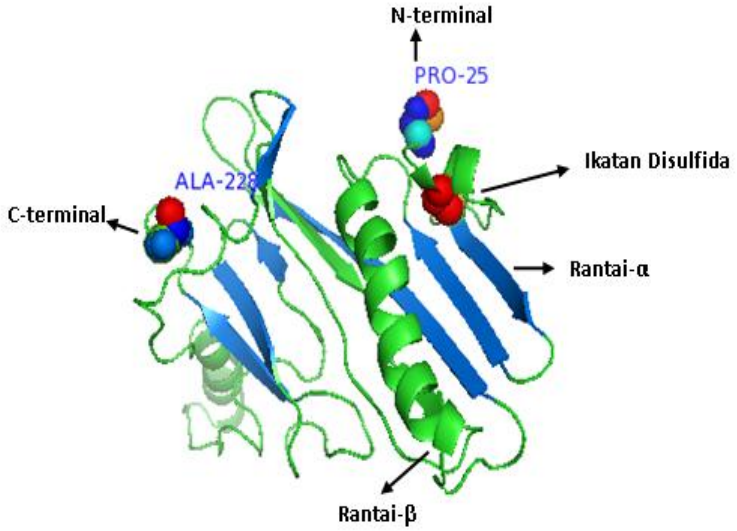
HASIL

Amplifikasi gen penyandi protein MPT-64 menghasilkan satu fragmen tunggal dengan panjang 619 bp (Gambar 1). Hasil amplifikasi gen penyandi protein MPT64 dengan PCR produk segar digunakan sebagai penyisipan DNA pada proses ligasi. Proses ligasi menggunakan vektor pET SUMO sebagai vektor kloning. Vektor ini dirancang untuk memfasilitasi kloning produk PCR secara langsung. Vektor pET SUMO memiliki ukuran nukleotida pada 5643 bp. Gen yang diamplifikasi yang mengkode protein MPT64 dari sel kompeten *E. coli BL21* (DE3) menunjukkan bahwa gen tersebut berhasil disisipkan ke dalam plasmid pET SUMO.



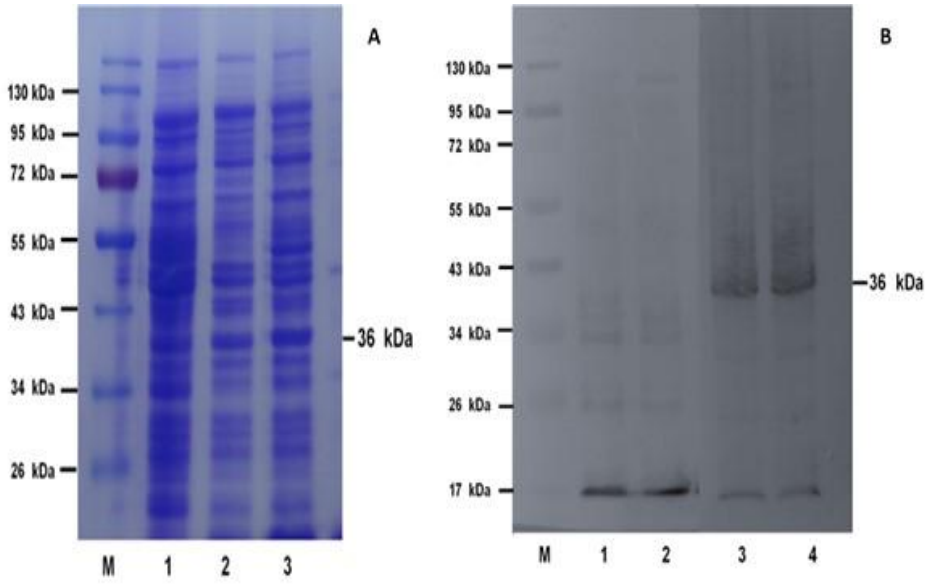
Gambar 1. Hasil PCR gen Rv1980c M.tuberculosis isolat lokal

Struktur tersier dari protein MPT64 ditentukan oleh interaksi yang terjadi antara gugus R (rantai samping) dari asam amino penyusunnya, sehingga menghasilkan bentuk tiga dimensi yang padat dan kompak pada protein tersebut (Gambar 2).



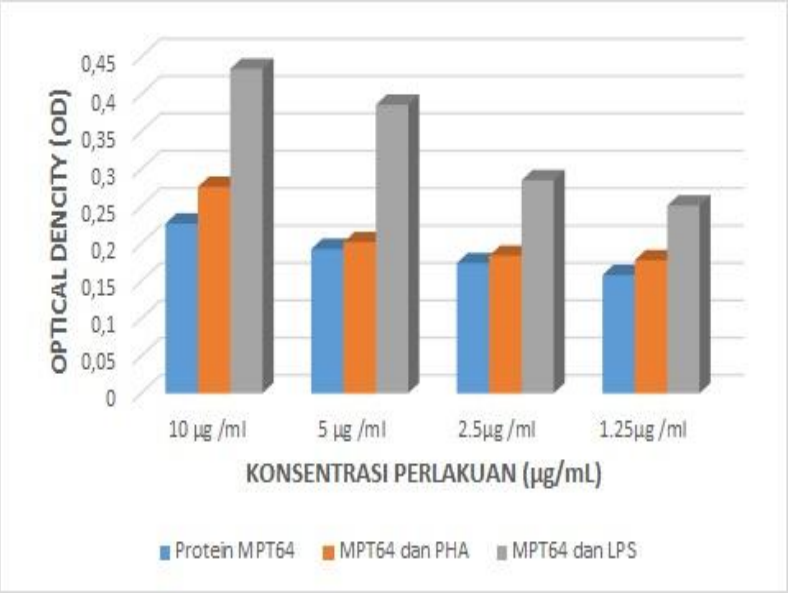
Gambar 2. Struktur 3D Protein rekombinan MPT.64 *M.tuberculosis*

Pita protein protein rekombinan MPT64 yang diperoleh dari pelet bakteri *E. coli BL21 (DE3)* yang dipapar dengan IPTG 1 mM divisualisasikan menggunakan SDS-PAGE, dan hasilnya menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu mengekspresikan protein rekombinan MPT64 dengan berat molekul 36 kDa (Gambar 3).



Gambar 3. Hasil SDS-PAGE (A) dan Western Bloting (B). Protein Rekombinan MPT64 *M.tuberculosis*

Untuk menguji imunogenitas protein rekombinan MPT64 *M.tuberculosis* terhadap proliferasi sel B dan sel T, diuji dengan penambahan (*3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide*) (MTT) pada media pertumbuhan sel. Uji ini berlandaskan pada prinsip reaksi redoks yang terjadi di dalam sel, di mana MTT direduksi oleh enzim suksinat dehidrogenase, yang menghasilkan garam formazan di dalam mitokondria sel hidup. Jumlah sel yang hidup akan meningkatkan absorbansi yang dihasilkan. Besarnya *optical dencity* (OD) yang diperoleh dapat dimanfaatkan untuk menilai aktivitas proliferasi sel B dan sel T karena jumlah limfosit yang hidup dan berproliferasi sebanding dengan nilai OD dari Kristal formazan yang dihasilkan. Media *Rosewell Park Memorial Institude* (RPMI 1640) digunakan untuk uji proliferasi sel B dan sel T dari protein rekombinan MPT64 M.tuberculosis secara in vitro. Media RPMI diinkubasi selama dua hari (48 jam) untuk mengetahui aktivitas imunogenik protein rekombinan MPT64 *M.tuberculosis* terhadap peningkatan jumlah sel B dan sel T. Pada penelitian ini, proliferasi sel T diinduksi dengan pemberian Phytohaemagglutinin (PHA) sebagai mitogen, sedangkan proliferasi sel B diinduksi dengan lipopolisakarida (LPS) (Gambar 4).



Gambar 4. Hasil Uji Prolifersasi sel B dan sel T Protein Rekombinan MPT64 *M.tuberculosis*

DISKUSI

Hasil pemeriksaan *SDS-PAGE* dan *Western Blotting* protein rekombinan MPT64 *M.tuberculosis* menunjukkan Berat molekul 36 kDa. Berat molekul protein MPT64 *M.tuberculosis* adalah 24 kDa sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Zare *et al.*, (2018) menunjukkan bahwa protein ini memiliki 228 asam amino dengan berat molekul 24,8 kDa. Tambahan protein Taq plasmid 12 kDa menyebabkan berat molekul protein rekombinan menjadi 36 kDa. Lebih lanjut, untuk memastikan keberadaan protein MPT64 dilakukan pemeriksaan *Western blotting* menggunakan antibodi anti-His tag (monoklonal tikus). Keberadaan antibodi anti-His tag lebih lanjut dideteksi dengan antibodi IgG anti-tikus. Kertas PVDF menunjukkan visualisasi pita setelah penambahan larutan substrat NBT/BCIP pada posisi 36 kDa[16].

Uji MTT dari proliferasi sel B dan sel T pada media RPMI memperlihatkan bahwa paparan protein rekombinan MPT64 yang digabung dengan mitogen PHA (pertumbuhan sel T) dan mitogen LPS (pertumbuhan sel B) menunjukkan OD yang lebih besar dibandingkan paparan PHA saja. Sistem kekebalan host pertama kali berinteraksi dengan protein MPT64., dan protein ini memiliki kemampuan untuk meningkatkan respon sistem kekebalan tubuh seseorang yang terinfeksi tuberkulosis. MPT64 memiliki kemampuan untuk mengaktifkan sel makrofag, yang memungkinkan reaksi imun yang kuat. Proliferasi limfosit terjadi ketika senyawa aktif terikat pada lapisan luar limfosit B dan T. Reaksi ini diawali dengan aktivasi G-protein pada permukaan sel oleh ikatan antigen dengan protein reseptor. Enzim fosfolipase C kemudian mengaktifasi protein kinase C, yang meningkatkan sekresi *interlukin-2* (IL 2) dan mendorong proliferasi limfosit B dan T[15,16].

Studi yang dilakukan oleh Gong *et al.* (2022) mengungkapkan bahwa protein rekombinan MPT64 dapat menstimulus sel B untuk memproduksi antibodi yang meningkat jika di gabung dengan vaksin BCG. Selain itu, protein MPT64 dapat menstimulasi respon imunitas seluler dan bertanggung jawab atas sekresi berbagai sitokin. Respon antibody yang distimulus sel B sangat penting untuk melawan infeksi *M. tuberculosis* yang bekerja sama dengan imunitas

seluler. Antibodi melawan infeksi melalui mekanisme opsonisasi, neutralisasi, aktivasi komplemen, dan toksisitas terhadap patogen (ADCC). Proses imunitas sel B untuk melawan *M. tuberculosis* melalui produk-produk sitokin, APC dan peran sel leukosit untuk menghancurkan bakteri yang hidup di dalam sel[8,17]. Untuk mengetahui seberapa kuat reaksi limfosit T dan B terhadap antigen MPT64, sel-sel yang masih hidup diwarnai dengan metode MTT. Metode ini dilandaskan pada ikatan senyawa *3-[4,5-dimetilthiazol-2yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide* (MTT) dengan enzim suksinat dehidrogenase yang diproduksi oleh sel. Enzim ini menghidrolisis garam tetrazolium yang berwarna kuning menjadi kristal biru formazan, yang kemudian dibaca menggunakan detektor pada alat ELISA. Banyaknya warna formazan menunjukkan banyaknya enzim yang menghidrolisis garam tetrazolium[18].

Hasil reaksi senyawa MTT ini sebanding dengan jumlah sel yang hidup pada media RPMI yang ditunjukkan dengan jumlah warna formazan yang terbentuk. Dalam studi ini, mitogen *Phytohaemagglutinin* (PHA) digunakan untuk mengunduksi proliferasi sel T dan *lipopolisakarida* (LPS) digunakan untuk menginduksi proliferasi sel B. Protein lektin mitogen PHA mempunyai gula terikat yang berperan sebagai pemicu proliferasi sel T. Mitogen LPS merupakan komponen dari bakteri *Eschericia sp* atau *Salmonella typhii*. LPS merupakan dinding sel bakteri yang mengandung lipid dan berikatan protein yang terdapat pada membran plasma untuk meningkatkan aktivitas seluler yang menstimulasi perbanyakan sel B dan aktivitas mitogenik[8].

Hasil studi ini mengungkapkan bahwa terjadi peningkatan *optical dencity* sel T dan sel B yang dipapar dengan protein MPT64 yang digabung dengan PHA atau LPS dibandingkan dengan pemaparan mitogen saja. Protein MPT64 adalah antigen yang mengawali respon sistem kekebalan host, dan dapat memperkuat stimulasi sistem kekebalan pada orang yang terinfeksi tuberkulosis. MPT64 memiliki kemampuan untuk menstumulasi sel makrofag untuk meningkatkan respons kekebalan yang kuat[15,16].

Protein MPT64 dihasilkan pada saat terjadinya infeksi dan menentukan arah stimulasi sistem kekebalan tubuh, termasuk pengaktifan sel T menjadi sel T efektor. MPT64 merupakan protein yang berperan sebagai antigen sekretori

imunodominant dan sangat berperan dalam interaksi dengan sel host, mengatur aktivasi sel, sistem kekebalan tubuh, dan berperan penting mengatur pertahanan hidup bakteri dalam sel host. Melalui aktivasi NF-B dan ROS, MPT64 dapat menjadi trigger produksi INF- ɣ dan memperbanyak produksi sitokin-sitokin proinflamasi. Interaksi protein MPT64 dengan sejumlah protein host, misalnya protein kinase serin/treonin (TBK1), protein kinase Cα, Heksokinase 2 (HK2), serta faktor yang berhubungan dengan TNF *receptor 6* (TRAF 6) dapat menstimulasi pengaktifan sistem kekebalan tubuh baik seluler maupun humoral. Gabungan vaksin BCG dan protein MPT64 menghasilkan peningkatan produksi antibodi spesifik dan INF-ɣ[13,17].

Proses proliferasi limfosit dimulai dengan interaksi antara senyawa aktif pada permukaan sel T dan B. Reaksi antara antigen dengan reseptor yang terdapat pada sel T dan IL-1 akan memicu pengaktifan G-protein pada lapisan luar sel, yang mengarah pada pembentukan enzim fosfolipase C (PLC). PLC akan menghidrolisis fosfolipid terutama *fosfatidilinositol 4,5-bisfosfat* (PIP2) menjadi *inositol 1,4,5-trisfosfat* (IP3) dan diasil gliserol (DAG). Proses Ini terjadi di membran plasma. Sekresi Ca2+ ke dalam sitoplasma akan diaktifkan oleh inositol trifosfat selanjutnya, akan menyebabkan konsentrasi Ca2+ dalam sitoplasma meningkat. Pengaktifan enzim *5-lipooxygenase* dan protein kinase C oleh peningkatan sekresi interlukin-2 (IL 2), akan memicu proliferasi sel T dan sel B. IL-2 mengatur perbanyakan jumlah sel T yang di stimulus oleh antigen melalui ikatan dengan reseptornya. Disamping itu, IL-2 dapat menjadi triger diferensiasi dan proliferasi limfosit B [19,20].

KESIMPULAN

Protein rekombinan MPT64 *M.tuberculosis* isolate lokal bersifat imunogenik dengan merangsang respon imun sel B dan sel T sehingga berpotensi dikembangkan menjadi bahan imunoserodiagnostik

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktur Politeknik Kesehatan Mataram yang telah menyediakan fasilitas yang dibutuhkan untuk penelitian ini.

Kami juga berterima kasih kepada Ibu Arsiah atas bantuannya di Laboratorium Biokimia, Pusat Penelitian Bioteknologi, Universitas Gadjah Mada.

KONFLIK KEPENTINGAN

Peneliti menyatakan tidak ada konflik kepentingan dalam pelaksanaan penelitian ini

REFERENSI

Gyimah, F.T. and Dako-Gyeke, P. (2019) Perspectives on TB patients' care and support: A qualitative study conducted in Accra Metropolis, Ghana. Global Health, 15(1): 19.

World Health Organization. (2018). Global Tuberculosis Control: WHO Report. World Health Organization Press, Geneva, Switzerland.

Fihiruddin, F., Artama, W.T., Wibawa, T. and Mertaniasih, N.M. (2020) Cloning, expression and T cell epitope prediction of fbpA and fbpB genes of Mycobacterium tuberculosis clinical isolates. J. Microbiol. Biotechnol. Food Sci., 9(5): 998–1002.

Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2024). Profil Kesehatan Indonesia. Kemenkes RI, Jakarta.

Yuen, C.M., Weyenga, H.O., Kim, A.A. (2014). Comparison of trends in tuberculosis incidence among adults living with HIV and adults without HIV – Kenya 1998–2012. Plos One, 9: e99880.

Jiang, Y., Liu, H., Wang, H., Dou, X., Zhao, X., Bai, Y., Wan, L., Li, G., Zhang, W., Chen, C., and Wan, K. (2013). Polymorphism of antigen MPT64 in Mycobacterium tuberculosis strains. Journal of clinical microbiology, 51(5), 1558–1562. https://doi.org/10.1128/JCM.02955-12

Grønningen, E., Nanyaro, M., Sviland, L. *et al*. MPT64 antigen detection test improves diagnosis of pediatric extrapulmonary tuberculosis in Mbeya, Tanzania. *Sci Rep* **11**, 17540 (2021). https://doi.org/10.1038/s41598-021-97010-2

Fihiruddin, F., Inayati, N., Jannah, R., Unsunnidhal, L., & Kusumawati, A. (2022). Expression and epitope prediction of MPT64 recombinant proteins from clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* as immunoserodiagnostic candidates. *Veterinary world*, *15*(10), 2376–2383. https://doi.org/10.14202/vetworld.2022.2376-2383

Nair, P.K., and Chourasia, E. (2017). Use of genexpert assay for diagnosis of tuberculosis from body fluid speciments, a 2 years study. J Microbiol Biotechnol. 1(1):105

Pope, V., Sacksteder, K. A., Hererra, J. C., Gilman, R. H., Vargas-Prada, S., Lopez Romero, S., Yafac, J., Sanchez Rios, E., and Moore, D. (2018). MPT64 patch test for the diagnosis of active pulmonary tuberculosis: a randomised controlled trial in Peru.

Sulman, S., Shahid, S., Khalid, A., Ambreen, A., Khan, I.H., et al. (2021). Enhanced serodiagnostic potential of a fusion molecule consisting of Rv1793, Rv2628 and a truncated Rv2608 of Mycobacterium tuberculosis. PLOS ONE, 16(11):e0258389. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0258389

Bahar, E. and Putra, A.E. (2019) Identification of Mycobacterium tuberculosis bacteria with TB antigen MPT64 rapid test against patients with suspect pulmonary tuberculosis in Lubuk Alung pulmonary hospital, Padang Pariaman. Earth Environ. Sci., 217: 1-6.

Kim, J.S., Cho, E., Mun, S.K., Kim, S., Kim, S.Y., Kim, D.G., Son, W., Jeon, H.I., Kim, H.K., Jeong, Y.J., Jang, S., Kim, H.S. and Yang, C.S. (2021) Multi-functional MPT protein as a therapeutic agent against Mycobacterium tuberculosis. Biomedicines, 9(5): 545.

Pan, X., Zhou, S., Jin, L., Ji, S., Lou, X., Lu, B., & Zhao, J. (2025). *mpt64* mutations in *Mycobacterium tuberculosis* with negative MPT64 antigen assay results from a tertiary hospital in Southeastern China. *Frontiers in medicine*, *12*, 1531853. https://doi.org/10.3389/fmed.2025.1531853

Xiao, T., Jiang, Y., Li, G., Pang, H., Zhao, X., and Wan, K. (2019). Polymorphism of MPT64 and PstS1 in Mycobacterium tuberculosis is not likely to affect relative immune reaction in human. Medicine, 98(49), e18073. https://doi.org/10.1097/MD.0000000000018073

Zare, H., Aryan, E., Alami, S., Yaghoubi, A., Teimourpour, R., & Meshkat, Z. (2018). Designing and Construction of a Cloning tuberculosis. Tanaffos, 17(3), 198–202

Gong, W., Pan, C., Cheng, P., Wang, J., Zhao, G., and Wu, X. (2022). Peptide-Based Vaccines for Tuberculosis. Frontiers in immunology, 13, 830497. https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.830497

Harti, S.H., Murharyati, A., Sulisetyawati, D., and Oktariani, M. (2018). The effectiveness of snail mucus (Achatina fulica) and chitosan toward limfosit proliferation in vitro. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 11(15):85. doi:10.22159/ajpcr.2018.v11s3.30041

Baratawidjaja, K.G. (2012). Imunologi Dasar. Eds.10. Fakultas Kedokteran UI. Jakarta.

Roitt, I.M., and Delves, P.J. (2016). Essential immunology, eds. 16. Oxford. Wiley-Blackwell Science.

Cao, XJ., Li, YP., Wang, JY. *et al*. MPT64 assays for the rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis*. *BMC Infect Dis* **21**, 336 (2021). https://doi.org/10.1186/s12879-021-06022-w

GREEN EXTRACTION OF *Azadirachta indica* LEAVES USING VIRGIN COCONUT OIL (VCO) AS ANTIACNE

I Wayan Karta[1]*, Burhannuddin[1] , Luh Ade Wilan Krisna[1], I Gusti Ngurah Dwija Putra[1], Ni Made Defy Janurianti[2]

[1]Department of Medical Laboratory Technology, Poltekkes Kemenkes Denpasar, Bali, Indonesia
[2]Department of Food and Agricultural Products Technology, Faculty of Agriculture, Science and Technology, Warmadewa University, Bali, Indonesia

e-Mail: iwayankartaganesh@gmail.com
WA : +6281805339884

Abstract

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas ekstrak daun nimba (*Azadirachta indica*) hasil *green extraction* menggunakan minyak kelapa murni (*Virgin Coconut Oil*, VCO) sebagai agen antiacne alami. Metode ekstraksi dilakukan dengan teknik maserasi menggunakan pelarut VCO pada tiga variasi konsentrasi (5%, 10%, dan 20%). Uji aktivitas antibakteri *in vivo* dilakukan pada mencit yang diinduksi bakteri *Cutibacterium acnes* untuk menimbulkan lesi menyerupai jerawat. Evaluasi dilakukan pada hari ke-5, ke-10, dan ke-15 dengan menilai jenis serta jumlah lesi (komedo, papula, dan pustula). Selain itu, analisis *in silico* dilakukan untuk memprediksi interaksi senyawa aktif non-polar daun nimba (gedunin, nimbin, dan nimbiloide) terhadap protein target *C. acnes* (PDB ID: 6KHM) menggunakan perangkat lunak PyRx, UCSF Chimera, dan Discovery Studio. Hasil uji *in vivo* menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak VCO–daun nimba pada konsentrasi 10% dan 20% mampu menghilangkan lesi jerawat secara signifikan, setara dengan efektivitas klindamisin sebagai kontrol positif. Hasil *in silico* memperlihatkan bahwa nimbiloide memiliki afinitas ikatan terkuat (–8,2 kcal/mol) dengan residu asam amino GLY178 dan ALA180, mirip dengan mekanisme klindamisin. Secara keseluruhan, kombinasi VCO dan daun nimba menunjukkan aktivitas antibakteri sinergis terhadap *C. acnes*, sehingga berpotensi dikembangkan sebagai bahan aktif alami yang ramah lingkungan untuk formulasi dermokosmetik antiacne.

Keywords *: Azadirachta indica, Virgin Coconut Oil, green extraction, Cutibacterium acnes, antiacne*

Abstrak

This study aimed to evaluate the effectiveness of neem (*Azadirachta indica*) leaf extract obtained through a green extraction process using Virgin Coconut Oil (VCO) as a natural anti-acne agent. The extraction was carried out using the maceration method with VCO as the solvent at three different concentrations (5%, 10%, and 20%). The *in vivo* antibacterial test was conducted on mice induced with *Cutibacterium acnes* to develop acne-like lesions. Evaluations were performed on days 5, 10, and 15 by assessing the number and types of lesions (comedones, papules, and pustules). Additionally, *in silico* analysis was conducted to predict the interaction of non-polar active compounds from neem leaves (gedunin, nimbin, and nimbiloide) with the *C. acnes* target protein (PDB ID: 6KHM) using PyRx, UCSF Chimera, and Discovery Studio software. The *in vivo* results showed that VCO–neem leaf extract at concentrations of 10% and 20% significantly eliminated acne lesions, demonstrating comparable efficacy to clindamycin as a positive control. The *in silico* results revealed that nimbiloide exhibited the strongest binding affinity (–8.2 kcal/mol) with amino acid residues GLY178 and ALA180, similar to clindamycin's binding pattern. Overall, the combination of VCO and neem leaf extract exhibited synergistic antibacterial activity against *C. acnes*, indicating its potential as an eco-friendly natural active ingredient for anti-acne dermocosmetic formulations.

Key words : Neem leaf, *Azadirachta indica*, Virgin Coconut Oil, green extraction, *Cutibacterium acnes*, anti-acne

INTRODUCTION

Acne is one of the most common dermatological disorders worldwide and can have significant psychological and social impacts on affected individuals. This condition arises from chronic inflammation of the pilosebaceous unit due to increased sebum production, follicular blockage, *Cutibacterium acnes* (*C. acnes*) colonization, and immune responses (Niedźwiedzka et al., 2024). Acne affects approximately 9.4% of the global population, making it one of the most prevalent skin disorders (Guguluș et al., 2025). Although acne is typically associated with adolescence, its incidence among adults—particularly women—has been increasing due to hormonal changes, stress, and the use of unsuitable cosmetic products (Kim & Kim, 2024).Conventional acne treatments often rely on topical or systemic antibiotics such as clindamycin and erythromycin (Amuzescu et al., 2024). However, long-term antibiotic use can lead to bacterial resistance, skin irritation, allergic reactions, and disruption of the normal skin microbiota (Ellis et al., 2024) (Dessinioti & Katsambas, 2022). These issues have driven the need for alternative therapeutic agents that are safe, natural, and environmentally friendly, while maintaining comparable antibacterial efficacy.

One of the most promising natural sources with well-documented antibacterial properties is *Azadirachta indica* (neem). Neem leaves contain several bioactive compounds such as gedunin, nimbin, and nimbiloide, which exhibit antibacterial, anti-inflammatory, and antioxidant properties (Herrera-Calderon et al., 2019). Neem extracts have demonstrated significant antibacterial activity against various bacterial strains, highlighting their potential application as active ingredients in dermocosmetic formulations (Baby et al., 2022). Nevertheless, most previous studies have employed conventional organic solvents such as ethanol, methanol, or ethyl acetate, which may leave toxic residues and pose environmental concerns.

In recent years, the concept of green extraction has emerged as a sustainable alternative in natural product research. Green extraction focuses on

the use of eco-friendly solvents and energy-efficient techniques that minimize waste and reduce environmental impact while preserving the integrity of bioactive compounds (Usman et al., 2023). One of the most promising solvents in this approach is Virgin Coconut Oil (VCO). VCO is a natural, non-polar solvent capable of efficiently extracting lipophilic compounds(Kok et al., 2021), and it also possesses inherent antibacterial activity due to its lauric acid and monolaurin content (Nitbani et al., 2022). These fatty acids are known to disrupt bacterial membranes and inhibit microbial growth.

The combination of neem leaf compounds and lauric acid from VCO is hypothesized to exert a synergistic antibacterial effect against *C. acnes*. The non-polar bioactives of neem may interfere with bacterial enzymatic pathways, while lauric acid contributes to the disruption of the bacterial membrane, enhancing overall antibacterial efficacy. This research introduces a novel approach by applying a VCO-based green extraction method for neem leaves—an extraction strategy that has not been widely investigated—and by integrating both in vivo and in silico (molecular docking) analyses to evaluate antibacterial activity from biological and molecular perspectives. Therefore, this study aims to evaluate the antibacterial and anti-acne potential of VCO-based green extracts of neem leaves through in vivo and in silico approaches. The findings are expected to contribute to the development of natural, eco-friendly anti-acne formulations and provide an alternative solution to the increasing problem of antibiotic resistance in acne treatment.

METHOD

Extraction Process

Neem (*Azadirachta indica*) leaves were obtained from the plantation area of the Taksu Tridatu Foundation, Nusa Penida. The leaves were first dried, ground into a fine powder, and then subjected to extraction using the maceration method with Virgin Coconut Oil (VCO) as the solvent at three different concentrations: 5%, 10%, and 20%. The VCO used in this study was sourced from the UMKM Taksu

Tridatu, Nusa Penida. The maceration process was carried out for four days with periodic stirring to ensure proper homogenization between the solvent and the sample. After maceration, the mixture was filtered using filter paper to obtain a clear filtrate, which represented the neem leaf–VCO extract.

***In Vivo* Antibacterial Activity Test**

The *in vivo* antibacterial activity test was conducted using mice that had been induced with *Cutibacterium acnes* (C. *acnes*) ATCC 11827 to produce inflammatory lesions resembling acne. The study consisted of four treatment groups: T0 as the control group treated with pure VCO (0%), T1–T3 as treatment groups receiving neem leaf–VCO extracts at concentrations of 5%, 10%, and 20%, respectively; C(+) as the positive control treated with clindamycin (Cindala®); and C(–) as the negative control treated with sterile distilled water (Karta & Burhannuddin, 2023). Each treatment was topically applied to acne-induced skin areas for 15 consecutive days. Evaluations were performed every five days by assessing the severity of acne lesions based on the following scoring criteria: 0 for no lesion, 1 for comedones, 2 for papules, and 3 for pustules (Bae et al., 2024). The average score was calculated to determine the effectiveness of each treatment in reducing acne severity.

***In Silico* Analysis**

In silico analysis was performed to predict the interaction between active compounds from neem leaves and the *C. acnes* target protein receptor. Molecular docking simulations were conducted using PyRx 0.8, UCSF Chimera (version 1.16), and Discovery Studio Visualizer (version 21.1.0.20298). The ligands used included non-polar active compounds from neem leaves—gedunin, nimbin, and nimbiloide—with clindamycin serving as the reference compound (Baby et al., 2022). The target receptor was the *C. acnes* protein with the PDB ID: 6KHM (Pengsawang et al., 2025). Docking was performed by setting the grid box at coordinates X: 56.8421, Y: 60.8931, and Z: 60.6762. The docking results were analyzed based on binding affinity values and amino acid residue interactions to determine the stability of the ligand–receptor complexes.

RESULTS

This study aimed to evaluate the effectiveness of neem (*Azadirachta indica*) leaf extract obtained through a green extraction process using Virgin Coconut Oil (VCO) in reducing acne lesions in experimental mice. The observed parameters included the number and types of lesions—comedones, papules, and pustules—following *Cutibacterium acnes* induction. Evaluations were conducted on days 5, 10, and 15 (Table 1), and the mean lesion scores from each treatment group were subsequently presented graphically as shown in Figure 1.

Table 1. Results of the In Vivo Anti-Acne Activity Evaluation in Mice

Treatment	Observation result							
	After induction	Score	Day 5	score	Day 10	Score	Day 15	score
C (-)	2 pa	4	2 pu	6	1 pa,3 pu	11	4 pu	12
	2 pa	4	2 pu	6	1 co,3 pu	10	3 pu,2 pa	13
	2 pa	4	1 pu,1 pa	5	1 co,3 pu	10	3 pu, 2 co	11
C (+)	2 pa	4	1 co,1 pa	3	1 co	1	healed	0
	2 pa	4	1 pa	2	1 co	1	healed	0
	2 pa	4	1 pa	2	healed	0	healed	0
T0	2 pa	4	1 pa,1 co	3	2 co	2	1 pa	2
	2 pa	4	1 pu,1 pa	5	1 pa, 1 co	3	2 co	2
	2 pa	4	2 pa	4	1 pa, 1 co	3	3 co	3
T1	2 pa	4	2 pa	4	1 pa, 1 co	3	2 co	2
	2 pa	4	1 pu,1pa	4	1 pa, 1 co	3	1 co	1
	2 pa	4	1 pu,1 co	4	1 pa, 1 co	3	1 co	1
T2	2 pa	4	1 pu	3	1 pa	2	healed	0
	2 pa	4	1 pa,1 co	3	2 co	2	healed	0
	2 pa	4	1 pa,1 co	3	healed	0	healed	0
T3	2 pa	4	1 pa	2	healed	0	healed	0
	2 pa	4	1 pa	2	healed	0	healed	0
	2 pa	4	1 pu	3	2 co	2	healed	0

1 = comedo (co), 2=papule (pa), 3=pustules (pu), C-: negative control, C+:positive control
T0 : VCO, T1:5% neem leaf powder-VCO, T1:10% neem leaf powder-VCO, T1:20% neem leaf powder-VCO

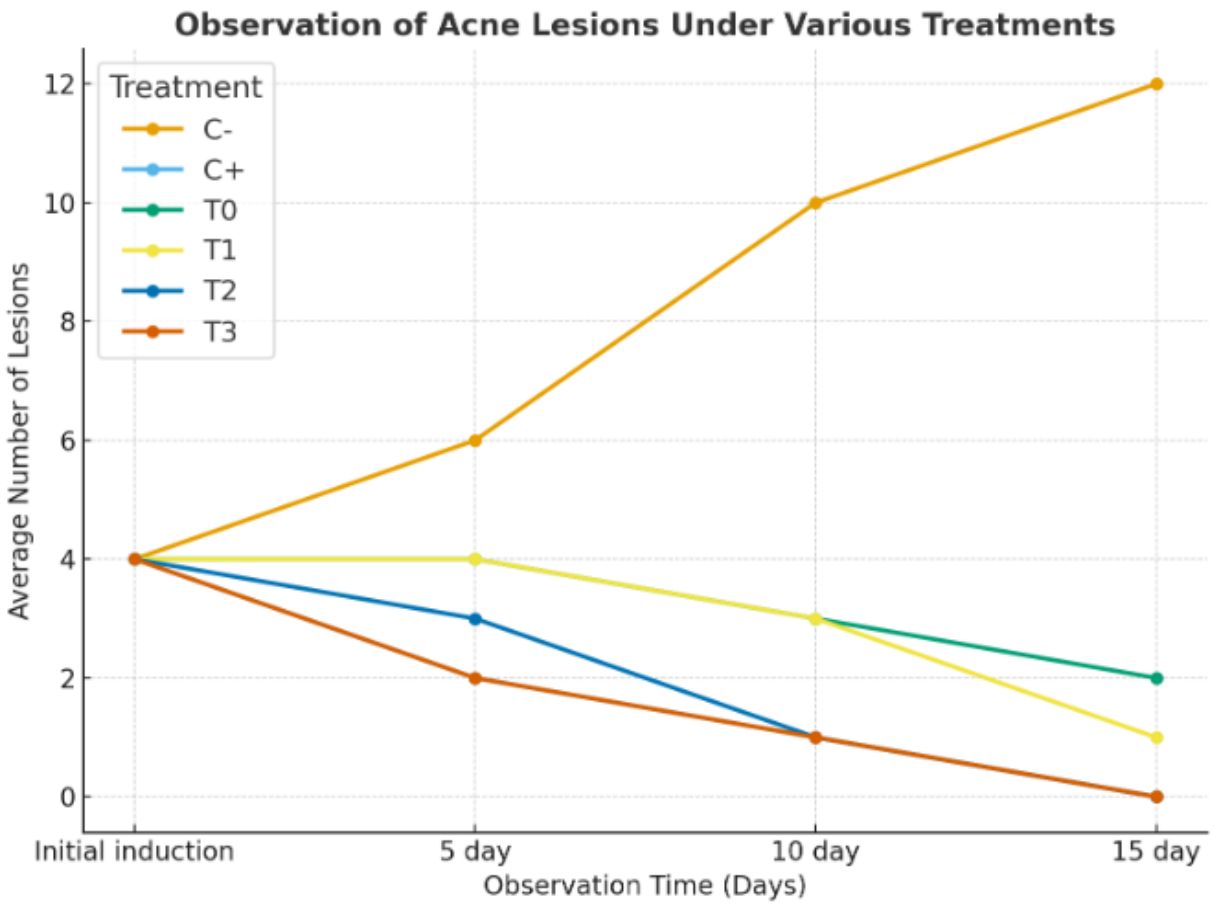


Figure 1. Anti-Acne Activity Profile of Treatments Based on the Average Lesion Severity Scores

The in silico analysis of the potential non-polar compounds from neem (Azadirachta indica) leaves revealed the types of interactions and their corresponding binding affinities (Table 2). The docking results were further visualized in both two- and three-dimensional representations, as shown in Figures 2 and 3.

Table 2. Docking results of the ligands with the protein target 6KHM

Ligand	Binding affinity (kcal/mol)	RMSD (define unit)	H-bonding distance (Å)	Interacting recidues
Clindamycin	-6.2	1.426	GLY178 (2.98), ALA180(3.97)	van der Waals: ARG144, ASP177, PHE179, TRP192, THR190, VAL172 Alkyl and Phi-alkyl: PHE176, PHE211, DKL900, ALA173

Ligand	Binding affinity (kcal/mol)	RMSD (define unit)	H-bonding distance (Å)	Interacting recidues
Gedunin	-7.3	1.881	-	van der Waals:THR190, PRO189, ALA180, PHE179, TRP192, PHE176, VAL172, ALA173, PHE211, GLY39, ALA213, GLY212 Alkyl and Phi-alkyl: DKL900, LEU38 Phi-sulfur : MET215
Nimbin	-6.9	1.842	TRP192 (5.28)	van der Waals:ASP177, PHE176, VAL172, GLY212, MET215, ALA213, DKL900, PHE211, THR190, PRO189, ALA180, PHE179 Alkyl: ALA173
Nimbiloide	-8.2	1.066	GLY178(3.45), ALA180(3.82), PHE179	van der Waals:ASP177, ALA173, PRO189, THR190, GLU169, VAL172, TRP192, PHE176 Alkyl: DKL900

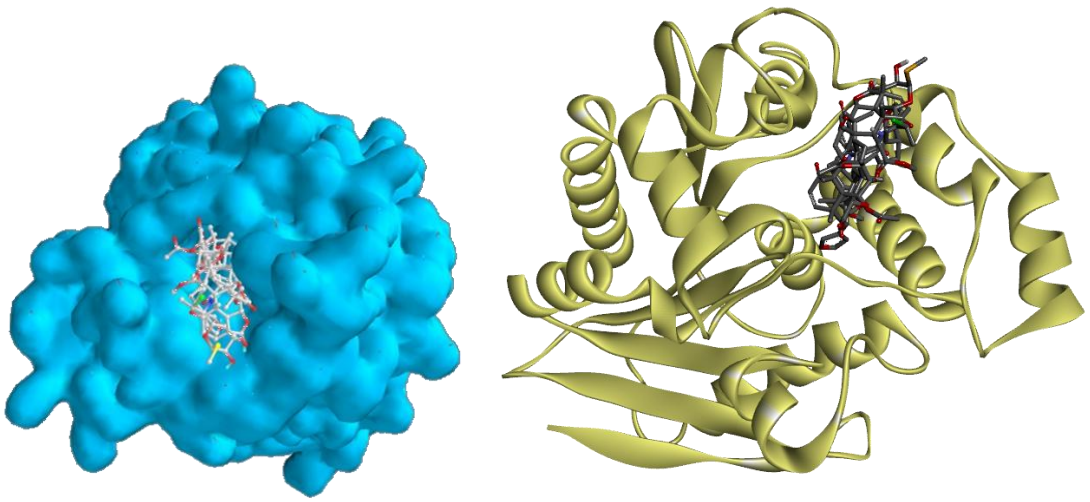


Figure 2. Binding Position of the Ligands within the Receptor Structure (PDB ID: 6KHM)

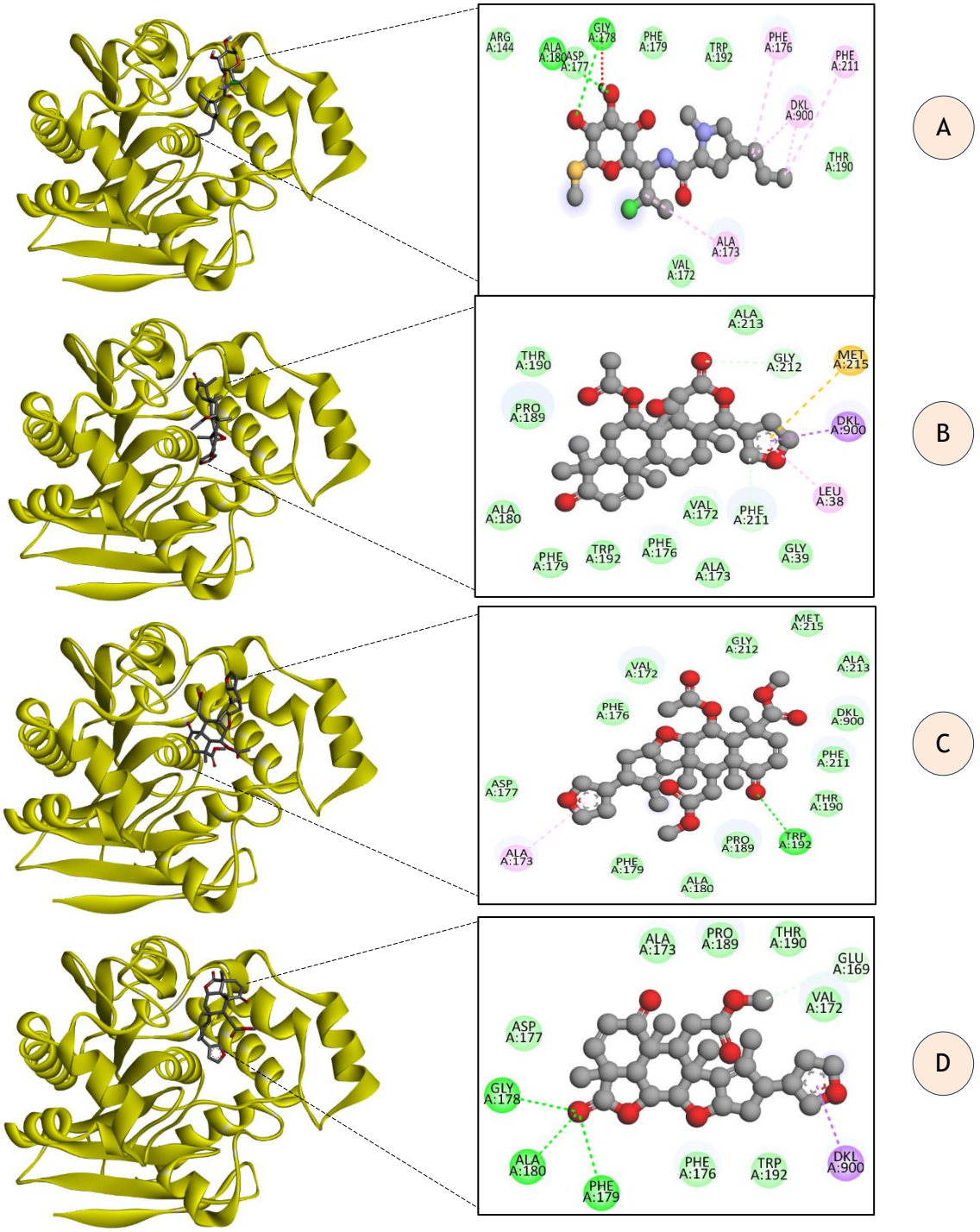


Figure 3. Three-Dimensional and Two-Dimensional Visualization of the Binding Interactions between the Ligands and the 6KHM Receptor

DISCUSSION

This study evaluated the antibacterial and healing effects of neem (Azadirachta indica) leaves extracted using Virgin Coconut Oil (VCO) as a green solvent against acne lesions in experimental mice. Observations were made on days 5, 10, and 15 after bacterial induction (Table 1). The negative control group (C−), which received only distilled water, showed a progressive increase in lesion numbers from 4 to 12–13, indicating the worsening of infection and inflammation without treatment. In contrast, the positive control group (C+) treated with Clindamycin (Cindala®) exhibited a complete reduction of lesions by day 15, confirming its high antibacterial efficacy. This consistent with the findings of Courdurié et al. (2022) who reported that Clindamycin remains a standard topical antibiotic for acne caused by *C.acnes*. Treatment with pure VCO (T0) resulted in mild improvement, reducing lesions to 2–3 by day 15, suggesting moderate antibacterial and wound-healing properties (Wilan Krisna et al., 2024). Medium-chain fatty acids in VCO, such as lauric and capric acids, possess antibacterial activity against *P. acnes* and *S. aureus* (Nitbani et al., 2022).

Better outcomes were obtained in the treatment groups combining neem leaf extract with VCO, particularly at concentrations of 10% (T2) and 20% (T3), both of which completely eliminated acne lesions by day 15 (Figure 1). The T1 (5%) treatment showed moderate improvement but some comedones remained. Both T2 and T3 exhibited antibacterial and healing effects comparable to the positive control, with T3 showing the strongest response and T2 considered the most optimal due to its lower concentration and stable activity. These findings are in agreement with Wylie & Merrell (2022) and Ahmed et al. (2023), who reported that neem contains bioactive compounds which have strong antibacterial, anti-inflammatory, and biofilm-inhibiting properties. Furthermore, VCO as a natural green solvent enhances the solubility and penetration of bioactive compounds in herbal formulations (Prasanna et al., 2024)(Yara-Varón et al., 2017). Overall, the combination of neem leaf extract and VCO at 10–20% concentrations effectively inhibited acne-causing bacteria, promoted lesion

healing, and provided results comparable to synthetic antibiotics, supporting its potential as a safe, natural, and eco-friendly alternative for topical acne therapy.

The molecular docking analysis was performed to evaluate the binding affinity and interaction profiles of non-polar compounds from neem (*A. indica*) leaves against the target protein 6KHM (Table 2, Figure 2, Figure 3). Clindamycin was used as a positive control to compare the binding activity of the tested compounds. The docking results indicated that all ligands exhibited relatively strong binding affinities, suggesting potential antibacterial activity against *C. acnes*. Among the tested ligands, nimbiloide showed the strongest binding affinity (–8.2 kcal/mol), which was higher than that of clindamycin (–6.2 kcal/mol). This result implies that the nimbiloide–protein complex is more stable. Interaction analysis revealed that nimbiloide formed hydrogen bonds with the amino acid residues GLY178 and ALA180, similar to those observed in clindamycin, indicating a comparable mechanism of action. In addition, nimbiloide established several van der Waals and alkyl interactions with key residues such as ASP177, ALA173, PRO189, and TRP192, further enhancing the stability of the ligand–receptor complex.

Gedunin and nimbin also exhibited favorable binding affinities (–7.3 and –6.9 kcal/mol, respectively), supported by hydrophobic and van der Waals interactions with several active-site residues. These interactions contribute to the potential inhibitory effect of the compounds on the bacterial target protein. The relatively low RMSD values (<2.0 Å) observed for all ligands indicate that the docking poses were conformationally stable and reliable. Overall, these findings suggest that the non-polar compounds of neem, particularly nimbiloide, have strong binding interactions with the *C. acnes* target protein, comparable to clindamycin. This highlights the potential of neem leaf extracts as promising bioactive agents for use in dermocosmetic formulations aimed at managing acne-related bacterial infections.

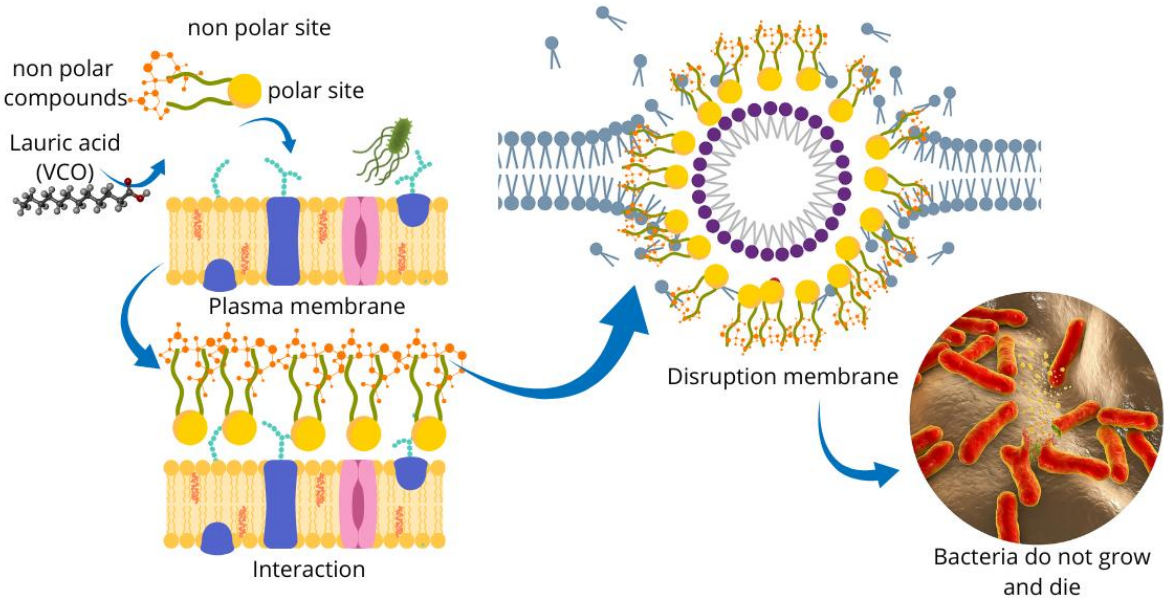


Figure 4. Mechanism of Action of VCO-Neem Leaf Extract as an Antibacterial Agent

The synergistic antibacterial mechanism between neem (*Azadirachta indica*) leaf extract and virgin coconut oil (VCO) is primarily attributed to the interaction of their non-polar compounds with the bacterial plasma membrane (Figure 4). Neem extract contains several non-polar bioactive compounds, such as terpenoids, limonoids, and fatty acid derivatives (Baby et al., 2022), which are highly soluble in the lipid fraction of VCO. VCO, rich in lauric acid and other medium-chain fatty acids, acts as an efficient non-polar solvent and carrier system that enhances the solubility, stability, and permeability of neem-derived hydrophobic compounds. This lipid-based medium facilitates the diffusion of active molecules through the bacterial cell envelope, promoting their accumulation at the membrane interface where critical interactions occur (Nitbani et al., 2022).

Once in contact with the bacterial membrane, the non-polar compounds exhibit strong lipophilic interactions with the lipid bilayer. These interactions destabilize the membrane's structural integrity by altering lipid packing,

increasing membrane fluidity, and disrupting the balance between hydrophilic and hydrophobic regions. Consequently, the permeability of the bacterial membrane increases, leading to leakage of cytoplasmic contents such as ions, nucleotides, and proteins, ultimately causing cell lysis and death. Transmission electron microscopy studies of neem nanoemulsions have shown clear evidence of membrane rupture and cytoplasmic leakage after treatment, confirming this disruptive effect (Kumar et al., 2022).

Beyond membrane disruption, neem-derived compounds also interfere with bacterial cellular functions by inhibiting key enzymes and interfering with biofilm formation. Previous reports have shown that neem extracts alter the hydrophobicity of bacterial cell surfaces, reduce cell adhesion, and suppress extracellular polysaccharide synthesis, thereby impairing biofilm maturation. This multifaceted action, when combined with the membrane-penetrating property of lauric acid in VCO, enhances the overall antibacterial performance through a synergistic mechanism. VCO facilitates deeper membrane penetration of neem compounds, while lauric acid itself possesses intrinsic antimicrobial activity by forming monolaurin, a compound known to disintegrate bacterial lipid bilayers (Nitbani et al., 2022). The combination of neem leaf extract and VCO provides a dual mechanism involving physicochemical membrane disruption and biochemical inhibition of bacterial growth. The lipid–lipid affinity between non-polar neem compounds and VCO constituents enhances the delivery and activity of bioactive molecules against *Cutibacterium acnes*. This synergy makes the neem–VCO formulation a promising natural antibacterial agent suitable for dermocosmetic applications aimed at acne prevention and treatment.

CONCLUSION

This study demonstrated that neem (*Azadirachta indica*) leaf extract obtained through a green extraction process using Virgin Coconut Oil (VCO) exhibited effective antibacterial activity against *Cutibacterium acnes*, as confirmed by both *in vivo* and *in silico* analyses. The *in vivo* results showed that VCO–neem leaf

extracts at concentrations of 10% and 20% significantly reduced acne lesions, with comparable efficacy to clindamycin, the positive control. The *in silico* findings revealed that nimbiloide displayed the strongest binding affinity to the *C. acnes* target protein (PDB ID: 6KHM), forming interactions similar to those of clindamycin, suggesting a similar antibacterial mechanism. The synergistic interaction between neem's non-polar compounds and lauric acid from VCO enhances antibacterial activity through dual mechanisms involving membrane disruption and enzyme inhibition. Therefore, VCO-based neem leaf extract formulations hold promise as natural, eco-friendly active ingredients for the development of dermocosmetic anti-acne products.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to express their sincere gratitude to the Taksu Tridatu Foundation, Nusa Penida, for providing research materials and laboratory facilities for this study. Appreciation is also extended to the Poltekkes Kemenkes Denpasar and Warmadewa University for their academic and technical support throughout the research process. The authors acknowledge the valuable contributions of colleagues and laboratory staff who assisted in the in vivo and in silico analyses.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

Ahmed, M., Marrez, D. A., Mohamed Abdelmoeen, N., Abdelmoneem Mahmoud, E., Ali, M. A. S., Decsi, K., & Tóth, Z. (2023). Studying the Antioxidant and the Antimicrobial Activities of Leaf Successive Extracts Compared to the Green-Chemically Synthesized Silver Nanoparticles and the Crude Aqueous Extract from Azadirachta indica. *Processes*, *11*(6), 1–21. https://doi.org/10.3390/pr11061644

Amuzescu, A., Tampa, M., Matei, C., & Georgescu, S. R. (2024). Adult Female Acne: Recent Advances in Pathophysiology and Therapeutic Approaches. *Cosmetics*, *11*(3), 1–21. https://doi.org/10.3390/cosmetics11030074

Baby, A. R., Freire, T. B., Marques, G. de A., Rijo, P., Lima, F. V., de Carvalho,

J. C. M., Rojas, J., Magalhães, W. V., Velasco, M. V. R., & Morocho-Jácome, A. L. (2022). Azadirachta indica (Neem) as a Potential Natural Active for Dermocosmetic and Topical Products: A Narrative Review. *Cosmetics*, *9*(3), 1–17. https://doi.org/10.3390/cosmetics9030058

Bae, I. H., Kwak, J. H., Na, C. H., Kim, M. S., Shin, B. S., & Choi, H. (2024). A Comprehensive Review of the Acne Grading Scale in 2023. *Annals of Dermatology*, *36*(2), 65–73. https://doi.org/10.5021/ad.23.094

Courdurié, A., Lotte, R., Ruimy, R., Cauhape, V., Carles, M., Gauci, M. O., Boileau, P., & Courjon, J. (2022). Clindamycin Efficacy for Cutibacterium acnes Shoulder Device-Related Infections. *Antibiotics*, *11*(5), 1–10. https://doi.org/10.3390/antibiotics11050608

Dessinioti, C., & Katsambas, A. (2022). Antibiotics and Antimicrobial Resistance in Acne: Epidemiological Trends and Clinical Practice Considerations. *Yale Journal of Biology and Medicine*, *95*(4), 429–433.

Ellis, J. R., Powell, E. J., Tomasovic, L. M., Marcheskie, R. L., Girish, V., Warman, A., & Sivaloganathan, D. (2024). Changes in the Skin Microbiome Following Dermatological Procedures: A Scoping Review. *Applied Microbiology*, *4*(2), 972–985. https://doi.org/10.3390/applmicrobiol4020066

Guguluș, D. L., Vâță, D., Popescu, I. A., Pătrașcu, A. I., Halip, I. A., Mocanu, M., & Solovăstru, L. G. (2025). The Epidemiology of Acne in the Current Era: Trends and Clinical Implications. *Cosmetics*, *12*(3), 1–16. https://doi.org/10.3390/cosmetics12030106

Herrera-Calderon, O., Ejaz, K., Wajid, M., Shehzad, M., Tinco-Jayo, J. A., Enciso-Roca, E., Franco-Quino, C., Yuli-Posadas, R. Á., & Chumpitaz-Cerrate, V. (2019). Azadirachta indica: Antibacterial activity of neem against different strains of bacteria and their active constituents as preventive in various diseases. *Pharmacognosy Journal*, *11*(6), 1597–1604. https://doi.org/10.5530/PJ.2019.11.244

Karta, I. wayan, & Burhannuddin, B. (2023). Potential Combination of Virgin Coconut Oil (Vco) and Azadirachta Indica Extract for Acne Control: a Composition Phytochemical and in Vivo Antibacterial Evaluation. *Meditory : The Journal of Medical Laboratory*, *11*(2), 113–121. https://doi.org/10.33992/meditory.v11i2.3062

Kim, H. J., & Kim, Y. H. (2024). Exploring Acne Treatments: From Pathophysiological Mechanisms to Emerging Therapies. *International Journal of Molecular Sciences*, *25*(10), 1–34. https://doi.org/10.3390/ijms25105302

Kok, S. L., Lee, W. J., Smith, R. L., Suleiman, N., Jom, K. N., Vangnai, K., Bin Sharaai, A. H., & Chong, G. H. (2021). Role of virgin coconut oil (VCO) as co-

extractant for obtaining xanthones from mangosteen (Garcinia mangostana) pericarp with supercritical carbon dioxide extraction. *Journal of Supercritical Fluids*, *176*(05), 1–11. https://doi.org/10.1016/j.supflu.2021.105305

Kumar, S., Singh, N., Devi, L. S., Kumar, S., Kamle, M., Kumar, P., & Mukherjee, A. (2022). Neem oil and its nanoemulsion in sustainable food preservation and packaging: Current status and future prospects. *Journal of Agriculture and Food Research*, *7*, 100254. https://doi.org/10.1016/j.jafr.2021.100254

Niedźwiedzka, A., Micallef, M. P., Biazzo, M., & Podrini, C. (2024). The Role of the Skin Microbiome in Acne: Challenges and Future Therapeutic Opportunities. *International Journal of Molecular Sciences*, *25*(21), 1–20. https://doi.org/10.3390/ijms252111422

Nitbani, F. O., Tjitda, P. J. P., Nitti, F., Jumina, J., & Detha, A. I. R. (2022). Antimicrobial Properties of Lauric Acid and Monolaurin in Virgin Coconut Oil: A Review. *ChemBioEng Reviews*, *9*(5), 442–461. https://doi.org/10.1002/cben.202100050

Pengsawang, M., Toviwek, B., Sangthong, W., Boonmee, A., Chairatana, P., & Pongprayoon, P. (2025). The binding modes of brazilin and hematein from Caesalpinia sappan L. to Cutibacterium acnes lipase: Simulation studies. *PLoS ONE*, *20*(3 March), 1–14. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0318706

Prasanna, N. S., Selvakumar, M., Choudhary, N., & Raghavarao, K. S. M. S. (2024). Virgin coconut oil: wet production methods and food applications - a review. *Sustainable Food Technology*, *2*(5), 1391–1408. https://doi.org/10.1039/d4fb00093e

Usman, M., Nakagawa, M., & Cheng, S. (2023). Emerging Trends in Green Extraction Techniques for Bioactive Natural Products. *Processes*, *11*(12), 1–31. https://doi.org/10.3390/pr11123444

Wilan Krisna, L. A., Desak Made Lestari Dewi, Burhannuddin, Heri Setiyo Bekti, Nur Habibah, & I Wayan Karta. (2024). Wound Healing Potential of Virgin Coconut Oil in Combination With Extract of Neem Leaves (Azadirachta Indica L.) in Diabetic Rat Model. *JST (Jurnal Sains Dan Teknologi)*, *13*(2), 299–306. https://doi.org/10.23887/jstundiksha.v13i2.83677

Wylie, M. R., & Merrell, D. S. (2022). The Antimicrobial Potential of the Neem Tree Azadirachta indica. *Frontiers in Pharmacology*, *13*(May), 1–16. https://doi.org/10.3389/fphar.2022.891535

Yara-Varón, E., Li, Y., Balcells, M., Canela-Garayoa, R., Fabiano-Tixier, A. S., & Chemat, F. (2017). Vegetable oils as alternative solvents for green oleo-extraction, purification and formulation of food and natural products. *Molecules*, *22*(9), 1–24. https://doi.org/10.3390/molecules22091474

IMPROVING THE BACTERIOLOGICAL QUALITY OF FRESH ETAWA GOAT MILK WITH THE ADDITION OF NATURAL STRAWBERRY AND PINEAPPLE

Misbahul Huda[1*], Sri Nuraini[2]

[1]Diploma III Program in Medical Laboratory Technology, Department of Medical Laboratory Technology, Tanjungkarang Ministry of Health Polytechnic, Lampung
[2]Diploma III Program in Medical Laboratory Technology, Department of Medical Laboratory Technology, Tanjungkarang Ministry of Health Polytechnic, Lampung

e-mail : misbahulhuda@gmail.com
No Tlp WA : 081383294939

Abstract

Milk is a food ingredient that has various nutritional contents. Improper handling causes contamination of microorganisms which can reduce the quality of goat's milk. Fruit is widely favored by the public because it has many benefits for body health, namely as a source of vitamins to regulate maintenance and growth, fiber is used for enzyme activity to be able to break down fiber into components that are easily absorbed, in addition, fruit also contains antibacterials such as pineapple and strawberries. This study is an experimental study with a completely randomized design, the annova statistical test if the calculated F is greater than the F table is continued with the BNT (Smallest Real Difference) test at an error rate of 5% and 1%. The dependent variable in this study is the quality of fresh goat's milk, while the independent variables in this study are pineapple and strawberry juice. The sample is fresh Etawa milk before and after pineapple and strawberry juice with concentrations of 2.5%, 5%, 7.5%, and 10%. The results of the study found Klebsiella sp.. Salmonella paratyphi B, Shigella flexneri, and Bacillus bacteria in the sample and there was a decrease in the number of bacteria in the Total Plate Count (TPC) test after the addition of pineapple and strawberry juice. The decrease in the number of bacteria in milk shows that pineapple and strawberry are effective as antibacterials because they contain saponin, steroid, terpenoid, tannin, alkaloid, flavonoid, and phenol metabolite compounds.

Keywords *: Fresh Etawa Goat Milk, Total Plate Count (TPC), Pineapple and Strawberry Juice*

INTRODUCTION

Milk is a food ingredient that has various nutritional contents, namely calcium, protein, vitamins, minerals, fat, phosphorus, magnesium and zinc which are very good for all ages, both toddlers, productive, and elderly. The nutritional content makes milk a medium for the growth and development of microorganisms, so that fresh milk is easily damaged by the growth of microorganisms [1].

Etawa goats are the result of crossbreeding between Etawa goats and Kacang goats, the Etawa goat crossbreed is similar to Kacang goats but has a larger body shape. Etawa goat milk has higher vitamin B1 than cow's milk and contains

easily digestible fat and protein. Etawa Crossbreed (PE) goats are one of the most famous types of goats in Indonesia which are dual-purpose livestock because they produce meat and milk [2].

The benefits contained in goat's milk make people interested in consuming Etawa goat's milk. Etawa goat's milk contains essential amino acids, does not cause allergies, and can be used to improve the digestive tract, functions as a metabolic, has a high calcium value, can treat tuberculosis and asthma and is healthy for the skin. Etawa goat's milk has a milk composition consisting of 3.6% protein, 6.17% fat, 15.49% dry matter, and 9.32% BKTL [3].

In producing safe and healthy milk, it is very important to pay attention to how to properly care for and handle livestock before and after milking. Improper handling causes contamination of microorganisms which can reduce the quality of goat milk [4]. The three main sources of microbial contamination in fresh milk are from within the udder, when milk is milked, the equipment used, and the cleanliness and health of the livestock itself. Contamination during milking is caused by farmers not using gloves, tools not being cleaned before and after milking, when milking the first milk jet that comes out is not discarded first, causing microbial contamination from the udder, the feces disposal area is near the pen causing microbes to be carried by dust during milking [5]

Fruits are widely loved by the public because they have many benefits for body health, namely as a source of vitamins to regulate maintenance and growth, fiber is used for enzyme activity to be able to break down fiber into components that are easily absorbed, in addition, fruit also contains antibacterial [6]. Fruits that have antibacterial properties include pineapple and strawberry. The antibacterial activity of pineapple and strawberry is caused by the content of secondary metabolites such as alkaloids, flavonoids, saponins, and tannins. Alkaloids perform antimicrobial functions by disrupting the peptidoglycan component of bacterial cells, causing lysis and death. Flavonoids inhibit the function of DNA gyerase so that the ability of bacteria to replicate DNA is inhibited. Tannins as antibacterials work by precipitating proteins. Saponins

work by reducing surface tension which can cause cell permeability or leakage. Cells that experience leakage will release intracellular compounds [7].

MATERIALS & METHODS

This study is experimental. The dependent variable in this study is the quality of fresh Etawa goat milk while the independent variables in this study are pineapple and strawberry juice. The subjects of this study were fresh Etawa goat milk taken from several places. This study was conducted in March 2024 at the Bacteriology Laboratory, Department of Medical Laboratory Technology, Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang, and the Botany Laboratory, FMIPA, University of Lampung. The data analysis used was univariate and bivariate analysis. The research design used was a completely randomized design, the annova statistical test if the calculated F was greater than the F table was continued with the BNT (Smallest Real Difference) test at an error rate of 5% and 1%. Furthermore, a T test was carried out to compare the decrease in the number of bacteria before and after the administration of pineapple and strawberry juice. The sample was fresh Etawa milk before and after pineapple and strawberry juice with concentrations of 2.5%, 5%, 7.5%, and 10%.

RESULT

Table 1. Results of the total plate count test of fresh Etawa goat's milk before and after adding pineapple juice

Concentration	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	K	CFU/ml	Average
Milk	962	428	403	466	284	232	0	130,200,000	
2.5%	688	562	408	280	293	204	2	77,960,000	74,976,666
	632	770	481	277	291	186	0	72,623,333	
	504	680	501	224	288	192	0	74,346,666	
5 %	620	601	440	208	35	43	0	16.193.333	17,332,777
	601	680	502	240	25	41	0	15,300,000	
	662	504	403	201	19	39	1	20,505,000	
7.5%	588	402	381	41	6	13	0	410,000	566,666
	601	488	425	72	2	28	0	720,000	
	522	503	302	58	14	6	1	570,000	
10%	682	452	307	74	29	8	1	730,000	483,333
	491	560	403	44	3	1	2	420,000	
	520	382	302	31	3	3	1	300,000	

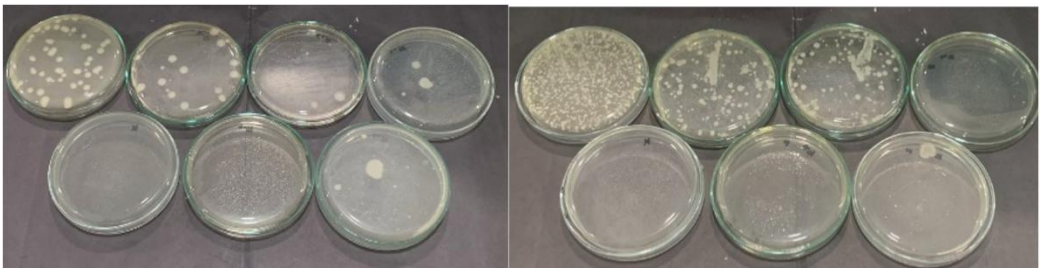


Fig 1. TPC test results of fresh Etawa goat milk before addition (left) and after addition of 10% concentration pineapple juice (right).

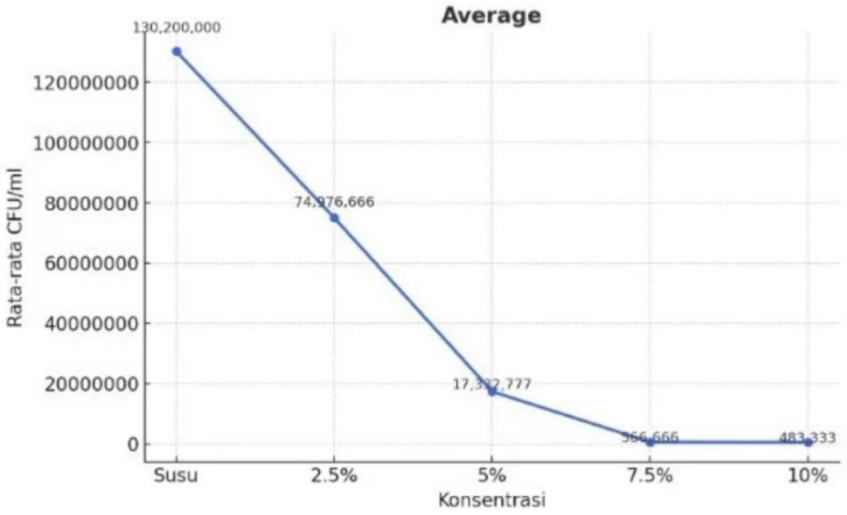


Table 2. Results of the total plate count test of fresh Etawa goat's milk before and after Adding strawberry juice

Concentration	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	K	CFU/ml	Average
Milk	492	275	298	196	163	13	4	4,535,275	
2.5%	298	248	44	2	1	4	2	23.186	
	280	296	32	3	12	13	0	21,466	24,527
	243	267	62	0	0	16	4	28,930	
5 %	448	114	102	7	28	31	3	55,050	84,183
	422	108	192	22	19	10	1	100,850	
	369	126	184	4	2	0	3	96,650	
7.5%	296	280	8	4	7	7	1	15,425	13,583
	198	272	19	4	2	15	0	14,590	
	268	189	7	4	4	2	1	10,735	
10%	135	53	29	2	24	5	0	3.325	3.365
	149	33	24	29	4	9	1	2,340	
	166	72	27	4	18	8	0	4.430	

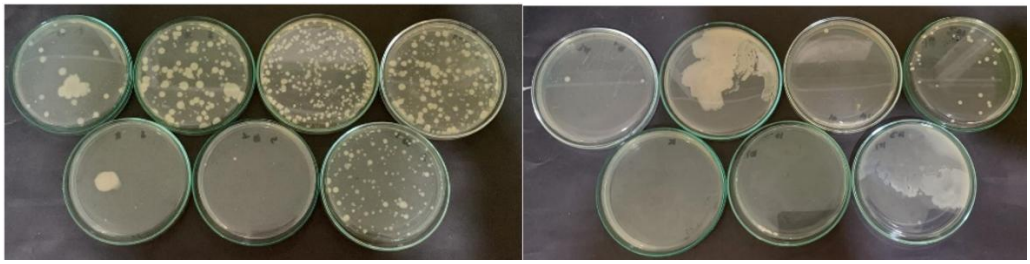
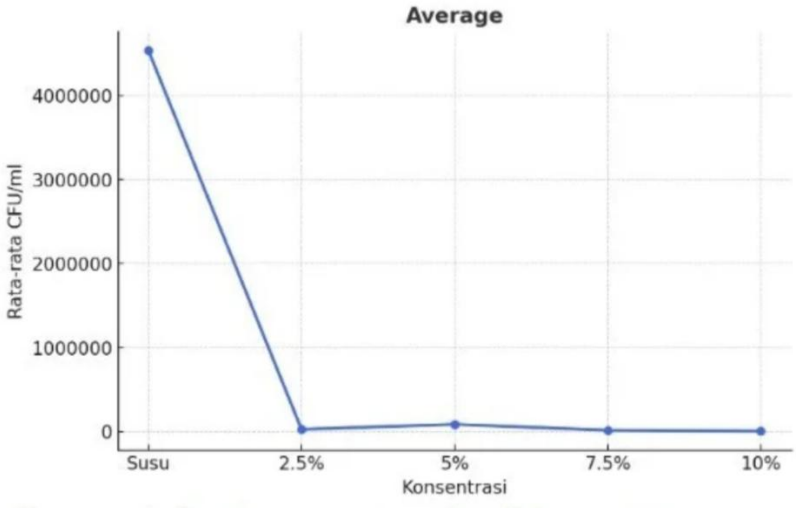


Fig 2. TPC test results of fresh Etawa goat milk before addition (left) and after addition of 10% concentration of strawberry juice (right).



DISCUSSION

Done Total Plate Count (TPC) test on Etawa goat's milk before and after the addition of pineapple and strawberry fruit to Etawa goat's milk was carried out 3 times with concentrations of 2.5%, 5%, 7.5%, and 10%. The results showed a decrease in the number of bacteria.

Based on table 10, the results obtained before the addition of pineapple juice to goat's milk showed that the number of bacteria was 130,200,000 CFU/ml, after the addition of pineapple to milk with a concentration of 2.5% there was a decrease in the number of bacteria to 74,976,666 CFU/ml, a concentration of 5% to 17,332,777 CFU/ml, a concentration of 7.5% to 566,666, and a concentration of 10% to 483,333 CFU/ml. This shows that the content in pineapple can suppress bacterial growth. Pineapple contains phenolic

compounds, flavonoids, tannins. Tannins as antimicrobials have the ability to inactivate microbial cell adhesion and attack bacterial cell wall polypeptides which will cause damage to the cell wall. Phenol is able to denature bacterial cell proteins so that the typical properties of bacteria are lost [13].

In table 11, fresh goat milk before the addition of strawberry juice has a bacterial count of 4,535,275 CFU/ml. The addition of strawberry juice with a concentration of 2.5% shows that the number of bacteria decreases to 24,527 CFU/ml, at a concentration of 5% to 84,183 CFU/ml, at a concentration of 7.5% to 13,583 CFU/ml, and at a concentration of 10% to 3,365 CFU/ml. The smallest number of bacteria in goat milk that has been added with strawberries is at the highest concentration of 10%. The results of the study showed that strawberries can inhibit bacterial growth because they contain flavonoid compounds.

The high and low Total Plate Count (TPL) is also caused by genetic factors, environmental conditions, and livestock conditions as well as the provision of high protein feed to Etawa goats affects the amount of lactose content in milk. Lactose is a substrate used as an energy source and has an important role in lactic acid fermentation. The alkaline nature of pH is due to the high lactose content in fresh milk, this is a factor that greatly influences the growth of lactic acid bacteria. Low protein levels in milk cause a decrease in pH. Milk with a pH below 6.3 indicates a decrease in quality caused by bacteria, if the pH is above 6.7 indicates mastitis. The cleanliness of the tools used during milking affects the number of microbes in milk [14]. Hygiene and sanitation of the barn also need to be considered because milk is easily contaminated by microbes during milking. Milking time in the morning also causes a higher number of microbes compared to the afternoon because in the morning the conditions are not clean and there are still food or feces left. Poor hygiene and sanitation conditions can cause infections in the nipples called mastitis which in this condition can contaminate milk products [15].

CONCLUSION

Based on the research that has been done, it can be concluded that fresh goat milk taken from several different places contains Klebsiella sp.. Salmonella

paratyphi B, Shigella flexneri, and Bacillus bacteria. The total plate count test carried out on milk showed a decrease in the number of bacteria after the addition of pineapple and strawberry juice. This shows that pineapple and strawberry are able to inhibit bacterial growth due to the presence of metabolite compounds contained in the fruit such as saponins, steroids, terpenoids, tannins, alkaloids, flavonoids, and phenols.

GRATITUDE

n the activities that have been carried out, the author would like to thank the director of the Tanjungkarang Health Polytechnic, the Bacteriology Laboratory of the Medical Laboratory Technology Department, and the Botany Laboratory, FMIPA, University of Lampung who have supported and assisted in this research.

CONFLICT OF INTERESTS

There are no conflict of interest in this research

REFERENCES

[Murti AT, Setyowati K, Astuti FK.: Factors Influencing Consumer Purchasing Decisions for Fresh and Processed Milk Products in Malang: Case Study at SAE Pujon Cooperative. J Ilmu dan Technol Peteran. Vol 10, pp. 18-25 (2022).

Rokhayati UA, Gubali SI, Dako S.: Testing the fat and protein content of Etawa goat milk with traditional maintenance. Gorontalo J Equatorial Anim [Internet]. Vol 1, pp. 66-72 (2022).

Huda M, Marhamah M.: Improving the Quality of Fresh Etawa Goat Milk by Adding Red Ginger Juice. J Ilmu Kedokt dan Kesejahteraan. Vol 9, pp. 843-9 (2022).

Ratya N, Taufik E, Arief II.: Chemical, Physical and Microbiological Characteristics of Etawa Crossbred Goat Milk in Bogor. Vol 5, pp. 1-4 (2017).

Kariadi, I, Agustin, ALD, Ningtyas, NSI.: Level of Bacterial Contamination in Etawa Crossbred Goat Milk (PE) Sold by Farmers in Aikmual Village, Central Lombok Regency. Mandalika Veterinary Journal. Vol 2, pp. 14-20 (2022)..

Hamidah S.: Vegetables and Fruits and Their Benefits for Health. Faculty of Technology, Yogyakarta State University. pp. 1–10 (2015).

Rezaldi F, Fadillah MF, Agustiansyah LD, Tanjung SA, Halimatusyadiah L, Safitri

E.: Application of Kombucha Fermentation Biotechnology Method of Honey Pineapple Fruit (Ananas comosus) Subang as Gram Positive and Negative Antibacterial Based on Different Sugar Concentrations. J Agroteknologi Merdeka Pasuruan. Vol 6, p. 9 (2022).

Rosdiyanah, AAP, Wiwiek, T, Faisal F.: Salmonella sp. Contamination Test on Fresh Milk from Sapera Goats in Siliragung District, Banyuwangi Regency. Pros Semin Nas Pembangitan dan Pendidik Vokasi Pertan. Vol 2, pp. 186-97 (2021).

Cahyaningtyas DE, Gaina CD, Tangkonda E: Isolation and Identification of Escherichia coli, Klebsiella sp., and Staphylococcus aureus Bacteria in the Udder and Milk of Etawa Crossbred Goats. J Vet Nusant. Vol 7, pp. 41-52 (2024).

Ngajow M, Abidjulu J, Kamu VS.: Antibacterial Effect of Matoa Bark Extract (Pometia pinnata) on Staphylococcus aureus Bacteria in vitro. J MIPA. Vol 2, p. 128 (2013).

Ningsih, IS, Chatri, M, Advinda, L, Violita.: Active Flavanoid Compounds Found in Plants. Biology Porch. Vol 8, p. 126-132 (2023).

Permata AN, Kurniawati A, Lukiati B.: Phytochemical screening, antioxidant and antimicrobial activity in lemon (Citrus limon) and lime (Citrus aurantiifolia) fruits. J Ilm Ibnu Sina. Vol 3, pp. 64-76 (2018).

Husniah I, Gunata AF.: Pineapple Peel Extract as an Antibacterial. J Nurse Research Prof. Vol 2, pp. 85-90 (2020).

Albi, F, Wanniatie, V, Muhtarudin, M, Qisthon, A.: The Effect of Green and Concentrate Balance on the Physical Quality of Etawa Crossbred Dairy Goat Milk. Journal of Animal Husbandry Research and Innovation. Vol 8, pp. 523-530 (2024).

Sugitha I., Nocianitri K., Widarta W., Suparthana I, Miwada IN., Lindawati S.: Improving Sanitation and Hygiene Around the Pen from the Influence of Goat Urine Through Filtration and Fermentation. Udayana Mengabdi. Vol. 13, pp. 27-29 (2014).

ELEVATED TNF-α CORRELATES WITH PLATELET LEVELS IN DIABETIC FOOT ULCERS

Wimba Widagdho Dinutanayo* · Eldest Saputra · Anggie Silvia Febi · Nurminha · Filia Yuniza · Putri Dwi Romo

Department of Medical Laboratory Technology, Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang, Lampung, Indonesia

e-mail: wimbadinutanayo@poltekkes-tjk.ac.id

Abstract

Type 2 diabetes mellitus with diabetic foot ulcer complications involves chronic inflammation that impairs wound healing. This study examined the correlation between TNF-a, platelet counts, HbA1c, and prothrombin time in diabetic patients with ulcer complications. A cross-sectional study was conducted on 30 diabetic patients at RSUD Dr. H. Abdul Moeloek, Lampung. TNF-a was measured by ELISA, while platelet count, prothrombin time, and HbA1c were analyzed by standard analyzer. Pearson correlation and linear regression analyses were performed. Strong positive correlation was found between TNF-a and platelet counts ($r = 0.86$, $p < 0.0001$). No significant correlations were observed between other measured parameters. TNF-a strongly correlates with platelet counts in diabetic foot ulcer patients, suggesting inflammation-driven platelet activation. These findings identify TNF-a as a potential biomarker for inflammatory burden in diabetic foot ulcers.

***Keywords**: diabetic foot ulcer, TNF-a, platelet count, inflammation, coagulation*

INTRODUCTION

Diabetes mellitus (DM) represents a global health problem with a continuously increasing prevalence. The International Diabetes Federation (IDF) estimated that in 2021, 537 million people worldwide were living with diabetes, and more than 6.7 million individuals aged 20–79 years died from diabetes-related causes (International Diabetes Federation, 2025). In Indonesia, the prevalence of DM reached 1.7% of the population based on data from the 2023 Indonesian Health Survey. In Lampung province, there were 91,693 registered DM patients, with the largest number found in Bandar Lampung City (19,003 cases) (Lampung, 2024).

Type 2 diabetes mellitus is a metabolic disorder in which glucose is not effectively utilized as an energy source, resulting in hyperglycemia. Chronic hyperglycemia leads to various complications, one of which is diabetic foot

ulcer (DFU). DFU is defined as an ulceration of the foot in a person with diabetes, associated with peripheral neuropathy and/or peripheral arterial disease. The lesion can extend from the superficial epidermis to deeper tissues, including tendons, muscles, and bones. Major risk factors for DFU development include peripheral neuropathy, foot deformities, minor trauma, and vascular insufficiency (Wijaya et al., 2019).

Chronic inflammation associated with diabetic ulcers increases the production of proinflammatory cytokines such as Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF-α). TNF-α is one of the earliest and most important cytokines involved in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes (Wijaya et al., 2019). Elevated serum TNF-α has also been reported to correlate with obesity, poor glycemic control, and insulin resistance in type 2 DM patients (Alzamil, 2020).

Platelets are essential components of the hemostatic system and play dual roles in both coagulation and inflammation. In type 2 diabetes, persistent hyperglycemia induces endothelial dysfunction and alters platelet behavior, leading to enhanced adhesion, activation, and aggregation (Sobczak & Stewart, 2019). Activated platelets not only participate in hemostasis but also release proinflammatory mediators such as interleukin-1ß (IL-1ß), platelet factor 4 (PF4), and platelet-derived growth factor (PDGF), which modulate immune responses and tissue repair. Excessive platelet activation promotes microthrombosis formation, impairs peripheral perfusion, and delays wound healing in DFU (Wijaya et al., 2019).

Long-term glycemic control, as reflected by HbA1c levels, and coagulation parameters such as prothrombin time (PT) are also thought to contribute to the pathophysiology of diabetic ulcers. HbA1c reflects the average blood glucose level over the preceding 2–3 months and is associated with the risk of diabetes-related complications (Rachman et al., 2021). Prothrombin time represents coagulation balance, which can influence wound healing dynamics (Kumar, 2023; Sobczak & Stewart, 2019).

Although the roles of inflammation and coagulation in diabetic ulcer

pathogenesis have been previously studied, the specific interactions between TNF-α, platelet count, HbA1c, and prothrombin time remain incompletely understood. This study aims to determine the relationship between TNF-α levels and platelet counts, HbA1c, and prothrombin time in type 2 diabetes mellitus patients with diabetic foot ulcer complications, and to elucidate potential links among inflammatory, metabolic, and coagulation parameters in DFU pathophysiology.

MATERIALS AND METHODS

Study Design. This study was analytical research with a cross-sectional approach conducted at RSUD Dr. H. Abdul Moeloek, Lampung, and the Immunoserology Laboratory of Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang from May to June 2025.

Population and Sample. The study population consisted of all type 2 diabetes mellitus patients with diabetic ulcer complications who were undergoing treatment at RSUD Dr. H. Abdul Moeloek, Lampung. A total of 30 patients were selected using purposive sampling based on predetermined inclusion and exclusion criteria. The inclusion criteria were type 2 diabetes mellitus patients with active foot ulcers, aged over 18 years, and willing to participate in the study by signing informed consent. The exclusion criteria were patients with other acute inflammatory conditions, those receiving immunosuppressive therapy, and those with incomplete data.

Materials. The materials used in this study included venous blood samples collected from patients (3–5 mL) and ELISA reagents for TNF-α examination. Laboratory analyses were also performed to determine platelet count, HbA1c levels, and prothrombin time (PT).

Data Collection Methods. Venous blood samples of 3–5 mL were collected from each research subject and processed within two hours after collection. TNF-α levels were measured using the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

(ELISA) method with a sandwich technique, and the results were expressed in ng/mL. Platelet count was determined using an automated hematology analyzer and expressed in cells/µL. HbA1c levels were analyzed using a standardized automated laboratory method and expressed as a percentage, while prothrombin time was measured using a coagulation analyzer and expressed in seconds. Demographic and clinical data, including age, sex, and disease duration, were obtained through patient interviews and medical records.

Data Analysis. The data obtained were analyzed using GraphPad Prism 10. Normality testing was performed using the Shapiro Wilk test. To determine the relationship between variables, Pearson correlation test was performed. If the data were not normally distributed, the alternative Spearman Correlation test was used. Linear regression analysis was performed to determine the predictive ability of TNF-α on platelet count. The level of statistical significance was set at $p < 0.05$.

Ethical Approval. This study received ethical approval from the Ethics Committee of Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang in 2025. All participants were informed about the objectives and procedures of the study and provided written informed consent prior to sample collection.

RESULTS

Research Subject Characteristics. A total of 30 patients with type 2 diabetes mellitus and diabetic foot ulcer (DFU) complications were included in this study. The majority of subjects were male (18 participants, 60.0%), with most falling within the 40–69-year age group (23 participants, 76.7%). The predominant disease duration was 6–10 years (20 participants, 66.7%).

Table 1. Research Subject Characteristics (n=30)

Demographic Variables	n (%)	Laboratory Parameters	Mean ± SD
Sex		HbA1C (%)	9.4 ± 1.9
• Male	18 (60.0)	Prothrombin Time (seconds)	13.1 ± 5.3
• Female	12 (40.0)	TNF-α (ng/mL)	74.0 ± 72.8
Group of Age		Platelet Count (/uL)	319333 ± 67744
• 30 – 39 years	1 (3.3)		
• 40 – 49 years	8 (26.7)		
• 50 – 59 years	7 (23.3)		
• 60 - 69 years	8 (26.7)		
• ≥ 70 years	6 (20.0)		
Disease Duration			
• 0 – 5 years	10 (33.3)		
• 6 – 10 years	20 (66.7)		

As presented in Table 1, the mean age of the participants was 55.7 ± 10.5 years, with an average disease duration of 6.0 ± 1.1 years. The mean HbA1c level was 9.4 ± 1.9%, indicating poor glycemic control among most subjects. The mean prothrombin time (PT) was 13.1 ± 5.3 seconds, suggesting a slight prolongation in coagulation time. The mean TNF-α level was 74.0 ± 72.8 ng/mL, showing considerable inter-individual variability. The mean platelet count was 319,333 ± 67,744 /µL, which was within the normal range but demonstrated a tendency toward elevation.

Correlation Analysis was conducted to evaluate the relationships among TNF-α, platelet count, HbA1c, and prothrombin time. A **strong positive correlation** was observed between TNF-α and platelet count ($r = 0.86$, $p < 0.0001$), indicating that higher inflammatory activity is associated with increased platelet levels in diabetic patients with ulcer complications.

A weak positive correlation was observed between HbA1c and prothrombin time ($r = 0.33$, $p = 0.079$), which did not reach statistical significance. Other correlations among the variables were also weak and not statistically significant.

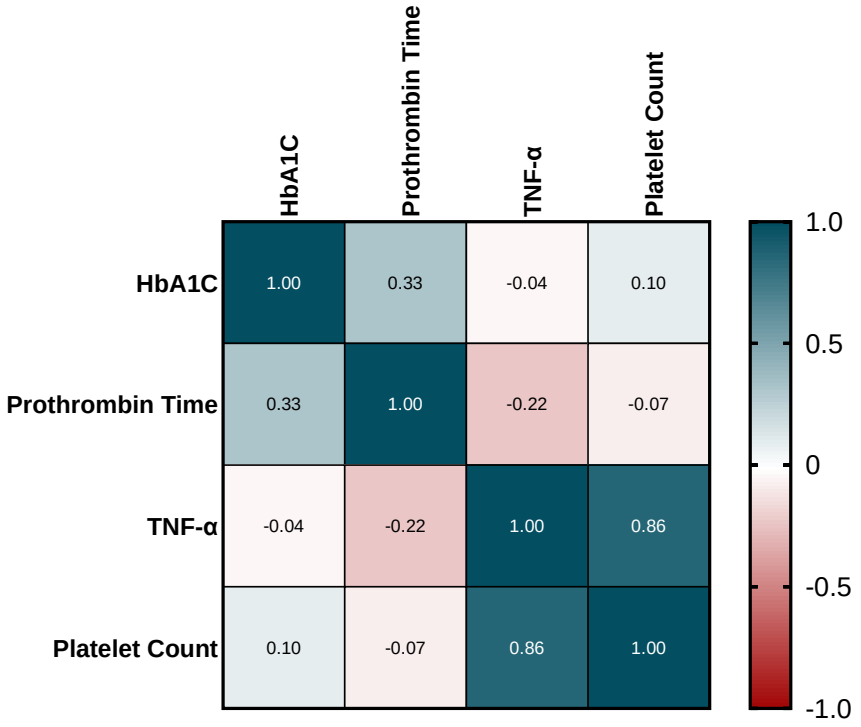


Figure 1. *Correlation matrix of study variables showing a strong positive correlation between TNF-α and platelet count (r = 0.86, p < 0.0001) and a moderate correlation between HbA1c and prothrombin time (r = 0.33, p = 0.079).*

Linear Regression Analysis. To further evaluate the predictive value of TNF-α on platelet count, a linear regression analysis was performed. The model demonstrated that TNF-α was a significant predictor of platelet count ($r = 0.86$, $p < 0.0001$, $R^2 = 0.74$). The regression equation indicated that every 1 ng/mL increase in TNF-α corresponded to an approximate increase of 792 platelets/μL. This finding reinforces that heightened inflammatory activity, reflected by elevated TNF-α levels, is associated with increased platelet counts in patients with diabetic foot ulcers.

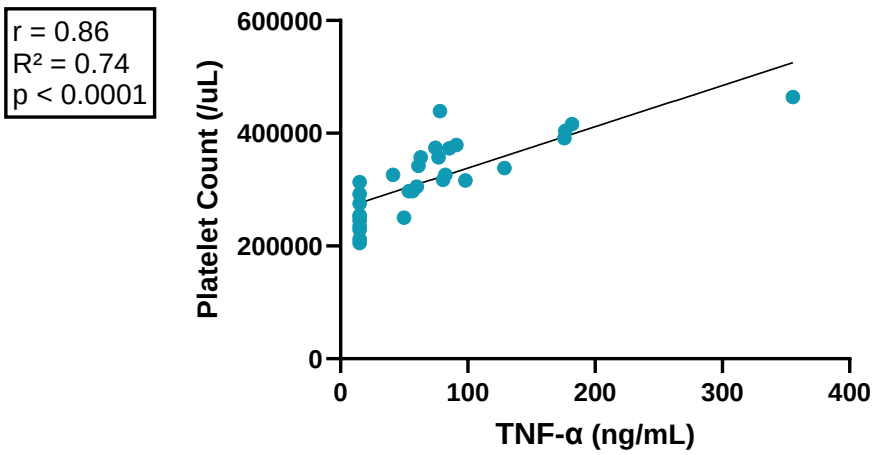


Figure 2. *Linear regression plot showing the strong positive association between TNF-a and platelet count (r = 0.86, R^2 = 0.74, p < 0.0001).*

DISCUSSION

This study demonstrated a strong positive correlation between TNF-α levels and platelet count (r = 0.86, p < 0.0001) in type 2 diabetes mellitus patients with diabetic ulcer complications. This finding indicates that chronic inflammation, as reflected by increased TNF-α levels, can increase platelet activation in this condition.

TNF-α and Inflammation in Diabetic Ulcers. Diabetic ulcers are characterized by chronic inflammation that inhibits the wound healing process. The entry of bacteria into injured tissue and high glucose levels become a strategic site for bacterial growth, triggering a continuous inflammatory response. In this study, the average TNF-α level was 74.0 ng/mL with high variability among patients, reflecting the heterogeneity of inflammatory burden in the study population. TNF-α is a multifunctional proinflammatory cytokine involved in immune response regulation, hematopoiesis, and inflammation (Arsana et al., 2022).

This result is consistent with the findings of Mohammed et al. (2025),

who reported elevated TNF-α levels in diabetic foot ulcer tissues, confirming the cytokine's major role in the inflammatory response and impaired wound healing (Mohammed, M., Ali, A. J. M., & Ben Romdhane, 2025). Elevated TNF-α can inhibit fibroblast migration and collagen synthesis, increase oxidative stress, and worsen insulin resistance (Weinstein & Kirsner, 2010). Recent studies also support that excessive TNF-α disrupts angiogenesis and endothelial function in diabetic wounds, leading to microvascular impairment and delayed healing (Buranasin et al., 2018). Together, these findings emphasize that TNF-α not only acts as an inflammatory mediator but also contributes to structural and metabolic disturbances in diabetic ulcers.

Platelet Activation and Thrombosis Risk. The strong correlation between TNF-α and platelet count observed in this study supports the concept that inflammation plays a significant role in platelet activation among diabetic ulcer patients. The average platelet count in this study was 319,333/µL, within the normal range but showing a strong relationship with TNF-α levels. This agrees with research by Rodriguez et al. (2020), which demonstrated that platelet hyperreactivity and increased aggregation play crucial roles in the relationship between thrombosis and vascular dysfunction in hyperglycemic conditions (Rodriguez & Johnson, 2020).

In type 2 DM, hemostatic disorders are closely linked to endothelial dysfunction and activation of inflammatory pathways, including increased expression of proinflammatory cytokines such as TNF-α. These cytokines contribute to platelet hyperreactivity by promoting endothelial damage, oxidative stress, and upregulation of adhesion molecules that facilitate platelet aggregation and microthrombus formation, thereby impairing peripheral tissue perfusion. Evidence shows that chronic metabolic stress in type 2 diabetes creates a prothrombotic, thromboinflammatory milieu characterized by enhanced platelet activation and platelet–leukocyte cross-talk (Rodriguez & Johnson, 2020; Sagar et al., 2022). Platelet dysfunction in diabetes has been associated with altered secretion profiles and increased expression of activation

markers, which amplify local inflammation and vascular injury (Pretorius et al., 2018; Stark & Massberg, 2021). Activated platelets release mediators such as interleukin-1ß (IL-1ß), platelet factor 4 (PF4), and platelet-derived growth factor (PDGF), which modulate immune responses and influence wound healing; this thrombo-inflammatory loop helps explain how inflammation and platelet activation act together to worsen perfusion and delay healing in diabetic foot ulcers.

Glycemic Control and Coagulation. An interesting trend was observed in this study showing a positive correlation between HbA1c and prothrombin time ($r = 0.33$, $p = 0.079$), although this did not reach statistical significance. The average HbA1c level in this study was 9.4%, indicating poor glycemic control in most subjects. While the current sample size limits definitive conclusions, this trend warrants further investigation as inadequate glycemic control may potentially be associated with prolongation of coagulation time, which could affect the wound healing process.

Kumar et al. (2023) also reported a similar correlation between HbA1c and coagulation profiles in type 2 diabetes, showing that glycemic control plays a key role in maintaining coagulation balance (Kumar, 2023). Chronic hyperglycemia leads to the nonenzymatic glycation of coagulation proteins, altering normal hemostatic function (Sobczak & Stewart, 2019).

Recent studies have shown that glycation of fibrinogen impairs fibrin polymerization and yields denser, more lysis-resistant clots in diabetes. Luzak et al. (2020) demonstrated in vitro that fibrinogen exposed to high glucose formed clots with slower polymerization kinetics and reduced stability, and that plasma from type 2 diabetic subjects yielded clots less susceptible to fibrinolysis than those from non-diabetics (Luzak et al., 2020). Likewise, Thrombosis Research published a proteomic analysis which identified multiple glycation sites on fibrinogen in T2DM and linked these to altered clot properties (Bryk et al., 2021). These findings reinforce the idea that hyperglycemia-induced modifications of fibrinogen may contribute to the prolonged PT

observed in the present study.

Clinical Implications. The strong correlation between TNF-α and platelet count observed here has important clinical implications. TNF-α may serve as a biomarker to assess inflammatory burden and thrombotic risk in patients with diabetic foot ulcers. These findings underscore the need for an integrated therapeutic strategy that targets both inflammation and glycemic control in ulcer management. Notably, in an experimental mouse model of obesity/diabetes, local administration of etanercept (a TNF-α inhibitor) significantly improved wound healing outcomes, in part by reducing inflammatory cytokine expression in wound macrophages and promoting tissue repair (MOF reduction, lowered IL-1ß, TNF, and NOS2 gene expression) (den Dekker et al., 2020). Thus, targeting TNF-α locally could modulate inflammatory responses and potentially ameliorate pathological platelet activation and coagulation dysfunction in diabetic ulcers. Optimizing glycemic control remains essential to reducing hyperglycemia-driven abnormalities in coagulation pathways and minimizing microvascular complications.

Study Limitations. Several limitations need to be acknowledged in this study. First, the relatively small sample size (n = 30) limits the generalization of findings. Second, the cross-sectional design cannot determine causal relationships between TNF-α and platelet activation. Longitudinal studies are needed to confirm temporal associations. Third, the study was conducted at a single hospital, which may limit external validity. The absence of a control group (such as diabetic patients without ulcers or healthy subjects) also limits comparison. Finally, additional inflammatory and coagulation parameters, such as fibrinogen, D-dimer, and von Willebrand factor, could provide a more comprehensive understanding of the relationship between inflammation, coagulation, and ulcer severity.

CONCLUSION

This study demonstrated a strong positive correlation between TNF-α levels and platelet count ($r = 0.86$, $p < 0.0001$) in type 2 diabetes mellitus patients with diabetic ulcer complications, indicating that inflammation plays a significant role in platelet activation in this condition. These findings suggest that TNF-α may serve as a biomarker of inflammatory burden in diabetic foot ulcers and highlight the need for integrated management targeting inflammation and glycemic control. Larger, longitudinal studies with expanded coagulation profiles are warranted to validate these results and further elucidate the complex interplay between inflammation, metabolic control, and hemostasis in diabetic foot ulcer pathophysiology.

ACKNOWLEDGMENTS

We would like to thank RSUD Dr. H. Abdul Moeloek, Lampung, for facilitating patient recruitment, and all participants who have contributed to this study.

CONFLICT OF INTEREST

There is no conflict of interest in this study.

REFERENCES

Alzamil, H. (2020). Elevated Serum TNF- α Is Related to Obesity in Type 2 Diabetes Mellitus and Is Associated with Glycemic Control and Insulin Resistance. *Journal of Obesity*, *2020*, 5–9. https://doi.org/10.1155/2020/5076858

Arsana, P. M., Firani, N. K., Fatonah, S., Waafi, A. K., & Novitasari, A. D. (2022).

Detection of Hemostasis Abnormalities in Type 2 Diabetes Mellitus Using Thromboelastography. *Journal of the ASEAN Federation of Endocrine Societies*, *37*(2), 42–48. https://doi.org/10.15605/jafes.037.02.12

Bryk, A. H., Zettl, K., Wiśniewski, J. R., & Undas, A. (2021). Glycation and acetylation sites on fibrinogen in plasma fibrin clot of patients with type 2 diabetes: Effects of low-dose acetylsalicylic acid. *Thrombosis Research*, *198*(November 2020), 93–98. https://doi.org/10.1016/j.thromres.2020.11.031

Buranasin, P., Mizutani, K., Iwasaki, K., Mahasarakham, C. P. N., Kido, D., Takeda, K., & Izumi, Y. (2018). High glucose-induced oxidative stress impairs proliferation and migration of human gingival fibroblasts. *PLoS ONE*, *13*(8), 1–19. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201855

den Dekker, A. D., Davis, F. M., Joshi, A. D., Wolf, S. J., Allen, R., Lipinski, J., Nguyen, B., Kirma, J., Nycz, D., Bermick, J., Moore, B. B., Gudjonsson, J. E., Kunkel, S. L., & Gallagher, K. A. (2020). TNF-α regulates diabetic macrophage function through the histone acetyltransferase MOF. *JCI Insight*, *5*(5). https://doi.org/10.1172/jci.insight.132306

International Diabetes Federation. (2025). IDF Diabetes Atlas 2025 _ IDF Diabetes Atlas. In *IDF official website*.

Kumar, D. T. A. (2023). A Cross Sectional Study of Coagulation Profile in Type 2 Diabetes Mellitus Patients in Correlation with HbA1c. *Journal of Medical Science And Clinical Research*, *11*(09), 53–59. https://doi.org/10.18535/jmscr/v11i9.07

Lampung, D. K. P. (2024). Profil Kesehatan Provinsi Lampung 2023. *Profil Kesehatan Tahun 2023*, *44*, 326.

Luzak, B., Boncler, M., Kosmalski, M., Mnich, E., Stanczyk, L., Przygodzki, T., & Watala, C. (2020). Fibrinogen glycation and presence of glucose impair fibrin polymerization—an in vitro study of isolated fibrinogen and plasma from patients with diabetes mellitus. *Biomolecules*, *10*(6). https://doi.org/10.3390/biom10060877

Mohammed, M., Ali, A. J. M., & Ben Romdhane, W. M. (2025). Study the roles of TNF-α in the immune responses of diabetic foot ulcers. *Al-Furat Journal for Health and Medical Sciences*, *1*(1), 31–39.

Pretorius, L., Thomson, G. J. A., Adams, R. C. M., Nell, T. A., Laubscher, W. A., & Pretorius, E. (2018). Platelet activity and hypercoagulation in type 2 diabetes. *Cardiovascular Diabetology*, *17*(1), 1–11. https://doi.org/10.1186/s12933-018-0783-z

Rachman, S. K., Hendryanny, E., & Bhatara, T. (2021). Hubungan Antara Kontrol Glikemik (HBA1C), Durasi Penyakit, dan Profil Lipid Pada Pasien Diabetes

Melitus Tipe II Dengan Kejadian Neuropati Diabetik: Scoping Review. *Jurnal Integrasi Kesehatan & Sains*, *3*(2), 207–214. https://doi.org/10.29313/jiks.v3i2.7340

Rodriguez, B. A. T., & Johnson, A. D. (2020). Platelet Measurements and Type 2 Diabetes: Investigations in Two Population-Based Cohorts. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, *7*(July), 1–12. https://doi.org/10.3389/fcvm.2020.00118

Sagar, R. C., Ajjan, R. A., & Naseem, K. M. (2022). Non-Traditional Pathways for Platelet Pathophysiology in Diabetes: Implications for Future Therapeutic Targets. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(9). https://doi.org/10.3390/ijms23094973

Sobczak, A. I. S., & Stewart, A. J. (2019). Coagulatory defects in type-1 and type-2 diabetes. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(24), 1–27. https://doi.org/10.3390/ijms20246345

Stark, K., & Massberg, S. (2021). Interplay between inflammation and thrombosis in cardiovascular pathology. *Nature Reviews Cardiology*, *18*(9), 666–682. https://doi.org/10.1038/s41569-021-00552-1

Weinstein, D. A., & Kirsner, R. S. (2010). Refractory ulcers: The role of tumor necrosis factor-α. *Journal of the American Academy of Dermatology*, *63*(1), 146–154. https://doi.org/10.1016/j.jaad.2009.08.004

Wijaya, L., Budiyanto, A., Astuti, I., & Mustofa, . (2019). Pathogenesis, evaluation, and recent management of diabetic foot ulcer. *Journal of the Medical Sciences (Berkala Ilmu Kedokteran)*, *51*(1), 82–97. https://doi.org/10.19106/jmedsci005101201910

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL BIJI DUKU TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) ISOLAT LUKA

Eka Wahyu Puspitasari

[1]**Program Studi D3 Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang, Jawa Tengah, Indonesia**

e-Mail: ekawahyupuspitasari10@gmail.com
No. Tlpn/WA: 081-226-930-367

Abstrak

Luka adalah kerusakan pada jaringan tubuh yang disebabkan oleh gigitan, sayatan, pukulan, tusukan, atau benturan lainnya. Luka yang terjadi dapat menyebabkan infeksi. Infeksi luka merupakan salah satu masalah kesehatan yang disebabkan oleh masuknya mikroorganisme patogen seperti bakteri. Pengobatan infeksi dapat menggunakan antibiotik, namun penggunaan antibiotik yang tidak tepat dapat menyebabkan bakteri resisten terhadap antibiotik. Strain bakteri resisten antibiotik telah menjadi ancaman bagi kesehatan masyarakat secara global. Munculnya bakteri multidrugresistant (MDR) menyebabkan ketidakefektifan pengobatan Oleh karena itu dalam menangani kasus bakteri yang resisten diperlukan beberapa alternatif seperti penggunaan bahan alami. Penelitian ini bertujuan mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji duku terhadap bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) isolat luka. Aktivitas antibakteri dievaluasi berdasarkan metode difusi agar dan metode mikrodilusi MIC dan MBC. Ekstrak etanol biji duku konsentrasi 500 mg/mL menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri MRSA pada uji difusi dengan diameter zona hambat 14.75±0.29 mm. Hasil pengujian MIC ekstrak etanol biji duku menunjukkan aktivitas antibakteri terbaik pada konsentrasi 62.5 mg/ml dan uji MBC menunjukkan aktivitas antibakteri terbaik pada konsentrasi 31,25 mg/ml. Biji duku terbukti berpotensi dikembangkan sebagai agen antibakteri terutama untuk strain bakteri MDR.

Kata Kunci : (*Biji Duku, Etanol, MRSA, MIC dan MBC)*

PENDAHULUAN

Kulit adalah organ terluar tubuh yang berhubungan langsung dengan lingkungan luar (Simões et al., 2018). Fungsi utama kulit adalah untuk melindungi ligamen, tulang, organ dalam, dan jaringan yang berada dibawahnya dari berbagai agen biologis, kimia, dan fisik (*Chua et al., 2016*). Struktur dan fungsi kulit dapat dipengaruhi oleh luka, luka bakar, sayatan bedah atau penyakit yang menyertai seperti diabetes (*Fijan et al., 2019*). Luka adalah kerusakan pada jaringan tubuh yang disebabkan oleh tusukan, sayatan, dan benturan lainnya. Luka dapat menyebabkan infeksi. Infeksi luka merupakan salah satu masalah kesehatan yang disebabkan oleh masuknya

mikroorganisme patogen seperti bakteri. Infeksi dapat disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Coagulase-negative Staphylococcus*, *Klebsiella pneumonia* (*Adhikari et al., 2020*). *Staphylococcus aureus* merupakan jenis mikroorganisme yang paling umum menyebabkan infeksi pada manusia (*Tong et al., 2015*). Bakteri *Staphylococcus aureus* menjadi penyebab infeksi pada luka abses yang merupakan kumpulan nanah yang disebabkan oleh infeksi (*Rai et al., 2017*). Pengobatan infeksi luka dapat menggunakan antibiotik, namun penggunaan antibiotik yang kurang tepat dapat menyebabkan bakteri resisten terhadap antibiotik. Salah satu strain bakteri resisten antibiotik adalah *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) (*Jubeh et al.,2020*). MRSA merupakan strain bakteri *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap antibiotik golongan ß-Laktam, termasuk golongan penicillin (oxacillin, methicillin, nafcilin). Bakteri *Staphylococcus aureus* memproduksi enzim ß-Laktamase yang menghancurkan cincin ß-Laktam. ß-Laktamase membuka cincin ß-Laktam penicillin sehingga menghilangkan aktivitas antimikrobanya (Jawetz, Melnick, 2013). Penggunaan antibiotik yang tidak tepat merupakan salah satu penyebab terjadinya resistensi antibiotik. Dengan ditemukannya

beberapa kasus bakteri *multi drug resisten* (MDR) maka biaya pengobatan dan status kondisi penyakit pasien akan lebih tinggi. Oleh karena itu dalam menangani kasus bakteri yang resisten diperlukan beberapa alternatif seperti penggunaan bahan alami. Bahan alami tersebut dapat diperoleh dari buah-buahan (*Prastiyanto et al.,2020*), biji-bijian (*Prastiyanto, 2021*), lateks (*Prastiyanto et al., 2020*), jamur (*Prastiyanto et al., 2020*), Madu (*Almasaudi, 2021*), dan berbagai tanaman obat tradisional yang dapat dimanfaatkan sebagai alternatif agen antimikroba (*Prastiyanto et al., 2021*). Salah satu bahan alami yang dapat dimanfaatkan adalah duku. Tanaman duku (*Lansium domesticum corr*) merupakan tanaman yang tumbuh di wilayah tropis terutama Asia Tenggara, seperti Indonesia, Malaysia, dan Thailand. Tanaman ini sudah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat seperti buahnya yang dapat dikonsumsi dan dijual dipasaran. Beberapa bagian seperti daun, buah, kulit, dan biji mengandung senyawa metabolit sekunder sehingga dimanfaatkan sebagai obat

tradisional. Tanaman duku memiliki aktivitas antioksidan yang berkhasiat sebagai antibakteri (*Lubis et al., 2022*). Hasil uji fitokimia yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak biji duku memiliki kandungan metabolit sekunder berupa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin dan terpenoid yang berperan sebagai agen antibakteri (Liwijaya, 2021).

BAHAN DAN METODE

Buah duku (*Lansium domesticum corr*) yang dipetik dari dusun Sirah, pulau Padang, Kab. Ogan Komering Ilir, Provinsi Sumatera Selatan, Indonesia.



Gambar 1. Peta lokasi pengambilan buah duku, (A) Kab. Ogan Komering Ilir, (B) Dusun Sirah Pulau Padang

Buah duku dikupas dan dipisahkan dari biji dan kulit. Biji dicuci dengan air untuk menghilangkan semua bahan yang tidak diinginkan dan kemudian dibilas dengan air suling steril, kemudian dikeringkan selama 3 hari di bawah sinar matahari dan dilanjutkan di oven dengan suhu ≤50^{o} C agar pengeringan sempurna. Biji duku yang telah kering selanjutnya digiling menjadi serbuk halus menggunakan blender dan kemudian diayak dengan ayakan ukuran 80 mess. Serbuk halus ditimbang dan disimpan dalam wadah steril.

Ekstraksi Biji Duku

Pembuatan ekstrak biji duku dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol. Biji duku yang sudah dihaluskan direndam dalam pelarut etanol dengan perbandingan biji duku dan etanol yaitu 1:3 (65 gram : 195 ml) proses ini dilakukan hingga rendaman jernih atau tidak menunjukkan warna yang pekat selama 1x24 jam selama 3 hari hal ini dikarenakan proses ekstraksi akan berlangsung optimal dengan tersedianya waktu kontak yang cukup antara pelarut dan sampel. Selama proses perendaman dilakukan beberapa kali

pengadukan untuk menyempurnakan kontak antara pelarut dan sampel. Setiap 24 jam rendaman disaring dan ditampung, selanjutnya hasil tampungan diuapkan menggunakan evaporator dengan suhu 40-50°C dilanjut dengan waterbath pada suhu 40-50°C sampai terbentuk ekstrak kental seperti pasta. Kemudian dituang dalam botol kaca steril tertutup dan simpan dalam kulkas suhu 4°C

Skrining Fitokimia

Tabel 1. Prosedur Skrining Fitokimia

No	Pemeriksaan	Pereaksi	Hasil
1	Flavonoid	*Bite Smite-Metcalfe*	Tidak terbentuk perubahan warna menjadi merah bata
		NaOH 10%	Terbentuk perubahan warna menjadi jingga
2	Alkaloid	Larutan Mayer	Terbnetuk endapan putih kekuningan
3	Fenolat	$FeCl_3$ 1%	Terbentuk perubhan warna menjadi hitam
4	Tanin	$FeCl_3$ 1%	Terbentuk perubahan warna menjadi coklat kehijauan
5	Saponin	Akuades	Tidak terbentuk busa setelah digojokkan selama 15 menit
6	Triterpenoid	Asam anhidrat dan H_2SO_4	Merah- ungu menunjukkan adanya triterpenoid
7	Steroid	Asam anhidrat dan H_2SO_4	Hijau-biru menunjukkan adanya steroid

Kultur Bakteri MRSA (*Methicillin Resistant Staphylococcus aureus)*

Tahapan isolasi bakteri dilakukan dengan hasil pengenceran sampel kemudian ditanam pada media *Blood Agar Plate* (BAP) kemudian di inkubiasi selama 24 – 48 jam pada suhu 37°C. selanjutnya dilakukan identifikasi secara morfologi kemudian dilakukan pewarnaan Gram dan dilanjutkan proses purifikasi. Proses purifikasi bakteri merupakan proses untuk memperoleh satu jenis koloni murni yang konsisten dan tidak tercampur bakteri lain. Langkah purifikasi yaitu dengan mengambil koloni murni dari media BAP dengan bantuan ose. Selanjutknya diambil satu mata ose dari inoculum tersebut kemudian ditanam kembali menggunakan metode *Quadrant streak* pada media BAP dan di inkubasi pada suhu 37°C selama 24–48 jam. Koloni yang tumbuh di amati morfologinya. Dilanjutkan dengan pewarnaan gram dan uji biokima seperti uji katalase, uji koagulase dan uji MSA.

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji sensitivitas digunakan ekstrak biji duku diencerkan dengan *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO) dengan metode sumuran yaitu dengan cara 100µL esktrak dengan konsentrasi 500mg/mL. kultur diinokulasikan pada media MHA, kemudian distreak rapat menggunakan mata ose. Didiamkan selama 10 menit, selanjutnya sumuran dibuat di masing-masing lempeng dengan menggunakan *cork borer* diameter 0,6 cm. Setiap cawan petri dibuat 5 sumuran, masing-masing sumuran diisi dengan 100µL esktrak etanol biji duku konsentrasi 500mg/mL. Setelah itu diinkubasikan pada suhu 37˚C selama 24 jam.

Uji MIC dan MBC

MIC dilakukan dengan cara Teknik pengenceran serial menggunakan *microplate* 96-*well*. Disiapkan 12 sumuran, masing-masing sumuran diisi 100µL media MHB. Pada sumuran ke-1 diisi esktrak biji duku konsentrasi 1000mg/mL, kemudian dihomogenkan. Sumuran ke-1 diambil 100µL dimasukkan pada sumuran ke-2, dihomogenkan, kemudian diambil 100µL dimasukkan ada sumuran ke-3, pada suhu 37^{O}C dan diamati hasil MICnya. Bakteri dalam sumur disubkultur menggunakan ose steril ke media *Blood Agar Plate* (BAP) dan diinkubasi pada suhu 37℃ selama 24 jam. MBC didefinisikan sebagai konsentrasi terendah dari ekstrak yang dapat membubuh bakteri, yang ditandai dengan tidak ada pertumbuhan koloni pada media BAP. Demikian seterusnya sampai dengan sumuran ke-12. Kemudian ditambahkan 10µL suspense sel bakteri (*0,5 Mc Farland*) diisi pada masing-masing sumuran, dari sumuran pertama sampai dengan sumuran ke-12, pada sumuran ke-12 digunakan sebagai control positif, setelah itu di inkubasi selama 24 jam.

HASIL

Rendemen Ekstrak Etanol Biji Duku

Buah duku yang didapat dari Dusun Sirah, Pulau Padang, Kab. Ogan Komering Ilir Provinsi Sumatera Selatan Indonesia. Kemudian biji dipisahkan dari buah kemudian diekstraksi dengan pelarut etanol menggunakan metode maserasi dan mendapatkan hasil ekstrak pada tabel berikut :

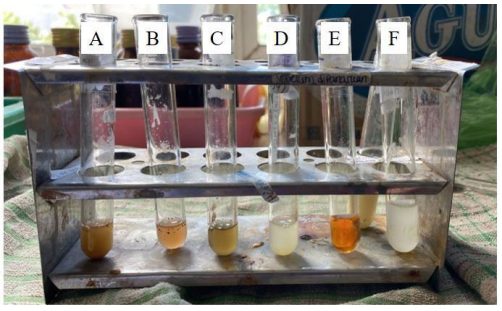
Ekstrak	Berat Serbuk (gr)	Berat Ekstrak (gr)	Rendemen (%)
Ekstrak Etanol Biji Duku	65	4.98	7.6

65 gram bubuk biji duku diekstraksi dengan metode maserasi menghasilkan 4.98 g ekstrak etanol biji duku yang berarti nilai rendemen dari ekstrak etanol biji duku Adalah 7,6%. Perhitungan persentase rendemen ekstrak etanol biji duku diperoleh berdasarkan perbandingan berat ekstrak yang dihasilkan dengan berat awal simplisia kemudian dikalikan 100%. Hasil rendemen yang didapatkan sebesar 7,6%. Semakin tinggi nilai rendemen menunjukkan bahwa ekstrak yang dihasilkan semakin besar. Ini berarti bahwa semakin banyak juga zat-zat aktif yang diperoleh dari hasil ekstraksi.

Skrining Fitokimia Biji Duku

	Golongan						
	Flavonoid	Alkaloid	Fenolat	Tanin	Saponin	Triterpenoid	Steroid
Ekstrak Biji Duku	+	-	-	+	+	-	+

Uji fitokimia terhadap senyawa flavonoid, alkaloid, fenolat, tannin, saponin, dan triterpenoid/steroid yang terdapat dalam ekstrak etanol biji duku. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh hasil positif adanya senyawa flavonoid yang ditandai warna jingga pada pereaksi NaOH 10%, senyawa tannin yang ditandai warna coklat dan senyawa saponin yang ditandai dengan terbentuknya busa, senyawa steroid ditandai dengan warna hijau-biru, sedangkan diperoleh hasil negative senyawa alkaloid yang ditandai dengan tidak terbentuknya endapan kuning dan fenolat tidak terjadi perubahan warna menjadi hitam.



Gambar 2. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Biji Duku

Keterangan : (A) Fenolat, (B) Flavonoid, (C) Steroid, (D) Alkaloid, (E) Tanin, (F) Saponin

Isolasi *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

Bakteri uji yang digunakan dalam peelitian ini adala bakteri MRSA yang telah di identifikasi secara makroskopik, mikroskopik dan biokimia. Hasil pengamatan makroskopik dilihat bahwa koloni dari media BAP dengan kode koloni 8E memiliki bentuk bulat (*coccus*), warna kuning keemasan, ukuran koloni 2mm dengan tepi rata (*entire*), elevasi cembung (*covex*), konsistensi halus (*smooth*) dan juga bersifat ß hemolisa yang berarti bakteri dapat menghemolisa secara sempurna. Hasil pengamatan mikroskopik dilihat bahwa koloni 8E yang dilakukan pewarnaan gram dan dilakukan pengamatan mikroskopis memiliki bentuk bulat, warna ungu yang berarti memiliki sifat gram positif dan memiliki susunan bergerombol membentuk seperti buah anggur. Hasil uji katalase, koagulase dan MSA menunujukkan hasil positif yang berarti benar bahwa bakteri uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus*. Bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki strain resisiten yaitu MRSA yang resisten terhadap antibiotik golongan metichillin. Bakteri uji yang akan digunakan juga dilakukan uji antibiotik menggunakan oxacillin yang merupakan golongan metichillin dan didapatkan hasil diameter zona hambat sebesar 21 mm yang berarti resisten berdasarkan tabel CLSI.

Aktivitas Antibakteri Metode Difusi

Hasil pengujian aktivsi antibakteri dari ekstrak etanol biji duku terhadap bakteri MRSA isolate luka diuji dengan metode difusi dengan konsentrasi 500mg/mL ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar sumuran yang pengukurannya menggunakan jangka sorong satuan milimeter (mm). Hasil pengukuran zona hambat ekstrak etanol biji duku ditunjukkan pada table sebagai berikut:

Tabel 4. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Duku Metode Difusi

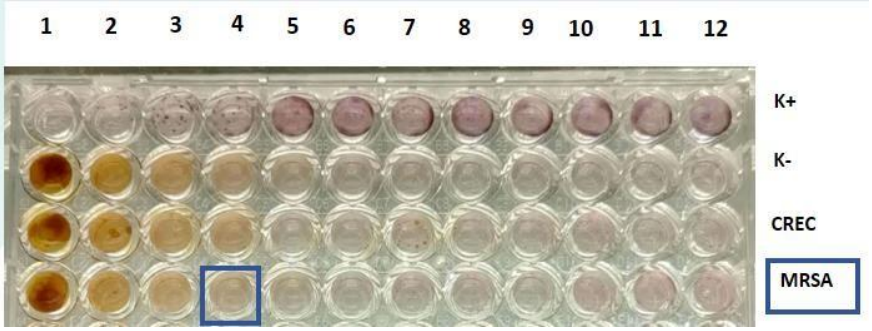
Jenis Ekstrak	Pengulangan (mm)				Rata-rata daya hambat
	I	II	III	IV	
Ekstrak Etanol Biji Duku 500mg/mL	14.5	15	14.5	15	14.75±0.29



Gambar 3. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Duku Metode Difusi

Aktivitas Antibakteri Metode Dilusi (MC dan MBC)

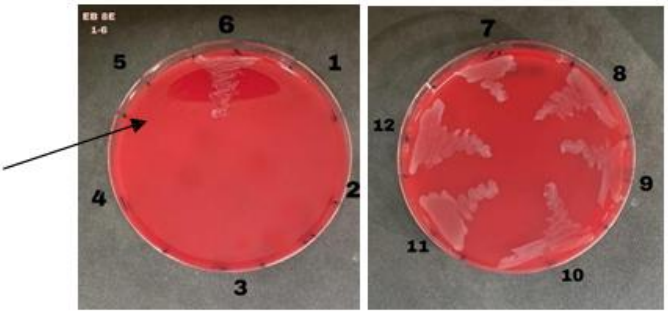
Penentuan MIC *(Minimum Inhibitory Concentration)* adalah penentuan konsentrasi terendah yang menghambat pertumbuhan bakteri dengan hasil yang dilihat kekeruhan pada sumuran (well). Dapat dilihat pada well 1-4 tidak terdapat pertumbuhan bakteri ditandai dengan tidak ada kekeruhan. Ekstrak etanol biji duku memiliki konsentrasi terendah 62,25mg/mL yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri MRSA isolate luka.



Keterangan : Well 1 (500mg/mL), well 2 (250mg/mL), well 3 (125mg/mL), well 4 (62,25 mg/mL), well 5 (31,25mg/mL), well 6 (15,62 mg/mL), well 7 (7,81 mg/mL), well 8 (3,90 mg/mL, well 9 (1,95 mg/mL), well 10 (0,97m/mL), well 11 (0,48 mg/mL), well 12 (0,24 mg/mL).

Nilai MBC (*Minimum Bactericidal Concentration)* adalah adalah kelanjutan dari MIC *(Minimum Inhibitory Concentration)*. Nilai MBC merupakan konsentrasi terendah yang dapat membunuh bakteri. Nilai MBC dari ekstrak etanol biji duku ditentukan dengan metode mikrodilusi menggunakan campuran kultur

MIC pada microwell dan dikultur pada media BAP. Dapat dilihat pada sektor 1-5 tidak ada pertumbuhan koloni (Gambar 5). Hasil menunjukkan bahwa ekstrak memiliki Nilai MBC sebesar 31,25 mg/mL.



Gambar 5. Nilai MBC Ekstrak Etanol Biji Duku

Tabel 5. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Duku Metode Dilusi

Well	Konsentrasi (mg/mL)	Ekstrak Etanol Biji Duku (500mg/mL)	MIC Kontrol (+)	MIC Kontrol (-)	MBC
1	500	-	+	-	-
2	250	-	+	-	-
3	125	-	+	-	-
4	62,5	-	+	-	-
5	31,25	+	+	-	-
6	15,62	+	+	-	+
7	7,81	+	+	-	+
8	3,90	+	+	-	+
9	1,95	+	+	-	+
10	0,97	+	+	-	+
11	0,48	+	+	-	+
12	0,24	+	+	-	+

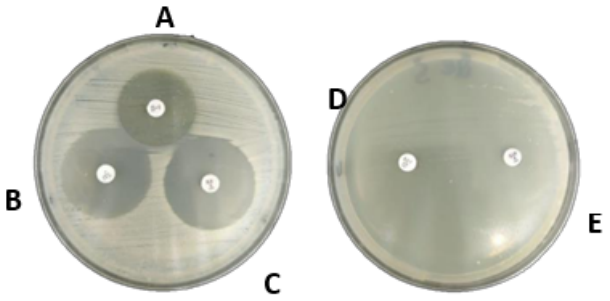
Keterangan:
(+) ada pertumbuhan
(-) tidak ada pertumbuhan

Hasil Uji Antibiotik

Uji antibiotik dilakukan dengan menggunakan 5 antibiotik yaitu ciprofloxacin, trimetropim, linezoit, oxacillin, clyndamicin untuk mengetahui pola resistensi dari bakteri MRSA yang digunkan. Zona hambat yang terbentuk pada antibiotik adalah ciprofloxacin 6mm, clydamicin 37mm, oxacillin 21 mm, linezoit 31 mm, trimetropim 6 mm. hasil pengukuran zona bening pada table 10 akan di bandingkan dengan standar zona hambat antibiotic, menurut CLSI (*Clinical & Laboratory Standars Institute)* sebagai berikut:

Tabel 6. Diameter Zona Hambat Antibiotik

Antibiotik	Konsentrasi	Diameter zona hambat	Standar CLSI		
			Resisten	Intermediet	Sensitit
Oxacilin (OX)	1 µg	21 mm (R)	≤ 24 mm	-	≥ 25 mm
Linezolid (LZD)	30 µg	31 mm (S)	≤ 20 mm	-	≥ 21 mm
Clindamycin (DA)	2 µg	37 mm (S)	≤ 14 mm	15-20 mm	≥ 21 mm
Trimetropim (SXT)	25 µg	6 mm (R)	≤ 12 mm	11-15 mm	≥ 17 mm
Ciprofloxacin (CIP)	5 µg	6 mm (R)	≤15 mm	16-20 mm	≥21 mm



Gambar 6. Hasil Uji Antibiotik

Keterangan: (A) Oxacillin, (B) Linezolid, (C) Clindamycin, (D) Trimetropim, (E) Ciprofloxacin

DISKUSI

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui zona hambat dengan metode difusi (sumuran), nilai MIC dan MBC dievaluasi dengan metode dilusi. Pengujian ekstrak etanol biji duku (*Lansium domesticum corr)* terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) diawali dengan pembuatan ekstrak etanol biji duku menggunakan metode maserasi.

Metode maserasi dipilih karena merupakan proses ekstraksi yang sederhana dan tanpa adanya pemanasan, sehingga tidak akan merusak zat aktif yang terdapat dalam biji duku. Proses ektraksi merupakan salah satu proses yang penting dilakukan dengan tujuan untuk mengambil senyawa aktif dari badan sel. Pelarut etanol 96% digunakan karena pelarut ini memiliki sifat semi polar sehingga diharapkan dapat menarik zat aktif yang bersifat polar dan non polar dari biji duku. Pemilihan pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi mempengaruhi senyawa yang aktif dapat terlarut dan dapat mempengaruhi hasil uji antibakteri (*Rahmiati et al., 2017*; Sa'adah and Nurhasnawati, 2017).

Maserasi merupakan cara yang dilakukan dengan merendam serbuk biji duku selama 3 hari dengan menggunakan pelarut etanol. Pembuatan ekstrak biji duku selanjutnya dilakukan penyaringan berdasarkan hasil maserasi dan diuapkan dengan evaporator kemudian dilanjutkan pada waterbath sehingga diperoleh ekstrak kental.

Filtrat yang diperoleh dari proses maserasi kemudian dipekatkan menggunakan evaporator dan waterbath dengan suhu kurang dari 50˚C untuk menghilangkan etanol yang terdapat di dalam filtrat dan didapatkan rendemen ekstrak sebesar 7.6%. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian ditimbang 1 gr dan ditambah DMSO *(Dimethyl sulfoxide)* sampai tanda batas 1 mL, lalu diencerkan menjadi konsentrasi 500 mg/mL. Ekstrak selanjutnya diuji aktivitas antibakterinya dalam menghambat pertumbuhan bakteri MRSA.

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi atau penyerapan, yaitu suspensi bakteri diinokulasi pada media MHA *(Muller Hinton Agar)* lalu dibuat lubang sumuran kemudian di masukkan 100 µL masing-masing konsentrasi ekstrak etanol biji duku pada sumuran, selanjutnya di inkubasi pada suhu 35±2˚C selama 18 jam kemudian diamati zona bening yang terbentuk di sekitar sumuran. Hasil menunjukkan ekstrak etanol bij duku konsentrasi 500mg/mL mampu menghambat pertumbuhan bakteri ditandai dengan adanya zona bening yang terbentuk disekitar sumuran yang terlihat pada tabel 9 dan gambar 16. Jika dibandingkan dengan kontrol positif clindamycin dikatakan resisten jika diameter ≤ 14 mm, sedangkan sensitive apabila diameter ≥ 21 mm. Sementara dalam penelitian ini menunjukkan hasil rata-rata zona hambat sebesar 14.75±0.29 mm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak yang diujikan memiliki aktivitas antibakteri berdasarkan zona hambat yang dihasilkan. Hasil yang diperoleh untuk ekstrak etanol biji duku memiliki aktivitas antibakteri dalam kategori kuat. Penentuan kategori ini berdasarkan pernyataan yang disampaikan oleh Davis & Stout, (1971) bahwa kekuatan aktivitas antibakteri oleh senyawa aktif dikelompokkan menjadi empat kategori, yaitu aktivitas lemah (<5 mm), sedang (5-10 mm), kuat (11-20 mm), dan sangat kuat (20-30 mm). Adanya zona hambat yang terbentuk menandakan bahwa ekstrak etanol biji duku berpotensi untuk

dikembangkan sebagai agen antibakteri terhadap MRSA. Penelitian ini menunjukkan zona hambat yang lebih baik dari penelitian sebelumnya. Penelitian yang dilakukan oleh *Pehino, et al (2021)* dengan judul "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Duku (*Lansium domesticum*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*" yang menunjukkan hasil bahwa ekstrak biji duku memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen dengan konsentrasi 10%,20%, 30%, 40%, rata-rata zona hambat pada *Staphylococcus aureus* sebesar 11,3-13,6 mm dan *Escherichia coli* sebesar 9,3-12,6 mm. Perbedaan ukursn diameter zona hambat pada variasi konsentrasi ekstrak dapat dipengaruhi oleh faktor kuantitas kandungan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak. Semakin besar konsentrasi suatu ekstrak, maka kandungan senyawa aktif yang memiliki aktivitas antibakteri semakin besar, yang berarti kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri semakin tinggi (Effa and Puetri, 2015). Penelitian lain melaporkan bahwa ekstrak biji buah duku dapat menghambat pertumbuhan berbagai bakteri patogen pada manusia, seperti *Vibrio cholera* (8.0±0 mm*), Escherichia coli* (9,3±0.6 mm), *Salmonella typhi* (10.3±1.1 mm), dan *Staphylococcus aureus* (10.7±0.6) (*Korompis et al., 2010*).

MIC (*Minimum Inhibitory Concentration)* dilakukan untuk mengetahui nilai konsentrasi terendah suatu zat antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba, ditandai dengan tidak terjadi perubahan warna pada *well* dan dibandingkan dengan kontrol. Hasil MIC dievaluasi dengan metode *microdilution* menggunakan *microplate* 12 sumuran, dengan media yang digunakan adalah media MHB (*Muller Hilton Broth*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa MIC ada pada sumuran ke 4. Hasil nilai MIC pada konsentrasi 62,5 mg/mL terhadapa MRSA kode isolat luka. Hasil nilai MIC dari ekstrak etanol biji duku terhadap MRSA ditandai dengan tidak terjadi perubahan warna pada sumuran.

MBC *(Minimum Bactericidal Concentration)* dilakukan bertujuan untuk mengetahui konsentrasi terendah yang dapat membunuh inokulum akhir bakteri setelah inkubasi selama 18 jam pada media BAP (*Blood Agar Plate*). Nilai MBC adalah kelanjutan dari MIC. Hasil nilai MBC dari ekstrak etanol biji

duku terhadap MRSA ditandai dengan hasil penggoresan pada media BAP dari hasil MIC yang tidak mengalami perubahan warna pada well. Hasil penelitian menunjukan bahwa nilai MBC adalah 31.25 mg/mL terhadap MRSA isolat luka. Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Wijaya (2016) yang menunjukkan ekstrak etanol biji buah langsat memiliki aktivitas antibakteri dengan MIC pada konsentrasi 0.19% dan MBC pada konsentrasi 6,25% terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian lain melaporkan ekstrak etanol biji duku memiliki efek antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dengan nilai konsentrasi MIC 0.19% dan MBC 3.12% (Chandra, 2021). Dari penelitian yang telah dilakukan maka biji duku berpotensi dikembangkan sebagai agen antibakteri.

Ekstrak etanol biji duku mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), yang berarti biji duku mengandung senyawa aktif yang berpotensi sebagai agen antibakteri. Uji skrining fitokimia biji duku mengandung senyawa kimia flavonoid, tanin, saponin, dan steroid yang merupakan agen antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba. Penelitian ini sejalan dengan *Konda et al., (2020)* yang menunjukkan hasil fitokimia ekstrak biji duku memiliki kandungan tanin, saponin, flavonoid, alkaloid, dan terpenoid.

Hasil uji fitokimia pada penelitian ini menunjukkan terdapat perbedaan kandungan senyawa aktif yaitu tidak terdapat alkaloid dan terpenoid. Perbedaan kuantitas dan kualitas senyawa aktif yang terkandung dalam biji duku dipengaruhi oleh faktor internal dan faktor eksternal. Faktor internal terdiri atas genotip atau spesies, biomassa tanaman, kesehtan, dan umur (*Galbraith et al., 2019*). Faktor eksternal dapat berupa kesuburan tanah, suhu, cahaya matahari. Faktor eksternal dapat secara signifikan memengaruhi beberapa proses yang terkait dengan pertumbuhan dan perkembangan tanaman, serta kemampuannya untuk mensintesis metabolit sekunder, yang pada akhirnya mempengaruhi kandungan senyawa kimia serta aktivitas farmakologi yang ada pada tanaman (*Yang et al., 2018*).

Aktivitas antibakteri dipengaruhi oleh metabolit sekunder yang terkandung dalam biji duku yang berpotensi sebagai agen antibakteri.

Metabolit sekunder tersebut memiliki sifat dan mekanisme yang berbeda-beda dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Salah satunya flavonoid. Flavonoid memiliki aktivitas biologis terhadap bakteri dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein intraseluler yang dapat merusak membran sel bakteri dan menyebabkan senyawa intraseluler keluar. Selain itu, flavonoid mampu menghambat metabolisme energi bakteri yang dibutuhkan bakteri untuk mensintesis molekul.

Tanin dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri dengan cara mengganggu sintesis dinding sel, selain itu juga tanin memiliki kemampuan mengganggu produksi enzim dan menurunkan transport protein dalam sel bakteri.

Saponin merupakan senyawa glikosida steroid dan triterpenoid yang menunjukkan beragam aktivitas biologis dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada dinding sel bakteri sehingga menurunkan tegangan permukaan sehingga menyebabkan naiknya permeabilitas sel atau mengakibatkan terjadinya kebocoran sel dan mengakibabkan senyawa intraseluler keluar yang akan mengakibatkan kematian bakteri. Sedangkan steroid memiliki mekanisme antibakteri dengan cara menyebabkan kebocoran liposom bakteri serta dapat menyebabkan integritas membrane sel menurun sehingga morfologi membran sel berubah dan mengakibatkan sel lisis *(Restuana et al., 2018*; Sapara and Waworuntu, 2016). Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi kerja zat antibakteri diantaranya yaitu konsentrasi zat antibakteri, kandungan zat antibakteri, jenis bakteri, dan jumlah bakteri. Pada umunya kemampuan suatu ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri sangat berhubungan dengan konsentrasi zat antibakteri yang diberikan.

Hal tersebut menandakan bahwa semakin tinggi konsentrasi zat yang digunakan, maka semakin tinggi daya hambat yang dihasilkan (Marselia et al., 2015). Uji antibiotik yang menggunakan 5 antibiotik menunjukkan hasil 3 antbiotik resisten dan 2 antibiotik sensitif. Antibiotik resisten diantaranya oxaciliin 21 mm, ciprofloxacin 6 mm dan trimetropim 6 mm sedangkan antibiotik sensitif yaitu clindamycin 37 mm dan linezollid 31 mm. Hasil uji yang telah dilakukan menandakan bahwa bakteri yang digunakan termasuk bakteri *multidrugresistant* karena telah resisten dari tiga antibiotik. Dalam

penelitian ini clindamycin dan linezolid digunakan sebagai kontrol positif dengan zona hambat yang dihasilkan besar yaitu 37 mm dan 31 mm, ini menunjukkan bahwa MRSA masih sensitif terhadap antibiotik clindamycin dan linezolid. Linezolid merupakan antibiotic pertama dari golongan oxazolidione. Senyawa tersebut merupakan antibiotik sintetik yang dapat menghambat sintesis protein bakteri melalui pengikatan pada rRNA. Hal tersebut menghambat pembentukan kompleks inisiasi selama sintesis protein yang dapat mengurangi panjang rantai peptida, dan menurunkan laju proses pemanjangan translasi *(Hashemian et al., 2018*). Selain linezolid antibiotik clindamycin merupakan obat yang sensitif terhadap bakteri MRSA, clindamycin merupakan antibiotik turunan lincosamide dengan spectrum luas, aktivitas tinggi terhadap bakteri gram positif, aktif melawan bakteri aerob, anaerob, dan bakteri penghasil ß- Laktamase. Clindamycin memberikan efek bakteriostatik dengan menghambat sintesis protein dengan mengikat RNA, subunit 50S dari ribosom bakteri (*Luchian et al., 2021*).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa

1. Aktivitas antibakteri esktrak etanol biji duku dengan konsentrasi 500mg/mL terhadap pertumbuhan MRSA isolat luka menghasilkan zona hambat sebesar
   14.75±0.29 mm. membuktikan bahwa esktrak etanol biji duku dapat menjadi alternatif pengganti antibiotik kimia terhadap bakteri MRSA isolat luka.
2. Nilai MIC dan MBC esktrak etanol biji duku terhadap bakteri MRSA isolat luka berada pada konsentrasi 62,5mg/mL dan 31,25mg/mL.

REFERENSI

Adhikari, K., Basnyat, S., Shrestha, B., 2020. Prevalence of Multidrug-Resistant and Extended-spectrum Betalactamase Producing Bacterial Isolates from Infected Wounds of patients in Kathmandu Model Hospital. Nepal J. Sci. Technol. 19, 171–179.

Almasaudi, S., 2021. The Antibacterial Activities of Honey. Saudi J. Biol. Sci. 28, 2188–2196.

Chandra, M.R.E., 2021. Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Duku (Lansium domesticum) Terhadap Streptococcus mutans. Universitas Sriwijaya.

Chua, A.W.C., Khoo, Y.C., Tan, B.K., Tan, K.C., Foo, C.L., Chong, S.J., 2016. Skin Tissue Engineering Advances in Severe Burns: Review and Therapeutic Applications. Biomed Cent. 4, 1–14.

Davis, W.W., Stout, T.R., 1971. Disc plate method of microbiological antibiotic assay. I. Factors influencing variability and error. Appl. Microbiol. 22, 659–665.

Effa, Puetri, N.R., 2015. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sirih (Piper betle L.) Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus Isolat dari Penderita Faringitis. Sel 2.

Fijan, S., Frauwallner, A., Langerholc, T., Krebs, B., Ter Haar, J.A., Heschl, A., Mičetić Turk, D., Rogelj, I., 2019. Efficacy of Using Probiotics with Antagonistic Activity against Pathogens of Wound Infections: An Integrative Review of Literature. Biomed Res. Int.2019.

Galbraith, P., Henry, R., McCarthy, D.T., 2019.Rise of the killer plants: investigating the antimicrobial activity of Australian plants to enhance biofilter-mediated pathogen removal. J. Biol. Eng. 13, 52.

Hashemian, S.M.R., Farhadi, T., Ganjparvar, M., 2018. Linezolid: a Review of Its Properties, Function, and Use in Critical Care. Drug Des. Devel. Ther. 12, 1759–1767.

Jawetz, Melnick, and A., 2013. “Medical Microbiology,” 26th eds. ed. a Lange Medical Book.

Jubeh, B., Breijyeh, Z., Karaman, R., 2020.Resistance of Gram-Positive Bacteria to Current Antibacterial Agents and Overcoming Approaches. J. Mol. 25, 1– 22

Konda, J.P., Siampa, J.P., Tallei, T.E., Kepel, B.J., Fatimawali, F., 2020. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Biji Langsat (Lansium domesticum var. pubescens) dan Duku (Lansium domesticum var. domesticum) dengan Metode DPPH. J. Ilm. SAINS 20, 113.

Korompis, G.E.C., Danes, V.R., Sumampouw, O.J., 2010. Uji Invitro Aktivitas Antibakteri Dari Lansium domesticum

Correa (Langsat). Chem. Prog 1, 1–5. Liwijaya, D.K., 2021. Antibacterial Potency of Duku (Lansium domesticum Corr.) Seed Extract Againts Bacterial Growth of Enterococcus faecalis. Universitas Sriwijaya.

Lubis, M.F., Hasibuan, P.A., Syahputra, H., Astyka, R., 2022. A Review on Phytochemicals and Pharmacological Activities as Ethnomedicinal Uses of Duku (Lansium domesticum Corr.). Open

Access Maced. J. Med. Sci. 10, 57–65. Luchian, I., Goriuc, A., Martu, M.A., Covasa, M., 2021. Clindamycin as an Alternative Option in Optimizing Periodontal Therapy. J. Antibiot. 10, 814.

Marselia, S., Wibowo, M.A., Arreneuz, S., 2015. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Soma (Ploiarium alternifolium melch) Terhadap Propionibacterium acnes. J. Kim. Khatulistiwa 4, 72–82.

Prastiyanto, M.E., 2021. Seeds Extract of Three Artocarpus Species: Their in-vitro Antibacterial Activities Against Multidrug-Resistant (mdr) Escherichia coli Isolates From Urinary Tract Infections (utis). Biodiversitas 22, 4356-4362.

Prastiyanto, M.E., Dewi, N.M.B.A., Pratiningyas, T.D., Pratiwi, N.M.R., Windayani, A., Wahyunengsih, E., Astuti, A., Amir, E., Wardoyo, F.A., 2021. In vitro Antibacterial Activities of Crude Extracts of Nine Plants on Multidrug Resistance Bacterial Isolates of Wound Infections. Biodiversitas J. Biol. Divers. 22, 2641–2647.

Prastiyanto, M.E., Rukmana, R.M., Saraswati, D.K., Darmawati, S., Maharani, E.T.W., Tursinawati, Y., 2020a. Anticancer Potential of Methanolic Extracts from Pleurotus Species on Raji Cells and Antibacterial Activity Against Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus. Biodiversitas 21, 5644–5649.

Prastiyanto, M.E., Tama, P.D., Ananda, N., Wilson, W., Mukaromah, A.H., 2020b. Antibacterial Potential of Jatropha sp. Latex against Multidrug-Resistant

Bacteria. Int. J. Microbiol. 2020, 1–6. Prastiyanto, M.E., Wardoyo, F.A., Wilson, W., Darmawati, S., 2020c. Antibacterial Activity of Various Extracts of Averrhoa bilimbi against Multidrug Resistant Bacteria. Biosaintifika J. Biol. Biol. Educ. 12, 163–168.

Rahmiati, A., Hariyati, T., Kurniawan, E., Program, M., Analis, S., Medica, P., Husada, F., Program, D., Analis, S., Medica, P., Husada, F., 2017. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Biji Pepaya Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus MRSA. Media Med. Lab. Sci. Politeknik“Medica Farma Husada” Mataram 1, 13–18.

Rai, S., Yadav, U.N., Pant, N.D., Yakha, J.K., Tripathi, P.P., Poudel, A., Lekhak, B., 2017. Bacteriological Profile and Antimicrobial Susceptibility Patterns of Bacteria Isolated from Pus/Wound Swab Samples from Children Attending a Tertiary Care Hospital in Kathmandu, Nepal. Int. J. Microbiol. 2017.

Restuana, S.D., Herla, R., Dwi, S., Dera, R.T.S., Sisilia, F.Y., 2018. Antimicrobial Effects of Chive Extracts Against Bacteria Pathogen and Lactobacillus acidophilus. IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci. 205, 1–11.

Sa'adah, H., Nurhasnawati, H., 2017. Perbandingan Pelarut Etanol dan Air Pada Pembuatan Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (Eleutherine americana Merr) Menggunakan Metode Maserasi. J. Ilm. Manuntung 1, 149.

Sapara, T.U., Waworuntu, O., 2016. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pacar Air (Impatiens balsamina L.) Terhadap Pertumbuhan Porphyromonas gingivalis. Pharmacon (Jurnal Ilm. Farm. 5, 10–17.

Simões, D., Miguel, S.P., Ribeiro, M.P., Coutinho, P., Mendonça, A.G., Correia, I.J., 2018. Recent Advances on Antimicrobial Wound Dressing: A Review. Eur. J. Pharm. Biopharm. 127,130–141.

Tong, S.Y.C., Davis, J.S., Eichenberger, E., Holland, T.L., Fowler, V.G., 2015. Staphylococcus aureus Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management. Clin. Microbiol. Rev. 28, 603–661.

Yang, L., Wen, K.-S., Ruan, X., Zhao, Y.-X., Wei, F., Wang, Q., 2018. Response of Plant Secondary Metabolites to Environmental Factors. Molecules 23,762.

POTENSI INTERLEUKIN-6 SEBAGAI BIOMARKER PREDIKTIF PENYAKIT MAKROVASKULAR PADA DIABETES MELITUS TIPE 2

Yogi Khoirul Abror[1]* · Adang Durachim[1] · Cecep Patria[1] · Nina Marliana[1] · Wiwin Wiryanti[1]

[1]**Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Kesehata Kemeterian Kesehatan Bandung, Jawa Barat, Indonesia**

e-Mail : yogiabror@staff.poltekkesbandung.ac.id
No Tlp WA : 082143045053

Abstract

The prevalence of diabetes mellitus (DM) in Indonesia has markedly increased in recent years, with type 2 diabetes mellitus (T2DM) representing the most prevalent form. T2DM is strongly associated with macrovascular complications, including coronary heart disease and stroke. Elevated fasting blood glucose and Interleukin 6 (IL-6) levels have been linked to these complications. However, the use of IL-6 as a predictive biomarker for macrovascular diseases in T2DM patients remains underexplored. The objective of this study was to examine the potential of IL-6 as a predictor of macrovascular complications in patients with T2DM. The findings of this study have the potential to enhance the management of DM and reduce DM and coronary heart disease complications. A cross-sectional study was conducted with 30 T2DM patients sampled with purposive sampling technique. Blood samples were tested for fasting blood glucose and IL-6 levels and then analyzed with Spearman's rank correlation test. The results demonstrated that all participants exhibited fasting blood glucose levels exceeding 200 mg/dL and elevated IL-6 levels above 43 pg/mL. A strong positive correlation (R = 0.657) was identified between fasting blood glucose and IL-6 levels, suggesting a link between hyperglycemia and vascular disease. The findings suggest that IL-6 may serve as a valuable predictive biomarker for macrovascular complications in T2DM, enabling earlier interventions. Nevertheless, the study does not take into account the cardiovascular disease histories of the participants, that should be addressed in future studies.
***Keywords** : IL-6, glycemia, macrovascular complications, type 2 diabetes mellitus*

Abstrak

Prevalensi diabetes melitus (DM) di Indonesia telah meningkat secara nyata dalam beberapa tahun terakhir, dengan diabetes melitus tipe 2 sebagai bentuk yang paling umum terjadi. DM tipe 2 sangat terkait dengan komplikasi makrovaskuler, termasuk penyakit jantung koroner dan stroke. Peningkatan kadar glukosa darah puasa dan *Interleukin 6* (IL-6) telah dikaitkan dengan komplikasi ini. Akan tetapi, penggunaan IL-6 sebagai biomarker prediktif untuk penyakit makrovaskular pada pasien DM tipe 2 masih belum dieksplorasi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji potensi IL-6 sebagai prediktor komplikasi makrovaskuler pada pasien DM tipe 2. Temuan dari penelitian ini memiliki potensi untuk membantu peningkatan penatalaksanaan DM dan mengurangi komplikasi DM dan penyakit jantung koroner. Penelitian ini dilakukan dengan pendekatan *cross-sectional* terhadap 30 pasien dengan DM tipe 2 yang dipilih dengan teknik *purposive sampling*. Spesimen darah diuji untuk mengukur kadar glukosa darah puasa dan IL-6, kemudian hasilnya dianalisis dengan Spearman rank correlation test. Hasil pemeriksaan menunjukkan bahwa semua peserta memiliki kadar glukosa darah puasa > 200 mg/dL dan kadar IL-6 > 43 pg/mL. Terdapat korelasi positif yang kuat (R = 0,657) antara glukosa darah puasa dan IL-6 yang menunjukkan adanya hubungan antara hiperglikemia dan kerusakan pembuluh darah. Temuan ini menunjukkan bahwa IL-6 dapat berfungsi sebagai biomarker untuk memprediksi komplikasi makrovaskuler pada DM tipe 2, sehingga memungkinkan deteksi dini. Namun demikian, penelitian ini tidak memperhitungkan riwayat penyakit kardiovaskular dari para

peserta yang harus dielaborasi dalam penelitian selanjutnya.
Keywords : IL-6, Glikemia, Makrovaskular, Diabetes Mellitus Type 2

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit kronis akibat gangguan metabolisme pada pankreas yang menyebabkan produksi insulin tidak mencukupi.[1,2] Kondisi ini ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah atau hiperglikemia akibat penurunan jumlah atau fungsi insulin.[3]

Jumlah penderita DM di Indonesia terus bertambah, dari 10,7 juta pada tahun 2019 meningkat menjadi 19,5 juta pada tahun 2021. Indonesia termasuk salah satu negara dengan prevalensi DMT2 cukup tinggi di kawasan Asia Tenggara, bahkan menempati urutan ketujuh.[1] Berdasarkan buku World Health Organization yang berjudul "Classification of Diabetes Melitus 2019", kasus DM tipe 2 merupakan kasus terbanyak dengan persentase berkisar antara 90% dan 95%; persentase tersebut tertinggi yang terdapat pada negara berpenghasilan rendah dan menengah.[4] Pada tahun 2019, terdapat 22.996 orang terkena DM di Kota Bandung.[5,6]

Penyakit DM juga tidak lepas dari komplikasi DM. Komplikasi ini timbul tergantung dari lamanya penyakit ini diderita atau dari keparahan penyakit itu sendiri. Komplikasi tersebut termasuk komplikasi makrovaskuler dan komplikasi mikrovaskuler.[7,8] Lebih lanjut, komplikasi makrovaskuler dapat berkembang menjadi penyakit jantung koroner, penyakit pembuluh darah otak, dan penyakit pembuluh darah perifer. Komplikasi makrovaskular yang umum berkembang pada penderita diabetes adalah penyakit jantung koroner.[9,10] Menurut data Kemenkes tahun 2022, terdapat lebih dari 50% pasien DM terkomplikasi penyakit jantung koroner.

Komplikasi makrovaskular lebih sering timbul pada penderita DM tipe 2, yang umumnya menderita hipertensi, dislipidemia, dan/atau kegemukan; penderita DM tipe 1 juga dapat terkomplikasi oleh komplikasi makrovaskuler.[11] Kombinasi dari penyakit tersebut dikenal dengan sebutan Sindroma Metabolik. Maka dari itu, penderita DM tipe 2 memiliki risiko lebih tinggi terkena penyakit jantung sehingga pencegahan komplikasi makrovaskuler sangatlah penting dilakukan, termasuk deteksi dini menggunakan prediktor yang relevan sehingga dapat menekan angka

kejadian komplikasi DM dan penyakit jantung.[12,13]

Komplikasi makrovaskular diawali dengan keadaan hiperglikemia intrasel yang menyebabkan terjadinya stres oksidatif dan ekspresi ROS, sehingga mengakibatkan peningkatan radikal bebas yaitu *diacylglycerol* (DAG) di dalam tubuh. Peningkatan sintetis DAG menyebabkan ekspresi *protein kinase* C (PKC) dalam sel juga meningkat yang pada akhirnya akan mengubah berbagai macam ekspresi gen yang secara keseluruhan merusak pembuluh darah. Peningkatan aktivasi PKC menginduksi *nuclear factor kappa beta* (NF-κB) yang merupakan faktor transkripsi untuk mengaktifkan gen-gen proinflamasi dalam pembuluh darah yang disebut *proinflammatory gene expression*. Maka dari itu, aktivasi dari NF-kB akan menyebab jumlah sitokin proinflamasi meningkat, termasuk Interleukin 6 (IL-6). Keberadaan IL-6 akan menstimulasi hepar untuk memproduksi *Interleukin 6* (IL-6).[14,15] IL-6 merupakan protein yang akan muncul ketika mulai terjadi kerusakan vaskuler.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk melakukan kajian pada biomarker IL-6 sebagai prediktor komplikasi makrovaskular pada pasien DM tipe 2. Harapannya, IL-6 bisa dijadikan sebagai salah satu parameter untuk pengendalian DM dan menekan angka kejadian komplikasi DM dan Jantung Koroner. Kemudian, penelitian ini juga mendukung program prioritas Kementerian Kesehatan dalam pengendalian kasus penyakit metabolik, yaitu DM beserta komplikasinya melalui upaya deteksi lebih dini menggunakan prediktor biomarker IL-6 sehingga pasien DM bisa mendapat terapi lebih awal dan tidak berkembang menjadi kondisi yang lebih buruk.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian *quasi experiment* dengan *desain cross-sectional association*, yang meneliti korelasi antara faktor risiko dengan melakukan pendekatan atau pengumpulan data pada satu titik waktu tertentu saja. Penelitian dilakukan dengan memeriksa darah pasien diabetes melitus tipe 2 untuk mengetahui kadar glukosa darah puasa. Pasien yang memenuhi kriteria dipilih sebagai sampel dan darahnya kembali diuji untuk mengukur kadar IL-6. Data dianalisis lebih lanjut untuk menentukan korelasi antara kadar glukosa darah

puasa dan IL-6.

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah pasien Diabetes Melitus tipe 2 di RSUD Al-Ihsan Baleendah. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu 30 orang yang dipilih menggunakan teknik *purposive sampling* yang menyeleksi sampel berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi tertentu. Kriteria inklusi: pasien DM tipe 2 dengan kadar glukosa darah puasa lebih dari 200 mg/dL; menderita penyakit DM ≥ 5 tahun. Kriteria eksklusi: pasien DM dengan komplikasi mikrovaskular seperti neuropati, nefropati, dan retinopati.

Penelitian ini juga telah disetujui secara etik oleh Komite Etik Penelitian Poltekkes Kemenkes Bandung dengan nomor sertifikat kaji etik No. 67/KEPK/EC/V/2025.

Pada pemeriksaan glukosa darah puasa, pemeriksaan dilakukan dengan metode GOD-PAP. Glukosa pada sampel teroksidasi oleh asam glukonat dan hidrogen peroksida; reaksi ini dibantu oleh enzim glukosa oksidase (GOD). Hasilnya terbentuk hidrogen peroksida 4-aminoantipirin yang kemudian bereaksi dengan indikator fenol. Reaksi dikatalisis oleh enzim peroksidase (POD) menghasilkan *quinoneimine* yang berwarna merah muda dan air. Kemudian absorbansinya diukur menggunakan spektrofotometer dan hasilnya dikonversi menjadi kadar glukosa darah puasa. Spesimen yang digunakan adalah serum.

Pengujian dilakukan dengan memipet masing-masing 10 µL serum/standar dan 1000 µL reagen ke dalam tabung. Setelah itu, campuran dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu ruang selama 10 menit. Intensitas warnanya kemudian dibaca pada panjang gelombang 500 nm. Pembacaan blanko dan standar hanya dilakukan satu kali di awal, sebelum pemeriksaan spesimen.

Uji IL-6 pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan instrumen I-Chromax dengan metode *fluorescence immunoassay* (FIA) *sandwich immunodetection*. Antibodi detektor dalam buffer berikatan dengan antigen dalam spesimen, membentuk kompleks antigen-antibodi yang bermigrasi ke matriks nitroselulosa untuk ditangkap oleh antibodi lain yang amobil pada strip tes. Jumlah antigen yang lebih tinggi pada spesimen menghasilkan lebih banyak kompleks antigen-antibodi sehingga menghasilkan intensitas sinyal fluoresensi yang lebih kuat pada detektor antibodi. Intensitas sinyal kemudian diproses oleh instrumen dan berbanding lurus dengan tingkat IL-6 yang ada dalam spesimen.

Spesimen yang digunakan adalah serum.

Langkah awal dalam melakukan pemeriksaan ini adalah menusuk lapisan atas *detection buffer* dengan *sample collector*. Selanjutnya, 10 µL serum dipipet menggunakan *sample collector*. *Sample collector* kemudian digabungkan dengan *detection buffer* hingga menjadi satu, dan campuran tersebut dihomogenisasi 10 kali. Tutup dari tabung atas dilepas, dan dua tetes
campuran dibuang. Dua tetes campuran setelahnya diteteskan ke dalam *cartridge*. *Cartridge* kemudian dimasukkan ke dalam instrumen I-Chromax, dan *cartridge* yang sudah terisi oleh campuran tersebut dipindai secara otomatis. Hasilnya muncul pada monitor tiga menit kemudian.

Data dari hasil pemeriksaan diuji secara statistik menggunakan Pearson Product Moment jika data berdistribusi normal (parametrik) atau Spearman's Rank Correlation jika distribusi data tidak normal (non-parametrik).

HASIL

Semua sampel memiliki kadar glukosa puasa lebih dari 200 mg/dL yang mengindikasikan kondisi diabetes mellitus (DM) sesuai dengan kriteria diagnosis DM dan kriteria inklusi penelitian ini. Kadar glukosa darah puasa tertinggi yang ditemukan adalah 531 mg/dL, sedangkan kadar paling rendah di antara sampel adalah 216 mg/dL (Tabel 1).

Kemudian, hasil pemeriksaan IL-6 dengan metode FIA juga menunjukkan bahwa semua sampel memiliki kadar IL-6 yang meningkat. Semua kadar IL-6 sampel melebihi 5 pg/mL yang mengindikasikan bahwa pasien sedang mengalami inflamasi. Kadar IL-6 paling rendah pada sampel adalah 43.2 pg/mL, sedangkan yang tertinggi mencapai 150.3 pg/mL (Tabel 1). Namun, pada pengambilan data ini, riwayat penyakit kardiovaskular pasien tidak termasuk dalam kriteria analisis.

Data kadar glukosa darah puasa dan kadar IL-6 kemudian diuji normalitas distribusinya menggunakan Saphiro-Wilk Normality Test dengan nilai *alpha* 0,005. Dari uji tersebut, didapatkan nilai P 0,002 (P < *alpha*) yang mengindikasikan bahwa data tidak terdistribusi secara normal.

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Glukosa Darah Puasa dan IL-6

Kode Sampel	Kadar Glukosa Darah Puasa (mg/dL)	Kadar IL-6 (pg/mL)
1	342	98.2
2	279	52.3
3	283	53.2
4	378	87.2
5	357	78.3
6	294	51.2
7	345	88.3
8	351	87.7
9	341	89.2
10	234	45.7
11	216	43.2
12	325	80.2
13	334	81.2
14	331	90.3
15	222	42.1
16	377	91.2
17	353	92.5
18	307	87.9
19	315	87.2
20	295	44.8
21	289	44.2
22	430	112.5
23	338	92.2
24	319	88.6
25	259	46.2
26	266	47.9
27	531	150.3
28	313	95.4
29	337	90.8
30	327	89.2

Maka dari itu, tes korelasi yang digunakan adalah Spearman's rank Correlation Test untuk menentukan korelasi antara kadar glukosa darah puasa dengan kadar IL-6. Koefisien korelasi yang diperoleh dari uji korelasi Spearman adalah 0,657 yang berarti bahwa kedua variabel tersebut memiliki korelasi kuat yang positif. Korelasi positif berarti kedua variabel bergerak ke arah yang sama; ketika kadar glukosa darah puasa meningkat, kadar IL-6 juga ikut meningkat. Hal ini mengindikasikan adanya hubungan potensial antara hiperglikemia dengan penyakit makrovaskular.

DISKUSI

Pada kondisi hiperglikemia, kadar Interleukin 6 (IL-6) cenderung meningkat sebagai respon terhadap adanya inflamasi. Diabetes melitus (DM) umumnya terjadi karena gangguan metabolisme yang dihubungkan dengan resistensi insulin

menimbulkan kondisi hiperglikemia. Hiperglikemia dapat menyebabkan peningkatan produksi ROS melalui berbagai jalur, mengakibatkan stres oksidatif dan inflamasi.[16]

Tingginya kadar glukosa darah menyebabkan peningkatan *diacylglycerol* (DAG), yaitu suatu produk perantara dari glikolisis. Zat radikal bebas tersebut dapat mengaktivasi *protein kinase C* (PKC) yang akan menyebabkan penurunan kadar *8-oxoguanine glycosylase (*OGG1) yang bertindak sebagai enzim *DNA repair* oksidatif sehingga meningkatkan produksi ROS. Selain itu, aktivasi PKC juga dapat mengakibatkan disfungsi sel endotelial, *aktivasi nuclear factor kappa B* (NF-κB), dan apoptosis pada sel vaskular.[17]

Aktivasi NF-κB menginduksi kerusakan akibat stres oksidatif pada sel endotel. Kondisi ini merangsang pelepasan sitokin proinflamasi seperti interleukin (IL-6) dan *tumor necrosis factor-alpha* (TNF-α). Akibatnya, hati terstimulasi untuk mensintesis IL-6 sehingga IL-6 meningkat pada pasien diabetes mellitus tipe 2.[3,16] Selain itu, sebuah penelitian juga menemukan bahwa NF-κB memiliki peran dalam induksi IL-6 endogen.[18]

Selain itu, stres oksidatif telah terbukti merusak *endothelial junction*, meningkatkan permeabilitas intravaskular, dan pada akhirnya berkontribusi pada perkembangan penyakit makrovaskular dan mikrovaskular. Sejalan dengan hal tersebut, pasien yang didiagnosis dengan DM tipe 2 memiliki risiko lebih tinggi untuk mengalami komplikasi makrovaskular dan mikrovaskular. Khususnya pada kasus penyakit makrovaskular, hiperglikemia dapat mempercepat proses aterosklerosis akibat peningkatan kadar glukosa dan asam lemak dalam darah. Hal ini mengakibatkan kerusakan pada lapisan endotel, yang dapat berkembang menjadi pengendapan trombosit, makrofag, dan jaringan fibrosa, serta proliferasi sel otot polos pembuluh darah. Hal ini menandai tahap awal aterosklerosis, yang merupakan penyakit inflamasi dan penyebab utama penyakit iskemik seperti infark miokard, penyakit jantung koroner, stroke, dan penyakit arteri perifer.[19]

Peningkatan IL-6 juga telah terbukti terkait erat dengan perkembangan penyakit kardiovaskular. Sintesis IL-6 meningkat pada aterosklerosis dan kondisi patologis lainnya yang ditandai dengan peradangan sistemik tingkat rendah. Peningkatan sintesis IL-6 yang akan menyebabkan terjadinya peningkatan konsentrasi IL-6 dalam serum. Uji klinis dan penelitian eksperimental baru-baru

ini telah menunjukkan bahwa IL-6 dapat berfungsi sebagai mediator aterosklerosis dan biomarker. Individu juga dapat diklasifikasikan ke dalam tiga kategori risiko penyakit kardiovaskular berdasarkan kadar IL-6. Kadar IL-6 di bawah 1 pg/mL mengindikasikan profil risiko rendah, sedangkan kadar antara 1 dan 42 pg/mL dikaitkan dengan klasifikasi risiko sedang, dan kadar yang melebihi 43 pg/mL mengindikasikan profil risiko tinggi.[20-22]

Oleh sebab itu, korelasi positif yang kuat antara kadar glukosa darah puasa dan IL-6 mengindikasikan hubungan antara hiperglikemia dan penyakit kardiovaskular. Hubungan ini menunjukkan potensi kegunaan IL-6 sebagai biomarker prediktif untuk komplikasi makrovaskular, yang akan sangat membantu dalam identifikasi dini dan manajemen pasien DM tipe 2 berisiko tinggi. Namun, penting untuk dicatat bahwa penelitian ini tidak memperhitungkan riwayat penyakit kardiovaskular pasien sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.

KESIMPULAN

Korelasi positif yang kuat terlihat antara kadar glukosa darah puasa dan IL-6 pada pasien diabetes melitus tipe 2 dengan nilai koefisien korelasi (R) sebesar 0,657. Temuan ini menunjukkan potensi penggunaan IL-6 sebagai biomarker prediktif untuk deteksi dini komplikasi makrovaskuler dalam pengelolaan pasien dengan diabetes melitus tipe 2. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai potensi IL-6, termasuk memperhitungkan riwayat penyakit yang diderita pasien.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih kepada Kementerian Kesehatan Indonesia yang telah mendanai penelitian ini dengan skema peneliti pemula (PP) .

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konfil kepentingan dalam penelitian ini

REFRENSI

Hart PC, Rajab IM, Alebraheem M, Potempa LA. Interleukin 6 and Cancer—Diagnostic and Therapeutic Insights. *Front Immunol*. 2020;11:595835. doi:10.3389/fimmu.2020.595835

Powers AC. Diabetes Mellitus. In: Fauci AS, Harrison TR, eds. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. Vol II. 17. ed. New York: McGraw-Hill Medical; 2018:2275-2304.

Kalma K. Studi Kadar Interleukin 6 (IL-6) pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2. *MAK*. 2018;1(1): 62-68. doi:10.32382/mak.v1i1.222

World Health Organization. *Classification of Diabetes Mellitus*. World Health Organization; 2019. https://iris.who.int/handle/10665/325182

Nursamsiah D, Fatih HA, Irawan E. Hubungan Dukungan Keluarga dengan Kepatuhan Diet pada Penderita Diabetes Mellitus di Puskesmas Babakan Sari Kota Bandung. *jkep*. 2021;9(1):132-140. https://ejurnal.ars.ac.id/index.php/keperawatan/article/view/598

Eka SM, Evi P. *Gambaran Kadar Interleukin 6 Pada Pasien Diabetes Melitus Tipe 2 Terkontrol Dan Tidak Terkontrol Di Puskesmas Mojoagung Jombang*. STIKES ICME Jombang; 2022.

American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes—2013. *Diabetes Care*. 2023;36(Supplement_1):S11-S66. doi:10.2337/dc13-S011

Babu L, Joshi A. Correlation of high-sensitivity Interleukin 6 with blood sugar level in patients with Type 2 diabetes. *Natl J Physiol Pharm Pharmacol*. Published online 2017;8(1):37-41. doi:10.5455/njppp.2018.8.0726805082017

Marwa Elsaeed Elhefnawy, Siti Maisharah Sheikh Ghadzi, Sabariah Noor Harun. Predictors Associated with Type 2 Diabetes Mellitus Complications over Time: A Literature Review. *JVD*. 2022;1(1):13-23. doi:10.3390/jvd1010003

Masharani U. Diabetes Mellitus and Hypoglicemia. In: McPhee SJ, Papadakis MA, eds. *Current Medical Diagnosis & Treatment*. 50th ed. New York: McGraw-Hill Medical; 2021:1140-1176.

Arguedas JA, Leiva V, Wright JM. Blood pressure targets for hypertension in people with diabetes mellitus. Cochrane Hypertension Group, ed. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2013;2023(10). doi:10.1002/14651858.CD008277.pub2

Lestari, Zulkarnain, Sijid StA. Diabetes Melitus: Review Etiologi, Patofisiologi, Gejala, Penyebab, Cara Pemeriksaan, Cara Pengobatan dan Cara Pencegahan. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*. 2021;7(1):237-241.

Suryati I. *Buku Keperawatan Latihan Efektif Untuk Pasien Diabetes Mellitus Berbasis Hasil Penelitian*. Yogyakarta: Deepublish; 2021.

Ceska R. Clinical implications of the metabolic syndrome. *Diabetes and Vascular Disease Research*. 2007;4(3_suppl):S2-S4. doi:10.3132/dvdr.2017.049

Bastian B, Sari I, Pratama FP. Analysis of Interleukin 6 (IL-6) Levels in Venous and Capillary Blood Samples with Immunoturbidimetric Methods. *medicra*. 2022;5(1):1-5. doi:10.21070/medicra.v5i1.1622

Stanimirovic J, Radovanovic J, Banjac K, et al. Role of Interleukin 6 in Diabetic Inflammation. *Mediators Inflamm*. 2022;2022(3706508):1-15. doi:10.1155/2022/3706508

An Y, Xu B tuo, Wan S rong, et al. The role of oxidative stress in diabetes mellitus-induced vascular endothelial dysfunction. *Cardiovasc Diabetol*. 2023;22(1):237. doi:10.1186/s12933-023-01965-7

Agrawal A, Cha-Molstad H, Samols D, Kushner I. Overexpressed nuclear factor-κB can participate in endogenous C-reactive protein induction, and enhances the effects of C/EBPβ and signal transducer and activator of transcription-3. *Immunology*. 2023;108(4):539-547. doi:10.1046/j.1365-2567.2003.01608.x

Smeltzer SC, Hinkle JL, Bare BG, Cheever KH, eds. *Brunner & Suddarth's Textbook of Medical-Surgical Nursing*. *Volume 2*. Vol 2. 12th edition. Philadlphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins; 2020.

Kirkgöz K. Interleukin 6 in Atherosclerosis—More than a Biomarker, but not Just a Culprit. *Rev Cardiovasc Med*. 2023;24(10):297. doi:10.31083/j.rcm2410297

Singh SK, Suresh MV, Voleti B, Agrawal A. The connection between Interleukin 6 and atherosclerosis. *Ann Med*. 2018;40(2):110-120. doi:10.1080/07853890701749225

Amezcua-Castillo E, González-Pacheco H, Martín ASS, et al. Interleukin 6: The Quintessential Marker of Systemic Inflammation in Coronary Artery Disease-Advancing toward Precision Medicine. *Biomedicines*. 2023;11(9):2444. doi:10.3390/biomedicines11092444World Health Organization. Injury: A Leading Cause of the Global Burden of Disease, 2000. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2022.