

PROC 04

By JHONS SUWANDI

WORD COUNT

999

TIME SUBMITTED

27-SEP-2019 05:12PM

PAPER ID

50711707

IDENTIFIKASI MUTASI CODON K76T GEN PFCRT PADA PENDERITA MALARIA FALCIPARUM DI KABUPATEN LAHAT

PENDAHULUAN

Infeksi malaria di Kabupaten Lahat telah lama menjadi masalah dibidang kesehatan. Infeksi malaria terus menerus ditemukan sepanjang tahun. Spesies Plasmodium yang paling sering ditemukan pada penderita malaria di Kabupaten Lahat adalah *Plasmodium falciparum* dan *P. vivax*. Spesies lain yang dapat menginfeksi manusia, yaitu *P. malariae*, *P. ovale* dan *P. knowlesi* sampai saat ini belum dilaporkan ditemukan di Kabupaten Lahat (Markell *et al.*, 1986; Garcia & Bruckner, 1997; Biggs & Brown 2001; Heelan & Ingersoll 2002; Kemenkes RI, 2011a; Centers for Disease Control and Prevention 2012).

Berdasarkan profil kesehatan Kabupaten Lahat tahun 2007, telah dilaporkan angka AMI (*Annual malaria incidence*) di Lahat sebesar 14,34/1000 populasi (Dinkes Kabupaten Lahat, 2007). Survei pendahuluan pada penderita malaria klinis yang berobat di RSUD Lahat menunjukkan 49% dari 77 sampel darah yang diperiksa pada bulan November 2010 positif malaria (Suwandi, 2011).

Klorokuin merupakan salah satu antimalaria yang masih digunakan di Kabupaten Lahat untuk mengendalikan malaria, walaupun saat ini Kementerian Kesehatan RI sudah tidak merekomendasikan klorokuin sebagai obat standar malaria. Adanya penurunan efektifitas klorokuin menjadi penyebab beralihnya standar pengobatan ke kombinasi berbasis artemisinin. Pada tahun 2000 telah dilaporkan resistensi *P. falciparum* terhadap klorokuin telah ditemukan diseluruh wilayah Indonesia (Zit & Ramdja 2000; Depkes RI 2008; Kemenkes RI 2011; Kemenkes RI 2012). Ditemukannya penderita malaria yang tidak menunjukkan perbaikan klinis atau timbulnya kekambuhan setelah pengobatan dengan klorokuin menunjukkan kemungkinan adanya resistensi terhadap klorokuin.

Penyebab timbulnya resistensi *P. falciparum* terhadap klorokuin adalah salah satunya adanya mutasi gen PfCRT pada kodon posisi 76. Gen ini berperan pada

transportasi kation-anion yang pada kondisi normal mengalirkan asam amino masuk ke dalam vakuola makanan parasit melalui membrannya. Adanya mutasi substitusi pada kodon 76 dari threonine (T) menjadi lysine (K) pada gen ini telah banyak dilaporkan menjadi penyebab resistensi terhadap klorokuin dan amodiakuin. Mutasi pada gen ini akan menyebabkan penurunan pengeluaran asam amino sehingga menyebabkan penurunan pH lisosom. Kondisi ini ditemukan pada parasit yang resisten terhadap klorokuin (Djimdé *et al.*, 2001; Warhurst, 2001; Lopes *et al.*, 2002; Kamelia, 2010). Penurunan pH dalam vakuola makanan akan menyebabkan gangguan pada mekanisme kerja klorokuin. Penelitian ini akan mengkaji mutasi pada *codon 76* gen *PfCRT* pada penderita malaria di Kabupaten Lahat.

METODE

Sampel penelitian ini di ambil selama bulan Oktober dan November tahun 2011 di RSUD Kabupaten Lahat Propinsi Sumatera Selatan. Sampel penelitian adalah sebagian pasien malaria yang berobat di RSUD Lahat dengan merujuk pada kriteria inklusi dan eksklusi. Sampel darah yang diperoleh kemudian dilakukan isolasi DNA dengan menggunakan metode chelex (Wooden *et al.* 1992; Moll *et al.* 2008). Amplifikasi DNA dilakukan dengan pendekatan nested PCR. Pada tahap pertama dilakukan amplifikasi sepanjang 537 bp yang mengandung *codon 76* dengan menggunakan primer *forward* CCGTTAATAATAAATACACGCAG dan primer *reverse* CGGATGTTACAAAACACTATAGTTAC. Amplifikasi kedua dilakukan sepanjang 134 bp dengan primer *forward* TGTGCTCATGTGTTTAAACTT, dan primer *reverse* CAAAACACTATAGTTACCAAT TTTG. Hasil amplifikasi dideteksi dengan elektroforesis. Analisis mutasi pada *codon 76* dengan menggunakan metode *Restriction fragment length polymorphism* (RFLP). Hasil PCR pada nested kedua dipotong dengan menggunakan enzim restriksi Apo I. Pada kondisi tidak ada mutasi maka enzim tidak dapat memotong fragmen DNA pada *codon 76*. Pada kondisi mutasi maka enzim akan memotong fragmen DNA pada *codon 76* menjadi dua potong fragmen masing masing sepanjang 34 bp dan 100 bp (Kamelia, 2010).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari 30 sampel darah yang diamplifikasi, hanya tujuh sampel darah yang berhasil didapatkan pitanya pada elektroforesis. Ketujuh sampel ini kemudian dilakukan RFLP dengan menggunakan enzim restriksi Apo I. Ketujuh sampel yang dilakukan RFLP menunjukkan semua sampel terpotong menjadi dua fragmen sepanjang 34 bp dan 100 bp. Hal ini menunjukkan bahwa ketujuh sampel ini telah menunjukkan adanya mutasi pada *codon* 76 gen PfCRT. Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Kamelia (2010) di Lampung yang menunjukkan adanya mutasi pada posisi K76T gen PfCRT pada sampel penelitian di Lampung (Kamelia, 2010). Mutasi yang ditemukan pada *codon* K76T gen PfCRT menyebabkan timbulnya resistensi *P. falciparum* terhadap klorokuin. Penelitian yang dilakukan oleh Djimdé *et al.* (2001) gen PfCRT merupakan salah satu marker molekuler untuk mendeteksi resistensi *P. falciparum* terhadap klorokuin.

Gen PfCRT adalah gen transporter yang mengatur pH, cairan dan elektrolit pada vakuola makanan Plasmodium. Pada kondisi normal (*wild-type*), klorokuin akan terakumulasi pada vakuola makanan Plasmodium dan akan berikatan dengan *feriprotophorphyrine IX* membentuk molekul kompleks. Kompleks molekul ini sangat toksik bagi Plasmodium. Klorokuin juga dapat meningkatkan pH vakuola makanan sehingga polimerisasi heme tidak terjadi. Pada kondisi tanpa klorokuin maka pH di dalam vakuola makanan rendah. Rendahnya pH ini merupakan kondisi yang optimal bagi parasit untuk memecah heme menjadi pigmen yang tidak toksik bagi parasit. Bila penderita mendapat pengobatan dengan klorokuin maka akan menyebabkan perubahan pH pada vakuola makanan. Konsentrasi klorokuin yang optimal akan menyebabkan pH vakuola makanan meningkat sehingga proses polimerisasi heme terhambat. Terhambatnya proses ini akan menyebabkan menumpuknya heme pada vakuola makanan, yang merupakan bahan toksik sehingga dapat menyebabkan kematian Plasmodium (Djimdé *et al.* 2001; Warhurst 2001; Suwandi 2007; Kamelia 2010).

Bila terjadi mutasi pada *codon* K76T gen PFCRT maka klorokuin tidak dapat terakumulasi dalam vakuola makanan. Hal ini disebabkan adanya aliran (*efflux*) cairan termasuk klorokuin dari vakuola makanan ke sitoplasma. Kondisi ini menyebabkan konsentrasi klorokuin dalam vakuola makanan menurun sehingga molekul kompleks yang seharusnya terbentuk menjadi tidak terbentuk. Konsentrasi klorokuin yang rendah juga berakibat peningkatan pH vakuola makanan tidak terjadi. Tetap rendahnya pH vakuola makanan menyebabkan polimerisasi hem menjadi pigmen yang tidak toksik bagi parasit tetap berlangsung. Keseluruhan kondisi ini menyebabkan Plasmodium dapat bertahan dan tidak mati, walaupun dosis klorokuin yang diberikan sudah pada dosis terapi maksimal (Djimé *et al.* 2001; Warhurst, 2001; Suwandi, 2007; Kamelia, 2010).

Kondisi ini yang kemungkinan terjadi pada penderita yang menjadi subjek penelitian ini. Kekurangan dari penelitian ini adalah tidak mengevaluasi hasil pengobatan dengan mengikuti protokol yang ditetapkan oleh WHO (WHO, 2009). Asumsi adanya kegagalan terapi hanya dengan melihat adanya beberapa penderita yang berulang berobat dengan diagnosis yang sama yaitu malaria.

KESIMPULAN

Analisis RFLP pada gen PFCRT dari penderita malaria di RSUD Lahat telah ditemukan adanya mutasi pada *codon* 76 dengan perubahan asam amino threonine (T) menjadi lysine (K) yang menyebabkan timbulnya resistensi *P. falciparum* terhadap klorokuin.

PROC 04

ORIGINALITY REPORT

4%

SIMILARITY INDEX

MATCH ALL SOURCES (ONLY SELECTED SOURCE PRINTED)

★www.scribd.com
Internet

3%

EXCLUDE QUOTES OFF
EXCLUDE
BIBLIOGRAPHY OFF

EXCLUDE MATCHES OFF