DETEKSI GEN ND3 PADA *Taenia asiatica* PADA SAMPEL FESES DENGAN METODE *Polymerase Chain Reaction* DI PUSKESMAS SUKAWATI I

Hafit Febri Wijaya[1*] · I.Gusti Agung Ayu Putu Swastini[2] · Heri Setiyo Bekti[3]

[1,2,3] Program Studi Sarjana Terapan, Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Denpasar, Bali, Indonesia
e-Mail : agungswastini18@gmail.com
No Tlpn WA : 085855603591

Abstract

Background: Sukawati sub-district has a programme for taeniasis. However, challenges remain due to the strong attachment of the community to the tradition of lawar plek consumption. Current diagnosis of taeniasis still uses microscopic methods which have limitations in identification specificity. Therefore, the development of molecular detection methods is important. PCR is a sensitive and specific technique to detect the ND3 gene, which is a specific gene of Taenia asiatica, for more accurate diagnosis. **Objective:** to develop a PCR method to detect Taenia asiatica in faecal samples. **Methods:** Descriptive research using non-probability sampling technique with saturated sampling technique with a total of 15 samples. Results: On microscopic examination of faeces, all 15 respondents were positive (+) (100%). And molecular examination obtained negative (-) results in 15 respondents (100%). **Conclusion:** From this study it can be concluded that all fecal samples examined were positive for Taenia sp parasite eggs and proglotids and in molecular examination all samples showed negative results, no DNA bands appeared at 186 bp.
Keywords: *Taeniasis, PCR, ND3 Gene*

Abstrak

Latar Belakang: Kecamatan Sukawati memiliki program untuk taeniasis. Namun, tantangan tetap ada karena keterikatan yang kuat dari masyarakat terhadap tradisi konsumsi lawar plek. Diagnosis taeniasis saat ini masih menggunakan metode mikroskopis yang memiliki keterbatasan dalam spesifisitas identifikasi. Oleh karena itu, pengembangan metode deteksi molekuler menjadi penting. PCR merupakan teknik yang sensitif dan spesifik untuk mendeteksi gen ND3 yang merupakan gen spesifik Taenia asiatica, untuk diagnosis yang lebih akurat. **Tujuan:** mengembangkan metode PCR untuk mendeteksi Taenia asiatica pada sampel tinja. **Metode:** Penelitian deskriptif menggunakan teknik non-probability sampling dengan teknik sampling jenuh dengan jumlah sampel sebanyak 15 sampel. **Hasil:** Pada pemeriksaan mikroskopis tinja, seluruh 15 responden positif (+) (100%). Dan pemeriksaan molekuler didapatkan hasil negatif (-) pada 15 responden (100%). **Kesimpulan:** Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa semua sampel tinja yang diperiksa positif mengandung telur dan proglotid parasit Taenia sp dan pada pemeriksaan molekuler semua sampel menunjukkan hasil negatif, tidak ada pita DNA yang muncul pada 186 bp.
Kata kunci : *Taeniasis,* PCR, Gen ND3

PENDAHULUAN

Taeniasis atau penyakit cacing pita merupakan infeksi parasit disebabkan oleh tiga spesies cacing pita: *Taenia solium*, *Taenia saginata*, dan *Taenia asiatica*. Manusia dapat terinfeksi *T.asiatica* jika memakan jaringan hati babi atau daging babi

yang terinfeksi dan tidak dimasak secara matang sempurna (WHO, 2022). *Taeniasis* merupakan salah satu jenis penyakit *zoonosis* menular strategis di Indonesia. Infeksi cacing pita akan mengeluarkan telur melalui kotoran pembawa cacing pita yang dapat menginfeksi babi. Telur yang telah dikeluarkan dapat ditularkan ke manusia jika tertelan melalui konsumsi makanan atau air yang terkontaminasi, sehingga mengakibatkan infeksi parasit larva pada jaringan (*sistiserkosis* manusia) (WHO, 2022).

Saat ini diagnosis standar terhadap *taeniasis* didasarkan pada deteksi telur dengan pengamatan mikroskopis pada sampel feses (Samorek-Pieróg *et.al*, 2018). Dalam proses diagnosis mikroskopis metode yang diterapkan adalah metode morfologi, yaitu dengan mengamati adanya telur dan *proglotid* pada feses penderita. Metode ini memiliki kekurangan dimana kepekaan mikroskopis tidak dapat membedakan morfologi telur atau *proglotid* dari spesies *Taenia* sehingga identifikasi menjadi tidak spesifik. Maka dikembangkan beberapa metode baru dengan tingkat sensitifitas dan spesifisitas yang lebih baik antara lain metode molekuler. Pengembangan teknik berbasis molekuler yang cepat dan sensitif untuk deteksi adanya infeksi *Taneia asiatica* sangat diperlukan, sehingga nantinya dapat membantu diagnosis terhadap penyakit *Taeniasis* serta membantu dalam pengobatan (Symeonidou, I *et.al*, 2018).

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah suatu teknik atau metode amplifikasi (replikasi) DNA secara enzimatis tanpa melibatkan organisme hidup. Dengan teknik ini, DNA dapat diperbanyak dalam jumlah besar dalam waktu yang relatif singkat, memudahkan penggunaan berbagai teknik lain yang memerlukan DNA (Iskandar,A.S dkk. 2023). Dalam deteksi ini gen yang dapat digunakan yaitu Gen NADH *dehydrogenase subunit* 3 (ND3) merupakan salah satu gen yang dimiliki oleh parasit *Taenia asiatica* dengan kode gene ID: 807590. Gen ND3 merupakan gen dengan tipe protein coding. Gen ND3 ini memiliki persentase indentifikasi 100% terhadap mitochondrial dari parasit *Taenia asiatic*a (NCBI, 2022). Kelebihan utama dari PCR adalah tingkat sensitivitasnya yang jauh lebih tinggi daripada mikroskop cahaya, sehingga sangat berguna untuk mendeteksi jumlah parasit yang sangat kecil dalam sampel tinja. Untuk meningkatkan sensitivitas dan spesifikasinya, gen yang digunakan harus mampu membedakan satu spesies dari yang lain dengan tepat (Iskandar,A.S dkk. 2023).

Tujuan dari penelitian yaitu untuk mengidentifikasi karakteristik responden berdasarkan identitas jenis kelamin, frekuensi konsumsi lawar plek, tingkat kematangan daging babi yang dikonsumsi oleh responden, *personal hygiene,* tingkat pengetahuan responden, tingkat pendidikan terakhir responden, frekuensi konsumsi obat cacing terakhir, dan jenis obat cacing yang dikonsumsi; Mendesain primer gen ND3 spesifik terhadap parasit *Taenia asiatica* secara *in silico.*; Untuk mengidentifikasi *proglotid* dan telur *Taenia sp* secara mikroskopis pada sampel feses; Untuk menganalisis gen target ND3 terhadap parasit *Taenia asiatica* pada sampel feses secara molekuler dengan menggunakan metode PCR.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif. Penelitian ini digunakan untuk menggambarkan pemeriksaan *Taenia asiatica* dengan menggunakan PCR. Sampel penelitian adalah feses pasien yang mengkonsumsi lawar plek yang mengalami *taeniasis* di wilayah Puskesmas Sukawati I selama periode 2021-2024. Pengumpulan sampel dilaksanakan di Puskesmas Sukawati I, Kabupaten Gianyar, dan pemeriksaan sampel dilaksanakan di laboratorium terpadu bagian laboratorium biologi sel dan molekuler Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Denpasar. Teknik pengambilan sampel yang diterapkan adalah menggunakan cara metode *non-probabiity sampling,* dengan teknik *sampling* jenuh. Total sampel pada penelitian ini yaitu 15 sampel.

Pada tahap pengumpulan sampel, responden melakukan pengambilan sampel feses yang diletakan pada wadah yang sudah diberikan identitas responden dan diberi pengawet *Potasium dikromat* 2,5% (Bekti,H.S, dkk, 2021). Dilanjutkan dengan persiapan sampel, sampel feses dicentrifuge selama 10 menit dengan kecepatan 14.000 rpm untuk memisahkan pengawet dan feses. Kemudian tambahkan aquadest dengan perbandingan 1:1, lakukan centrifugasi kembali dan buang supernatan; Lakukan langkah tersebut sebanyak 3 kali; Sampel siap untuk digunakan (Habibah, N. Dkk. 2021).

Desain primer dengan analisis *in silico* diawali dengan pencarian full genome parasit *Taenia asiatica* dari *genbank* pada website NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/). FASTA dari *full genome* yang didapat kemudian

disejajarkan dengan FASTA full genome parasit lain yang memiliki kemiripan tinggi dengan *Taenia asiatica*. Desain primer dibuat dengan sekuen yang memiliki perbedaan. Primer didesain dan dianalisis menggunakan program Primer-BLAST. Spesifisitas primer diperiksa secara in silico menggunakan BLAST di laman NCBI. Pengecekan spesifisitas dilakukan dengan mengunjungi(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/), menyalin primer ke kolom 'use my own forward/reverse primer', dan mengklik 'Get primer'. Setelah mendapatkan sekuens yang diinginkan kemudian dilakukan analisis pada website Benchling (https://www.benchling.com/) pada perangkat lunak ini berfungsi untuk merancang primer (Melati,R.P, dkk, 2022).

Kemudian dilakukan Ekstraksi Sampel : Ditimbang sebanyak 180 - 220 mg feses dan dimasukan kedalam tabung mikrosentrifus 2 ml; Ditambahkan 1 ml inhibitex buffer ke dalam sampel feses; Divorteks selama 1 menit, sampai sampel homogen; Disentrifus selama 1 menit kecepatan 20.000 g/ 14.000 rpm; Disiapkan tabung mikrosentrifus 2 ml yang baru dan ditambahkan 25µL proteinase K; Ditambahan 600µL dari langkah no. 4, kedalam tabung mikrosentrifus 2 ml yang telah terdapat proteinase K; Ditambahkan 600µL buffer AL; Divorteks selama 15 detik; Dilakukan inkubasi pada suhu 70℃, selama 10 menit; Ditambahkan 600µL etanol 96-100 %; Divorteks selama 15 detik; Dipindahkan 600µL, ketabung spin colomn; Disentrifus selama 1 menit kecepatan 20.000 g/ 14.000 rpm; Dibuang cairan/filtrat pada tabung; Diulangi sampai lisatnya habis; Dipastikan pada tabung spin colomn, pada tahap terakhir tidak ada cairan (jika ada, maka dilakukan sentrigase ulang); Dipindahkan top dari tabung spin colomn, kedalam collecting tube yang baru; Ditambahkan 500µL buffer AW1; Disentrifus selama 1 menit kecepatan 20.000 g/ 14.000 rpm ; Dibuang cairan/filtrate pada collecting tube; Ditambahkan 500µL buffer AW2; Disentrifus selama 3 menit kecepatan 20.000 g/ 14.000 rpm; Dibuang cairan/filtrate pada collecting tube; Disentrifus selama 3 menit kecepatan 20.000 g/ 14.000 rpm; Dipindahkan top dari tabung spin colomn, kedalam tabung mikrosentrifus 2 ml yang baru; Ditambahkan 100µL buffer ATE (yang telah diinkubasi 70^{O}C selama 3menit); Diinkubasi selama 1 menit, pada suhu kamar; Disentrifus selama 1 menit kecepatan 20.000 g/ 14.000 rpm; Disimpan supernatant/filtrate yang terdapat pada tabung mikrosentrifus 2 ml (Qiagen, 2010).

Menurut Qiagen, 2010 langkah mix PCR yaitu sebagai berikut : Langkah awal sebelum dilakukan mix PCR yaitu menyiapkan alat dan bahan; kemudian campurkan semua reagen dengan menggunakan ketentuan pada Tabel 1.

Tabel 1. Mix PCR

Reagen	*Quantity* (µl)	Total Konsentrasi
Taq PCR *Master mix*	12.5	-
Primer *forward*	0.5	0,4 µM
Primer *reverse*	0.5	0.4 µM
RNase-free	9.5	-
Template DNA	2.0	≤1 µg/reaction
Total Volume	25	-

Lakukan *homogenisasi* reagen, dan centrifuge beberapa detik agar larutan yang menempel pada tutup dan dinding eppendorf turun ke bawah. Masukan ke dalam alat PCR untuk dilakukan tahap amplifikasi. Memasukan sampel ke dalam alat PCR; Pada alat kemudian tekan login, lalu tekan taeniasis, kemudian tekan program overview; Tekan three step, kemudian tekan open template; Atur suhu 95^{o}C selama; 3 menit untuk pre denaturasi; Atur suhu 95^{o}C selama 30 detik untuk denaturasi; Atur suhu 60^{o}C selama 30 detik untuk annealing; Pilih 39 cycles; Atur suhu 72^{o}C selama 1 menit untuk extension; Atur suhu 72^{o}C selama 5 menit untuk final extension; Atur suhu 4^{o}C selama waktu tak terhingga untuk elemetion; Kemudian tunggu sampel running.

Pembuatan gel agarose : Tentukan konsentrasi atau persentase agarose yang dibutuhkan, dan hal ini tergantung dari ukuran fragmen DNA yang dianalisis. Konsentrasi gel yang digunakan yaitu 2% dalam volume 200 ml 1 x buffer TAE, maka jumlah agarose yang akan ditimbang yaitu 4 gram; Masukan 4 gram agarose ke dalam erlenmeyer dan tambahkan larutan 1 x buffer TAE sampai volume 200 ml, homogenkan sampai rata; Panaskan diatas hotplate sampai larutan menjadi jernih; Dinginkan agarose kira-kira sampai 60°C dan tambahkan 5ul ethidium bromide dan homogenkan hingga merata; Setelah itu larutan dituang ke dalam tray dan pasang *well-forming combs,* tunggu 30 menit atau sampai gel mengeras. Lepas *well-forming combs* secara perlahan-lahan dan gel agarose siap digunakan untuk elektroforesis (Irianto, 2017).

Selanjutnya proses *elektroforesis :* Letakkan tray yang berisi agarose di dalam tank elektroforesis dan tuang larutan 1 x buffer TAE ke dalam tank tersebut hingga sekitar 1 mm di atas permukaan gel; Ambil sampel dengan mikropipet sebanyak kapasitas sumur (*well*) yang biasanya sekitar 4-8 µl.. Letakkan sampel di atas para film atau plastic cling wrap sebanyak 8µ dan tambahkan loading dye 2, homogenkan dengan cara *up and down* sebanyak 8 kali, kemudian ambil larutan tersebut dengan mikropipet dan masukkan ke dalam sumur (*well*) pada gel agarose dengan 15 sumur berisi sampel dan 1 sumur berisi marker sebanyak 5µ; Setelah sampel dan marker dimasukkan dalam sumur (*well*), tutup tank elektroforesis dan hubungkan arus listrik. Setelah itu proses *elektroforesis* siap dijalankan; volt yang digunakan yaitu sebesar 77 volt selama 90 menit. Setelah selesai, matikan arus listrik kemudian ambil tray dengan menggunakan sarung tangan. Letakan gel pada UV-*transiluminator* kemudian amati pita/band DNA (Irianto, 2017). Amati benaran pita DNA yang muncul pada 186 bp. Hasil pemeriksaan kemudian diolah meliputi tahap-tahap seperti *editing*, *coding*, *entry*, dan tabulasi dan dianalisis secara statistik deskriptif yang juga dikenal sebagai analisis *univariat*

Menurut Nurmala, 2021 persentase sampel dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$P = F/N \times 100\%$

Keterangan :

P : Persentase

F : Frekuensi jumlah sampel positif

N : Jumlah data/sampel

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik *(ethical approval)* Nomor: DP.04.02/F.XXXII.25/0175/2024 oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Politeknik Kesehatan Denpasar.

HASIL

1. Karakteristik subyek penelitian

a. Karakteristik responden berdasarkan identitas jenis kelamin responden dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Identitas jenis kelamin responden

No	Identitas Jenis Kelamin	Frekensi Orang (f)	Persentase (%)
1	Perempuan	4	26,7
2	Laki-laki	11	73,3
	Total	15	100

b. Karakteristik responden berdasarkan frekuensi konsumsi lawar plek dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Frekuensi konsumsi lawar plek

No	Konsumsi Lawar Plek	Frekensi Orang (f)	Persentase (%)
1	Setiap hari	0	0
2	3 kali dalam 1 minggu	12	80
3	>3 kali dalam 1 minggu	3	20
	Total	15	100

c. Karakteristik responden berdasarkan tingkat kematangan daging babi yang dikonsumsi responden dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Tingkat kematangan daging babi

No	Tingkat Kematangan Daging Babi	Frekensi Orang (f)	Persentase (%)
1	Mentah	0	0
2	Setengah matang	8	53,3
3	Matang sempurna	7	47,6
	Total	15	100

d. Karakteristik responden berdasarkan *personal hygiene* dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. *Personal Hygiene* Responden

No	*Personal Hygine*	Frekensi Orang (f)	Persentase (%)
1	Baik	15	100
2	Cukup	0	0
3	Kurang	0	0
	Total	15	100

e. Karakteristik responden berdasarkan tingkat pengetahuan dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Tingkat Pengetahuan Responden

No	Tingkat Pengetahuan	Frekensi Orang (f)	Persentase (%)
1	Baik	10	66,7
2	Cukup	3	20
3	Kurang	2	13,3
	Total	15	100

f. Karakteristik responden berdasarkan tingkat pendidikan terakhir dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Tingkat Pendidikan Responden

No	Tingkat Pendidikan	Frekensi Orang (f)	Persentase (%)
1	SD/Sederajat	4	26,7
2	SLTP/Sederajat	6	40
3	SLTA/Sederajat	4	26,7
4	Diploma/Strata I	1	6,6
	Total	15	100

g. Karakteristik responden berdasarkan konsumsi obat cacing terakhir dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Konsumsi Obat Cacing Terakhir

No	Konsumsi Obat Cacing Terakhir	Frekensi Orang (f)	Persentase (%)
1	2 Tahun terakhir	9	60
2	6 Bulan terakhir	3	20
3	1 Bulan terakhir	3	20
	Total	15	100

h. Karakteristik responden berdasarkan jenis konsumsi obat cacing dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Jenis Obat Cacing

No	Jenis Obat	Frekensi Orang (f)	Persentase (%)
1	Niklosamid	0	0
2	Prazikuantel	15	100
	Total	15	100

2. Desain primer gen nd3 spesifik terhadap parasit *Taenia asiatica* secara *in silico*

Berdasarkan hasil spesifisitas gen ND3 menggunakan blast pada situs *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), didapatkan gen ND3 spesifik terhadap mitochondrial parasit *Taenia asiatica* dengan persentase identifikasi 100%. Hasil blast dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Hasil Blast Gen ND3

No	***Description***	***Scientific Name***	***Per. Ident***
1	Taenia asiatica mitocondrial DNA, Complete Genome	Taenia asiatica	100.00%
2	Taenia siatica mitocondrial DNA, Complete Genome	Taenia asiatica	100.00%
3	Taenia asiatica mitocondrial DNA, Complete Genome	Taenia asiatica	99.71%
4	Taenia saginata mitochondrion, complete genome	Taenia saginata	94.77%
5	Taenia saginata mitochondrion, complete genome	Taenia saginata	94.77%
6	Taenia madoquae mitochondrial DNA, complete genome, isolate: Tma120	Taenia madoquae	87.90%

Sequence dianalisis pada laman Benchling untuk merancang primer dan didapatkan hasil primer *forward* :Guanin; Adenin; Guanin; Guanin; Timin; Timin; Guanin; Citosin; Guanin; Aadenin; Timin; Citosin; Guanin; Timin; Citosin; Timin; Guanin; Timin; Adenin; Guanin; Timin (GAGGTTGCGATCGTCTGTAGT) sedangkan primer *reverse* :Citosin; Guanin; Citosin; Adenin; Timin; Adenin; Guanin; Citosin; Citosin; Timin; Citosin; Timin; Adenin; Adenin; Citosin; Adenin; Guanin; Citosin; Citosin; Adenin (CGCATAGCCTCTAACAGCCA) dengan ukuran produk 186 bp. Primer

tersebut dianalisis kesesuaian dengan syarat-syarat primer yang baik, analisis tersebut dapat dilihat pada tabel 11.

Tabel 11. Analisis Primer

No	Analisis Syarat Primer	Syarat	Primer *Forward*	Primer *Reverse*
1	Komplemen	Komplmen dengan gen target	Primer forward komplemen dengan gen target ND3 pada parasit *Taenia asiatica.*	Primer reverse komplemen dengan gen target ND3 pada parasit *Taenia asiatica.*
2	Panjang primer	18- 22 bp	21 bp	20 bp
3	Nilai Tm	52-58 ˚C	56.2 ˚C	56.3 ˚C
4	Nilai Ta Rumus : Ta = Tm –5	50 - 65 ˚C	51.2 ˚C	51.3 ˚C
5	GC content	40 - 60%	52.4 %	55.0 %
6	GC clamp	≤3 G's or C's	3	3
7	Repeats nucleutida	≤4	2	2

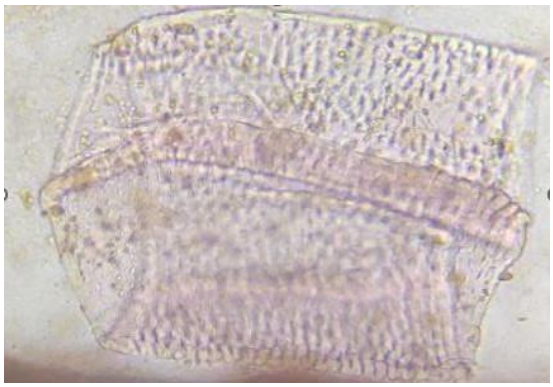
3. Data Hasil Pemeriksaan Mikroskopis Feses Dan Pemeriksaan Molekuler

a. Hasil pemeriksaan mikroskopis feses dapat dilihat pada tabel 12.

Tabel 12. Hasil pemeriksaan mikroskopis feses

No	Pemeriksaan Mikroskopis Feses	Frekuensi Sampel (f)	Presentase (%)
1	Negatif (-)	0	0
2	Positif (+)	15	100
	Total	15	100

b. Hasil pemeriksaan mikroskopis feses ditemukan *proglotid* yang dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. *Proglotid Taenia sp.*

c. Hasil pemeriksaan molekuler dapat dilihat pada tabel 13.

Tabel 13. Hasil Pemeriksaan Molekuler

No	Pemeriksaan Molekuler (PCR)	Frekuensi Sampel (f)	Presentase (%)
1	Negatif (-)	15	100
2	Positif (+)	0	0
	Total	15	100

d. Hasil pemeriksaan molekuler dapat dilihat pada gambar 2.

Gambar 2. Hasil Pemeriksaan Molekuler

DISKUSI

1. Karakteristik subyek penelitian

a. Karakteristik responden berdasarkan identitas jenis kelamin. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan pada karakteristik respoden bedasarkan identitas jenis kelamin diperoleh jumlah laki laki sebanyak 11 responden (73,3%) dan perempuan sebanyak 4 responden (26,7%).

b. Karakteristik responden berdasarkan frekuensi konsumsi lawar plek. Berdasarkan hasil penelitian, frekuensi konsumsi lawar plek diperoleh jumlah yang paling banyak yaitu responden mengkonsumsi lawar plek sebanyak 3 kali dalam 1 minggu sebanyak 12 responden (80%). Responden yang mengkonsumsi lawar plek >3 kali dalam 1 minggu sebanyak 3 responden (20%) dan responden yang mengkonsumsi lawar plek setiap hari diperoleh 0 responden (0%). Hal tersebut menunjukan frekuensi konsumsi lawar plek ini merupakan kebiasaan yang paling umum di antara responden. Frekuensi konsumsi lawar plek yang tinggi berisiko menyebabkan *Taeniasis* (Gutama.dkk, 2021). Selain itu kebiasaan konsumsi lawar plek dengan daging babi setengah matang atau mentah merupakan fator resiko utama terinfeksi *Taenia sp* (Sari, 2022).
c. Karakteristik responden berdasarkan tingkat kematangan daging babi yang dikonsumsi responden. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan frekuensi tingkat kematangan daging babi yang dikonsumsi oleh responden yaitu mayoritas responden mengkonsumsi daging babi dengan tingkat kematagan daging babi setengah matang sebanyak 8 responden (53,3%), responden yang mengkonsumsi daging babi dengan tingkat kematangan matang sempurna sebanyak 7 responden (7%) dan responden yang mengkonsumsi daging babi mentah sebanyak 0 responden (0%). Hal tersebut merupakan salah satu faktor masyarakat terinfeksi parasit *Taenia sp,*karena daging yang dikonsumsi tidak dimasak dengan matang sempurna.atau makanan yang terkontaminasi oleh telur *Taenia sp*. Selain itu kebiasaan mengonsumsi daging atau usus hewan mentah atau setengah matang menyebabkan terinfeksi cacing *Taenia sp* (Sari, 2022), (Ouma, et.al 2021).
d. Karakteristik responden berdasarkan *personal hygiene*. Berdasarkan hasil penelitian, frekuensi *personal hygiene* dari responden hasil diperoleh semua responden mendapatkan hasil baik sebanyak 15 responden (100%); Responden yang mendapatkan hasil cukup sebanyak 0 responden (0%); Responden yang mendapatkan hasil kurang sebanyak 0 responden (0%). Dengan jumlah responden yang mendapatkan nilai 80 sebanyak 3 responden; nilai 90 sebanyak 9 responden: nilai 100 sebanyak 3 responden. Faktor risiko utama penularannya melalui konsumsi daging yang tidak dismasak dengan matang sempurna dan yang terkontaminasi telur cacing pita. Meskipun kebersihan diri yang baik dapat

membantu mencegah infeksi, tetapi jika seseorang mengonsumsi daging yang tidak dimasak dengan baik atau terkontaminasi, mereka masih dapat terinfeksi. Jadi, penting untuk memastikan daging dimasak hingga matang dan menjaga kebersihan makanan secara umum untuk mencegah infeksi taeniasis (CDC, 2013).

e. Karakteristik responden berdasarkan tingkat pengetahuan. Berdasarkan hasil penelitian, tingkat pengetahuan dari responden dengan hasil baik sebanyak 10 responden (66,7%); Hasil cukup sebanyak 3 responden (20%); Hasil kurang sebanyak 2 responden (13,3%). Dengan jumlah responden yang mendapatkan nilai 40 sebanyak 2 responden; nilai 60 sebanyak 3 responden: nilai 80 sebanyak 9 responden; nilai 100 sebanyak 1 responden. Tingkat pengetahuan dipengaruhi oleh kurangya sosialisasi dari pihak terkait tentang oleh tingkat pendidikan individu. Individu yang memiliki tingkat pendidikan yang lebih tinggi cenderung memiliki pengetahuan yang lebih luas karena kemampuan mereka dalam menyerap informasi secara efektif. Selain itu faktor-faktor tersebut mencakup pendidikan, pengalaman pribadi, tradisi, dan budaya (Sylvia Amanda, N. K. 2023). Sejalan dengan tingkat pendidikan akhir dari responden yaitu tingkat pendidikan tamat SD/Sederajat sebanyak 4 responden: Tamat SLTP/Sederajat 6 responden; Tamat SLTA/Sederajat sebanyak 4 responden; Tamat Diploma/Strata I sebanyak 1 responden.
f. Karakteristik responden berdasarkan tingkat pendidikan terakhir. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan tingkat pendidikan terakhir responden SD/Sederajat sebanyak 4 responden (26,7%); Tingkat pendidikan terakhir responden SLTP/Sederajat sebanyak 6 responden (40%); Tingkat pendidikan terakhir responden SLTA/Sederajat sebanyak 4 responden (26,7%); tingkat pendidikan terakhir responden Diploma/Strata I sebanyak 1 responden (6,6%).
g. Karakteristik responden berdasarkan konsumsi obat cacing terakhir. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan frekuensi konsumsi obat cacing terakhir responden mengkonsumsi obat cacing 2 tahun terakhir dengan 9 responden (60%); Responden yang mengkonsumsi obat cacing 6 bulan terakhir dengan 3 responden (20%); Responden yang mengkonsumsi obat cacing 6 bulan terakhir dengan 3 responden (20%). Konsumsi obat secara rutin dan teratur sangat penting untuk mengeluarkan cacing parasit, termasuk cacing pita.

Pengendalian cacing pita sangat bergantung pada konsistensi dalam pemberian obat cacing (Puskesmas Meninting, 2024).

h. Karakteristik responden berdasarkan jenis konsumsi obat cacing. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan frekuensi jenis obat cacing yang diminum, semua responden mengkonsumsi jenis obat praziquantel (100%) dan jenis obat niklosamida sebanyak 0 responden (0%). Jenis obat praziquantel merupakan pengobatan utama untuk sebagian besar cacing pita dalam saluran pencernaan, sementara niklosamida menjadi pilihan kedua jika diperlukan. Praziquantel maupun niklosamida adalah obat oral yang umumnya dapat ditoleransi dengan baik dan memiliki efek langsung dalam membunuh parasit cacing. Namun niklosamida tidak tersedia untuk dijual secara komersial (Lloyd., dkk, 2014). Praziquantel dapat membunuh dan menghancurkan cacing pita dewasa yang berada di saluran pencernaan (usus), serta membunuh sistiserkus yang berada di jaringan otot hospes (babi) (Ratna sari, 2022).

2. Desain primer gen nd3 spesifik terhadap parasit *taenia asiatica* secar *In silico*

Dalam desain primer ini gen target yang dipilih yaitu ND3 yang memiliki kode *genebank* 807590 yang spesifik terhadap *Taenia asiatica*. Pada desain primer secara *in silico* ini diawali dengan mencari gen target yang diinginkan dengan mencari kode *genebank* pada laman *website bioinformtika national center of biotechnology information* (NCBI). Analisis spesifitas *sequence* harus diperhatikan agar primer mampu mengenali dan berikatan dengan tepat pada gen target yang diinginkan. Untuk menganalisanya dapat menggunakan BLAST dari NCBI. Dengan menggunakan perangkat lunak ini, sekuens primer yang diusulkan akan dibandingkan dengan *database* sekuens dari berbagai organisme yang tersedia di NCBI. Dari hasi blast yang dilakukan diperoleh hasil sekuens gen spesifik dengan mitochondrial parasit *Taenia asiatica* dengan persentase identifiksi (100%).

Kesesuaian antara primer dan gen dari organisme tertentu akan tercermin dalam persentase identitas. Semakin tinggi nilai persentase ini, semakin spesifik primer terhadap gen yang dituju. Apabila terdapat sekuens yang memiliki spesifisitas tinggi untuk mengenali gen selain ND3, maka primer tidak dapat digunakan (Saraswati, dkk. 2019).

3. Data Hasil Pemeriksaan Mikroskopis Feses Dan Pemeriksaan Molekuler

Penelitian ini memiliki tujuan yaitu untuk mengidentifikasi keberadaan telur cacing atau *proglotid* dari parasit spesies *Taenia* pada sampel feses responden yang mengalami gejala *taeniasis* di Puskesmas Sukawati I periode tahun 2021-2024. Peneliti mengambil sampel ke masing-masing rumah responden. Setelah mengisi data *informed consect* dan kuisoner peneliti menjelaskan tata cara pengambilan sampel. Sampel dilakukan pemeriksaan di laboratorium terpadu Poltekkes Kemenkes Denpasar Jurusan Teknologi Laboratorium Medis dengan menggunakan metode secara langsung atau *direct test*. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dari sampel 15 responden didapatkan hasil positif sebanyak 15 sampel (100 %). Sampel tersebut ditemukan *proglotid Taenia sp*. Yang memiliki ciri-ciri yaitu ukuran sekitar 16-20 x 5-7 mm. Setiap sisi *proglotid* ini memiliki cabang uterus sebanyak 15-30 (Widodo, 2013).

Hasil tersebut sejalan dengan frekuensi konsumsi lawar plek atau daging babi mentah yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat kecamatan Sukawati dan laporan kasus *taeniasis* yang terjadi di puskesmas Sukawati 1. Penularan parasit *Taenia sp* melalui konsumsi daging babi yang terdapat pada makanan lawar plek yang mentah atau makanan yang terkontaminasi oleh telur *Taenia sp*. Mengubah perilaku konsumsi makanan lokal seperti Lawar. Lawar biasanya dikonsumsi di daerah endemik di Bali, terutama di Kabupaten Gianyar (Candra, dkk. 2020).

Penelitian ini memiliki tujuan untuk mengidentifikasi gen ND3 yang dimiliki oleh parasit *Taenia asiatica* pada sampel feses responden yang mengalami *taeniasis*. Setelah dilakukan PCR hasil tersebut dibaca dengan elektroforesis dahulu dan dibaca dengan menggunakan alat gel doc. Dari hasil tersebut menujukkan bahwa masyarakat rutin dalam mengkonsumsi obat cacing dan dapat mempercepat dalam proses penyembuhan.

Dari hasil penelitian yang sudah dilakukan pada pemeriksaan mikroskopis diperoleh hasil semua sampel responden ditemukan telur dan *proglotid* dari parasit *Taenia sp* sedangkan pada pemeriksaan molekuler didapatkan hasil semua sampel responden negatif (100%) artinya tidak ditemukan gen ND3 pada 186 bp pada sampel feses responden tersebut. Hasil negatif diperoleh karena desain primer secara *in silico* diperoleh gen ND3 spesifik 100% terhadap mitochondrial *Taenia asiatica* dan pada pemeriksaan feses ditemukan telur/*proglotid* dari *Taenia*

sp dalam jumlah yang sedikit sehingga primer tersebut tidak spesifik terhadap telur atau *proglotid* dari *Taenia sp*.

Kelemahan pada penelitian ini yaitu tidak diketahui konsentrasi dari kemurnian DNA yang didapat setelah dilakukan ekstraksi. Syarat mendasar dalam studi molekuler adalah kuantitas (konsentrasi) dan kualitas (kemurnian) DNA yang diperoleh dari ekstraksi. Kedua faktor ini juga memengaruhi hasil amplifikasi DNA melalui PCR (Priyastomo,Dity A,2023). Untuk memberikan hasil yang optimal jumlah template DNA memiliki jumlah yang sesuai dengan prosedur yang dianjurkan yaitu : DNA genom manusia optimal pada 1 ng-200 ng; cDNA optimal pada 10 ng-100 ng; DNA bakteri optimal pada 10 pg-10 ng; PCR fragment (1 kb DNA) optimal pada 10 fg-1 ng; Plasmid DNA optimal pada 0.1 ng-50 ng (Qiagen, 2010).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa mayoritas responden adalah laki-laki (73,3%) dan umumnya mengkonsumsi lawar plek sebanyak 3 kali dalam seminggu (80%), serta daging babi setengah matang (53,3%). Semua responden memiliki personal hygiene yang baik (100%) dan tingkat pengetahuan yang baik (66,7%). Sebagian besar responden mengkonsumsi obat cacing dalam 2 tahun terakhir (60%), dengan semua responden menggunakan obat prazikuantel (100%). Analisis in silico menunjukkan gen ND3 spesifik terhadap mitochondrial *Taenia asiatica* dengan identifikasi 100%. Mikroskopis feses menunjukkan semua sampel positif mengandung *proglotid* atau telur *Taenia sp,* namun pemeriksaan molekuler untuk gen ND3 menunjukkan semua sampel negatif tidak menghasilkan pita DNA pada 186 bp.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan Terimakasih kepada bapak/ibu dosen pembimbing yang selalu memberikan saran terhadap penelitian ini, bapak/ibu pranata laboratorium pendidikan laboratorium bakteriologi dan laboratorium biologi molekuler yang membatu memfasilitasi untuk pemeriksaan serta semua pihak yang mendukug penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

REFERENSI

Bekti, H. S., Habibah, N., Rinawati, L. P., Yasa, N. P. C. D. P., Rindi, O. D. G., Dewi, N. K. A. K.,& Rakhmawati, A. (2021). Identifikasi Taenia solium secara Mikroskopis pada Peternakan Babi. *Jurnal Kesehatan*, *12*(1), 74-82.

Candra Dewi Pradnya Yasa, N. P., Mastra, N., Nyoman, I., & Jirna, S. K. M. (2020). *Gambaran Kecacingan Taeniasis pada Penduduk di Wilayah Kerja UPT Kesmas Sukawati I* (Doctoral dissertation, Poltekkes Kemenkes Denpasar).

CDC. Prevention and Control, Center For Disease Control and Prevention. [Internet] 2013 [cited 2024 Januari 10]. Available at :https://www.cdc.gov/parasites/taeniasis/prevent.html.

Gutama, L. G. M., Salim, A., Jaya, N. M., Suyasa, I. K., Devinta, M. R. S., & Wahyuniari, I. A. I. (2021). Program Lawar Merah Bebas Cacingan Bagi Masyarakat Desa Adat.

Habibah, N., Bekti, H. S., Dewi, N. W. R. K., Rinawati, L. P., Burhannuddin, B., & Rakhmawati, A. (2021). Primers application with the Tso31 gene target in the molecular identification of Taenia solium. *Muhammadiyah Medical Journal*, *2*(1), 35-40.

Irianto, K. Biologi Molekuler *(Molecular Biology)* Teori-Praktikum-Glosarium, Kesatu. 2017: Bandung: Alfabeta, CV.

Iskandar, A. S., Safitri, D., Lidya, B., & Setyaningrum, S. (2023). Penentuan Sensitivitas dan Spesifisitas Kit PRIME-CYTO untuk Deteksi Kandungan Babi dengan Metode Polymerase Chain Reaction. *Halal Research Journal*, *3*(1), 47-64.

Lloyd, A. E., Honey, B. L., John, B. M., & Condren, M. (2014). Treatment options and considerations for intestinal helminthic infections. *Journal of Pharmacy Technology*, *30*(4), 130-139.

Melati, R. P., Nurjanah, S., & Rahayu, W. P. (2022). Desain Primer Gen Virulensi invA untuk Identifikasi dan Sekuensing Salmonella pada Sampel Karkas Ayam. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*, *10*(2), 91-97.Qiagen. Kit Ekstrasi DNA. Sample and Assay Technologies. 2020.

NCBI. Gen ND3, [Internet] 2022 [cited 2024 Januari 10]. Available at: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/807590

Nurmala, I. (2021). *Analisis Kepuasan Penumpang Terhadap Rekonstruksi Terminal Check-In Counter Di Bandar Udara Internasional Radin Inten Ii Lampung* (Doctoral dissertation, STTKD Sekolah Tinggi Teknologi Kerdigantaraan Yogyakarta).

Ouma, E., Dione, M., Mtimet, N., Lule, P., Colston, A., Adediran, S., & Grace, D. (2021). Demand for Taenia solium cysticercosis vaccine: lessons and insights from the pig production and trading nodes of the uganda pig value chain. *Frontiers in veterinary science*, *8*, 611166.

Priyastomo,Dity A, Nena H, Estria Furry P, Romi Zamhir i.(2023). Analisis Konsentrasi serta Kemurnian DNA Hasil Ekstraksi Rumput Raja (Pennisetum purpuroides) dan Rumput Gajah (Pennisetum purpureum) Menggunakan

Metode CTAB dan DNAzol. Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran, Balai besar Padi Sukamandi Subang; Pastura vol 12. No 2 : 82-92.

Qiagen. Taq PCR Handbook. Sample and Assay Technologies. 2010.

Samorek-Pieróg, M., Karamon, J., & Cencek, T. (2018). Identification and control of sources of infection–the attempts to eradicate the parasite. *Journal of veterinary research*, *62*(1), 27-34.

Saraswati, H., Seprianto, S., & Wahyuni, F. D. (2019). Desain primer secara in silico untuk amplifikasi gen cryiii dari Bacillus thuringiensis Isolat Lokal. *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*, *3*(1), 33-38.

Sari, I. Z. R. (2022). Gambaran Sistiserkosis dan Taeniasis. *Cermin Dunia Kedokteran*, *49*(3), 134-137.

Sylvia Amanda, N. K. (2023). Gambaran Telur Cacing Taenia Sp. Pada Peternak Babi Di Desa Bongan Kabupaten Tabanan (Doctoral Dissertation, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Wira Medika Bali).

Symeonidou, I., Arsenopoulos, K., Tzilves, D., Soba, B., Gabriël, S., & Papadopoulos, E. (2018). Human taeniasis/cysticercosis: a potentially emerging parasitic disease in Europe. *Annals of gastroenterology*, *31*(4), 406.

UPT Puskesmas Meninting. Sistem Informasi Pentingnya Minum Obat Cacing Bagi Anak. [Internet] 2024 [cited 2024 April 17]. Available at: https://puskesmasmeninting-dikes.lombokbaratkab.go.id/artikel/pentingnya-minum-obat-cacing-bagi-anak/.

WHO. Taeniasis/Sistiserkosis [Internet] 2022 [cited 2023 November 10]. Available at: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/taeniasis-cysticercosis

Widodo, H. Parasitologi Kedokteran. 2013: Yogyakarta: Kaktus (iPusnas).