



UNIVERSITAS PERTAHANAN RI

DESAIN PRIMER SECARA *IN SILICO* UNTUK IDENTIFIKASI
PARASIT PENYEBAB MALARIA *Plasmodium* sp. DENGAN
ISOTHERMAL PCR DAN PCR KONVENSIONAL DALAM
RANGKA MENDUKUNG KESEHATAN PERTAHANAN
TAHUN 2023

HAZEL FAIRUZ SHIDQI 320200101035

Skripsi yang Ditulis untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan dalam
Mendapatkan Gelar Sarjana

FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
PROGRAM STUDI SARJANA KEDOKTERAN

BOGOR, 2024



UNIVERSITAS PERTAHANAN RI

**DESAIN PRIMER SECARA *IN SILICO* UNTUK IDENTIFIKASI
PARASIT PENYEBAB MALARIA *Plasmodium* sp. DENGAN
ISOTHERMAL PCR DAN PCR KONVENSIONAL DALAM
RANGKA MENDUKUNG KESEHATAN PERTAHANAN
TAHUN 2023**

HAZEL FAIRUZ SHIDQI 320200101035

Skripsi yang Ditulis untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan dalam
Mendapatkan Gelar Sarjana

**FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
PROGRAM STUDI SARJANA KEDOKTERAN**

BOGOR, 2024



LEMBAR PERSETUJUAN SKRIPSI

Nama : Hazel Fairuz Shidqi
NIM : 320200101035
Program Studi : Sarjana Kedokteran
Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Judul Skripsi : Desain Primer secara In Silico untuk Identifikasi Parasit Penyebab Malaria *Plasmodium sp.* dengan Isothermal PCR dan PCR Konvensional dalam Rangka Mendukung Kesehatan Pertahanan

Pembimbing I,

dr. Alfa Januar Krista, Sp. OT.,
M. Kes.

Tanggal : 15 / 01 / 2024

Pembimbing II,

dr. Venty Muliana Sari S., M.Si.,Med.,
CIQaR

Tanggal : 17 / 01 / 2024

Mengetahui,

Kepala Program Studi Sarjana Kedokteran
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

dr. Lila Irawati Tjahjo Widuri, M.Kes., Sp.
An-Tl., KIC

Kolonel Laut (K/W) NRP 12434/P

Tanggal : 18 / 01 / 2024

Dekan Fakultas Kedokteran
dan Ilmu Kesehatan

Dr. dr. Prihati Pujowaskito Sp.JP(K).,
FIHA., M.M.R.S.

Mayor Jenderal TNI

Tanggal : 18 / 01 / 2024

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Nama : Hazel Fairuz Shidqi
NIM : 320200101035
Program Studi : Kedokteran
Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Judul Skripsi : Desain Primer secara In Silico untuk Identifikasi Parasit Penyebab Malaria *Plasmodium Sp.* dengan Isothermal PCR dan PCR Konvensional dalam Rangka Mendukung Kesehatan Pertahanan

No.	Nama	Tanda Tangan	Tanggal
1.	Pembimbing I: dr. Alfa Januar Krista, Sp. OT., M. Kes.		16/01/24
2.	Pembimbing II: dr. Venty Muliana Sari S., M.Si.,Med., CIQaR		18/01/2024
3.	Penguji I: Ismalia Husna, S.Si., M.Biomed		16/01 - 2024



KEMENTERIAN PERTAHANAN REPUBLIK INDONESIA
Universitas Pertahanan Republik Indonesia
Kawasan IPSC Sentul, Sukahati, Kec. Citeureup, Bogor,
Jawa Barat 16810 Telp.(021) 87951555

**LEMBAR PERSETUJUAN PERBAIKAN (REVISI)
SEMINAR HASIL DAN SIDANG SKRIPSI**

Nama : Hazel Fairuz Shidqi
NIM : 320200101035
Judul Skripsi : Desain Primer secara In Silico untuk Identifikasi Parasit Penyebab Malaria *Plasmodium sp.* dengan Isothermal PCR dan PCR Konvensional dalam Rangka Mendukung Kesehatan Pertahanan

Telah direvisi, disetujui oleh Tim Penguji/ Tim pembimbing

No	Nama Penguji / Pembimbing	Tanda Tangan
1	Pembimbing I : dr. Alfa Januar Krista, Sp.OT.,M.Kes	
2	Pembimbing II : dr. Venty Muliana Sari S.,M.Si.,Med.,CIQaR	
3	Penguji I : Ismalia Husna, S.Si.,M.Biomed	

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya atau bagian karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjaan jenjang apapun di suatu Perguruan Tinggi; dan sepanjang sepengetahuan saya juga tidak terdapat istilah, frasa, kalimat, paragraf, subbab atau bab dari karya yang pernah ditulis atau diterbitkan; kecuali yang secara tertulis diajukan dalam naskah ini dan disebutkan dalam Daftar Referensi.

Apabila di kemudian hari terbukti bahwa terdapat plagiat dalam skripsi ini, saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan/undang-undang yang berlaku.

Bogor, 9 Januari 2024

A handwritten signature in black ink is written over a yellow 1000 Rupiah stamp. The stamp features the Garuda Pancasila emblem and the text 'METERAI TEMPEL' and '1000'. A horizontal line is drawn across the signature and the stamp.

Hazel Fairuz Shidqi

KATA PENGANTAR

Puji syukur Alhamdulillah peneliti panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, karena berkat rahmat dan karunia-Nya penulisan skripsi dengan judul: “ Desain Primer secara *In Silico* untuk Identifikasi Parasit Penyebab Malaria *Plasmodium Sp.* dengan Isothermal PCR dan PCR Konvensional dalam Rangka Mendukung Kesehatan Pertahanan ” dapat diselesaikan.

Penyusunan skripsi ini ditujukan sebagai salah satu syarat dalam memperoleh gelar Sarjana pada Program Studi Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Pertahanan RI.

Penyusunan skripsi ini dapat diselesaikan berkat bantuan dan dukungan dari berbagai pihak baik secara langsung maupun tidak langsung. Untuk itu, pada kesempatan ini Kadet Mahasiswa mengucapkan terima kasih kepada:

1. dr. Venty Muliana Sari S, M.Si.Med., CIQaR selaku dosen pembimbing yang memberikan dukungan serta motivasi kepada penulis dan dengan sabar memberikan bimbingan kepada penulis sehingga penelitian ini dapat segera diselesaikan.
2. dr. Alfa Januar Krista, Sp.OT. ,M.Kes selaku dosen pembimbing yang selalu memberikan penulis waktu dan kesempatan untuk berkonsultasi, memberikan masukan yang berharga, dan mengarahkan penulis sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan lancar hingga akhir.
3. Ismalia Husna, M.Biomed dan Dr.dr.Prihati Pujowaskito, Sp.JP(K),FIHA.,M.M.R.S Mayor Jendral TNI selaku dosen penguji 1 dan 2 seminar proposal yang telah memberikan kritik, saran, dan masukan yang begitu berharga dalam proses pengembangan dan perbaikan penelitian penulis.
4. Dr. Arief Budi Witarto, B.Eng., M.Eng. yang telah memberikan penulis judul penelitian dan memberikan masukan-masukan untuk penelitian yang penulis kerjakan. Penelitian ini adalah bagian dari riset bio-informatika di Lab Witarto.

- 
5. Seluruh dosen, laboran, dan staf Fakultas Kedokteran Militer Unhan RI yang telah memberikan ilmu, wawasan, pengetahuan, bimbingan, serta pengalaman berharga selama penulis menjalani perkuliahan, terutama staf prodi Sarjana Kedokteran dan para laboran yang telah menemani perjalanan akademik penulis sejak awal hingga akhir.
 6. Papa Bunda, kakak serta adik penulis, Athala Asyifanaya dan Habyaz Al-Bukhari Ukail yang telah menjadi motivasi terbesar bagi penulis dalam menyelesaikan penelitian ini. Terima kasih atas setiap dorongan, motivasi, doa dan dukungan yang telah kalian berikan kepada penulis hingga akhirnya penulis dapat melangkah dengan yakin menyusuri pijakan demi pijakan dalam menggapai cita-cita dan masa depan.
 7. Mahfudz Shidiq selaku partner bertukar pikiran serta pengalaman yang telah berkenan meluangkan waktu, kesempatan, ilmu, dan pengalamannya dalam membimbing serta membantu penulis dalam proses pengerjaan penelitian ini.
 8. Rekan-rekan kelompok bimbingan skripsi, yang menjadi support utama dalam menyelesaikan penelitian ini, menjadi wadah diskusi dan saling bertukar pikiran, terima kasih atas kesempatan berharga yang telah kita habiskan bersama-sama sepanjang masa penulisan penelitian ini.
 9. Rekan-rekan ASPERTUM dan NARA ANKASA, terima kasih atas tahun-tahun yang penuh pengalaman berharga ini.
 10. Bagi seluruh pihak yang tidak sempat untuk disebutkan satu persatu, penulis mengucapkan banyak terima kasih atas semua dukungan, bantuan, dan doanya.

Semoga kebaikan yang diberikan oleh berbagai pihak mendapat balasan dari Tuhan Yang Maha Esa. Peneliti menyadari bahwa skripsi ini masih memiliki kekurangan, dan dengan rendah hati mengharapkan kritik serta saran yang membangun untuk meningkatkan kesempurnaannya. Terakhir, diharapkan bahwa skripsi ini dapat memberikan kontribusi positif pada pengembangan ilmu kesehatan dan memberikan manfaat bagi para

pemangku kepentingan terkait dalam upaya meningkatkan kemajuan teknik diagnosis malaria di Indonesia dalam mendukung kesehatan pertahanan

Bogor, 8 Januari 2024

Hazel Fairuz Shidqi



ABSTRAK

DESAIN PRIMER SECARA *IN SILICO* UNTUK IDENTIFIKASI PARASIT PENYEBAB MALARIA *Plasmodium sp.* DENGAN ISOTHERMAL PCR DAN PCR KONVENSIONAL DALAM RANGKA Mendukung KESEHATAN PERTAHANAN

Latar Belakang: Teknik diagnosis malaria terus berkembang dari pemeriksaan mikroskopis hingga saat ini mencapai teknik diagnosis molekular menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Penggunaan Isothermal PCR di lapangan membutuhkan primer yang mampu mengidentifikasi genus *Plasmodium sp.* sebagai metode penapisan awal kasus malaria dan penggunaan PCR Konvensional di laboratorium dan rumah sakit membutuhkan primer yang mampu mengidentifikasi spesies *Plasmodium* secara akurat sebagai bentuk optimalisasi terapi malaria. **Metode:** Peneliti menggunakan gen 18S rRNA sebagai gen target untuk membuat desain set primer LAMP dan gen COX-I sebagai gen target untuk membuat desain pasangan primer PCR Konvensional. Selanjutnya dilakukan analisis *alignment*, desain primer, dan uji spesifisitas primer secara *in silico*. **Hasil dan Pembahasan:** Desain primer LAMP menggunakan gen 18S rRNA sebagai target mendapatkan tiga desain set primer yang berbeda, dan desain pasangan primer PCR Konvensional menggunakan COX-I mendapatkan dua pasangan primer dalam setiap rancangan panjang produk mulai dari 100bp, 200bp, 300bp, 400bp dan 500bp. Kandidat desain primer PCR dianalisis spesifisitas secara *in silico*. **Kesimpulan:** Peneliti berhasil mendesain satu set primer LAMP dan dua pasang primer identifikasi *P.falcifarum* 110bp, dua pasang primer identifikasi *P.malariae* 220bp, sepasang primer identifikasi *P.ovale* 290bp-310bp, sepasang primer identifikasi *P.vivax* 390bp-410bp, dan sepasang primer identifikasi *P.knowlesi* 490bp-510bp.

Kata kunci: Primer, PCR, Gen, *Plasmodium*

ABSTRACT

IN SILICO PRIMER DESIGN FOR IDENTIFICATION OF THE PARASITE CAUSING MALARIA *Plasmodium* sp. WITH ISOTHERMAL PCR AND CONVENTIONAL PCR TO SUPPORT DEFENSE HEALTH

Background: Malaria diagnosis techniques continue to evolve from microscopic examination until today it reaches molecular diagnosis techniques using the Polymerase Chain Reaction (PCR) method. The use of Isothermal PCR in the field requires primers that are able to identify the genus *Plasmodium* sp. primers that are able to identify the genus *Plasmodium* sp, as a method of early screening of malaria cases and the use of Conventional PCR in laboratories and hospitals requires primers capable of identifying the genus *Plasmodium* sp. laboratories and hospitals requires primers capable of identifying *Plasmodium* species accurately to optimize malaria therapy. species accurately as a form of optimization of malaria therapy. **Methods:** Researchers used the 18S rRNA gene as the target gene to create a primer set design LAMP primer set design and COX-I gene as the target gene for PCR primer pair design. Conventional PCR primer pair design. Furthermore, the alignment analysis, primer design, and primer specificity test in silico analysis. **Results and Discussion:** Design LAMP primer design using the 18S rRNA gene as the target obtained three different primer set designs. primer set design, and Conventional PCR primer pair design using COX-I. COX-I obtained two primer pairs in each product length design ranging from 100bp, 200bp, 300bp, 400bp and 500bp. The candidate PCR primer designs were analyzed for specificity in silico. **Conclusion:** Researchers successfully designed a set of LAMP primers and two pairs of 110bp *P.falcifarum* identification primers, two pairs of 220bp *P.malariae* identification primers and two pairs of 500bp *P.malariae* identification primers. *P.malariae* 220bp identification primers, a pair of *P.ovale* 290bp-310bp identification primers, a pair of *P.vivax* identification primers 390bp-410bp, and a pair of *P. knowlesi* identification primers 490bp-510bp.

Keywords: Primers, PCR, Genes, *Plasmodium*

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN SKRIPSI	ii
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI.....	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS	
KATA PENGANTAR	
ABSTRAK	
ABSTRACT	
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR SINGKATAN.....	
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar belakang	1
1.2 Rumusan masalah	3
1.3 Tujuan penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaat penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Akademik.....	4
1.4.2 Manfaat Praktis.....	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Landasan Teori	6
2.1.1 Etiologi dan Epidemiologi Malaria	6
2.1.2 Siklus Hidup <i>Plasmodium sp.</i>	8
2.1.3 Periode Inkubasi <i>Plasmodium</i>	11
2.1.4 Diagnosis Malaria.....	12
2.1.5 Pemeriksaan Laboratorium	14
2.1.6 Teknik Diagnostik Molekular	18
2.1.7 Kandidat Gen Target <i>Plasmodium sp.</i>	22

2.2	Kerangka Berpikir.....	29
BAB 3 METODE PENELITIAN		31
3.1	Metode dan Desain Penelitian	31
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian.....	31
3.2.1	Tempat penelitian.....	31
3.2.2	Waktu penelitian.....	32
3.3	Alat dan Bahan.....	33
3.3.1	Alat Penelitian.....	33
3.3.2	Bahan Penelitian.....	34
3.4	Prosedur Penelitian.....	45
3.4.1	Alur Penelitian	45
3.4.2	Prosedur pengambilan data	45
3.4.3	Penyelarasan Gen (<i>Multiple Alignment</i>).....	46
3.4.4	Desain Primer.....	46
3.4.5	Analisis Spesifisitas Primer	46
3.5	Metode Analisis.....	46
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN		47
4.1	Hasil.....	47
4.1.1	Desain Primer LAMP.....	47
4.1.2	Desain Primer PCR konvensional.....	62
4.2	Pembahasan.....	88
4.2.1	Primer LAMP.....	88
4.2.2	Primer PCR Konvensional.....	90
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN		94
5.1	Kesimpulan.....	94
5.2	Saran.....	94
DAFTAR PUSTAKA.....		94
LAMPIRAN.....		98

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Masa Inkubasi Penyakit Malaria.....	11
Tabel 2. 2 Perbandingan antara metode konvensional dan molekuler untuk diagnosis malaria.....	19
Tabel 2. 4 Tinjauan literatur penelitian sebelumnya.....	25
Tabel 3. 1 Jadwal Penelitian.....	32
Tabel 3. 2 Sekuens Gen 18S rRNA <i>Plasmodium sp</i>	34
Tabel 3. 3 Sekuens gen COX-I <i>Plasmodium sp</i>	37
Tabel 4. 1 Kandidat Primer LAMP 1.....	50
Tabel 4. 2 Kandidat Primer LAMP 2.....	51
Tabel 4. 3 Kandidat Primer LAMP.....	52
Tabel 4. 4 Analisis Spesifisitas Kandidat Primer LAMP 1.....	54
Tabel 4. 5 Analisis Spesifisitas Kandidat Primer LAMP 2.....	56
Tabel 4. 6 Analisis Spesifisitas Kandidat Primer LAMP 3.....	57
Tabel 4. 7 Tabel Perbandingan Hasil Presentase Kesamaan Kandidat Primer LAMP.....	58
Tabel 4. 8 Kandidat Primer PCR Konvensional 1 110bp Menggunakan Gen COX-I <i>P.falciparum</i> sebagai Template.....	66
Tabel 4. 9 Kandidat Primer PCR Konvensional 2 108 bp Menggunakan Gen COX-I <i>P.falciparum</i> sebagai Template.....	66
Tabel 4. 10 Kandidat Primer PCR Konvensional 1 220bp Menggunakan Gen COX-I <i>P.malariae</i> Sebagai Template.....	68
Tabel 4. 11 Kandidat Primer PCR Konvensional 2 220 bp Menggunakan Gen COX-I <i>P.malariae</i> sebagai Template.....	69
Tabel 4. 12 Kandidat Primer PCR Konvensional 1 294 bp Menggunakan Gen COX-I <i>P.ovale</i> sebagai Template.....	70
Tabel 4. 13 Kandidat Primer PCR Konvensional 2 300 bp Menggunakan Gen COX-I <i>P.ovale</i> sebagai Template.....	71
Tabel 4. 14 Kandidat Primer PCR Konvensional 1 410 bp Menggunakan Gen COX-I <i>P.vivax</i> sebagai Template.....	73

Tabel 4. 15 Kandidat Primer PCR Konvensional 2 396 bp Menggunakan Gen COX-I <i>P.vivax</i> Sebagai Template	73
Tabel 4. 16 Kandidat Primer PCR Konvensional 1 510bp Menggunakan Gen COX-I <i>P.knowlesi</i> sebagai Template	75
Tabel 4. 17 Kandidat Primer PCR Konvensional 2 509bp Menggunakan Gen COX-I <i>P.knowlesi</i> sebagai Template	76
Tabel 4. 18 Analisis Kandidat Primer PCR Konvensional (100bp-110bp) Menggunakan Gen COX-I <i>P.falciparum</i> sebagai Template	78
Tabel 4. 19 Analisis Kandidat Primer PCR Konvensional (200bp-220bp) Menggunakan Gen COX-I <i>P.malariae</i> sebagai Template	80
Tabel 4. 20 Analisis Kandidat Primer PCR Konvensional (290bp-310bp) Menggunakan Gen COX-I <i>P.ovale</i> sebagai Template	82
Tabel 4. 21 Analisis Kandidat Primer PCR Konvensional (390bp-410bp) Menggunakan Gen COX-I <i>P.vivax</i> Sebagai Template	84
Tabel 4. 22 Analisis Kandidat Primer PCR Konvensional (490bp-510bp) Menggunakan Gen COX-I <i>P.knowlesi</i> sebagai Template	86

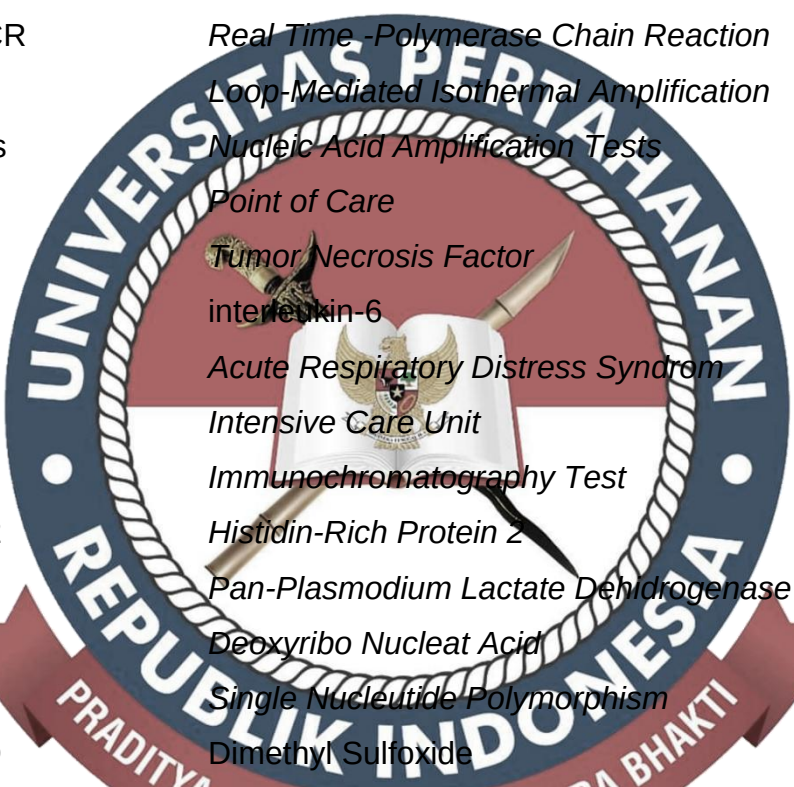


DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Siklus hidup <i>Plasmodium</i> penyebab malaria	8
Gambar 2. 2 Representasi Reaksi Imunologis pada RDT	17
Gambar 2. 3 <i>Loop-Mediated Isothermal Amplification</i> (LAMP).....	21
Gambar 2. 4 Primer LAMP dan 18S rRNA.....	22
Gambar 2. 5 Representatif Gen Target di Genom Mitokondria <i>Plasmodium falciparum</i>	24
Gambar 2. 6 Bagan Kerangka Teori.....	29
Gambar 2. 7 Bagan Kerangka Konsep	30
Gambar 3. 2 Alur Penelitian	45
Gambar 4. 1 Hasil <i>Multiple Alignment</i> Sekuen Gen 18S rRNA <i>Plasmodium sp.</i>	48
Gambar 4. 2 Hasil <i>Multiple Alignment</i> Gen COX-I <i>Plasmodium sp.</i>	65



DAFTAR SINGKATAN



The logo of Universitas Pertaahanan Republik Indonesia is a circular emblem. It features a blue outer ring with the text 'UNIVERSITAS PERTAHANAN' at the top and 'REPUBLIK INDONESIA' at the bottom. Inside the ring is a red field with a white book and a golden eagle. A red banner at the bottom of the emblem contains the motto 'PRADITYA WIRATAMA - NAGARA BHAKTI'.

WHO	<i>World Health Organization</i>
API	<i>Annual Parasite Incidence</i>
RDT	<i>Rapid Diagnostik Test</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
RT-PCR	<i>Real Time -Polymerase Chain Reaction</i>
LAMP	<i>Loop-Mediated Isothermal Amplification</i>
NAATs	<i>Nucleic Acid Amplification Tests</i>
POC	<i>Point of Care</i>
TNF	<i>Tumor Necrosis Factor</i>
IL-6	<i>interleukin-6</i>
ARDS	<i>Acute Respiratory Distress Syndrom</i>
ICU	<i>Intensive Care Unit</i>
ICT	<i>Immunochromatography Test</i>
HRP-2	<i>Histidin-Rich Protein 2</i>
pLDH	<i>Pan-Plasmodium Lactate Dehydrogenase</i>
DNA	<i>Deoxyribo Nucleat Acid</i>
SNPs	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
DMSO	<i>Dimethyl Sulfoxide</i>
ssrRNA	<i>small sub-unit ribosomal RNA</i>
DBS	<i>Dry Blood Spot</i>
COX	<i>Cytochrome Oxidase</i>