

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. *Ascariasis*

1. Pengertian *Ascariasis*

Ascariasis, penyakit kecacingan yang disebabkan oleh *Ascaris lumbricoides*, merupakan infeksi parasitik yang menginfeksi manusia dan babi (Sibuea, 2022). *Ascaris lumbricoides* termasuk dalam kategori *Soil Transmitted Helminth* (STH), yaitu jenis infeksi kecacingan yang ditularkan melalui tanah (Rosyidah dan Prasetyo, 2018). Penularan terjadi ketika telur *Ascaris lumbricoides* tertelan melalui konsumsi makanan atau minuman yang terkontaminasi, atau melalui kontak dengan tangan yang terpapar oleh feses yang mengandung telur cacing tersebut (Sibuea, 2022).

2. Penyebab *Ascariasis*

Kualitas hidup dalam lingkungan yang tidak bersih dan praktik kehidupan yang kurang higienis meningkatkan risiko penularan penyakit *Ascariasis* (Sibuea, 2022). Hal ini menunjukkan bahwa *Ascariasis* sangat terkait dengan tingkat kebersihan personal dan kondisi lingkungan. Cacing *Ascaris* dewasa hidup di usus halus. Setiap cacing betina mampu menghasilkan sekitar 200.000 telur setiap hari, yang dikeluarkan bersamaan dengan feses. Telur-telur ini menjadi infeksiif dalam kurun waktu sekitar 18 hari hingga beberapa minggu. Jika telur-telur infeksiif ini tertelan, maka akan menyerang mukosa usus dan kemudian beredar melalui aliran darah ke paru-paru, sebelum akhirnya kembali ke usus halus. Proses dari tertelannya telur cacing hingga menjadi cacing dewasa, memerlukan waktu sekitar 2 hingga 3 bulan, dan cacing dewasa dapat hidup selama 1 hingga 2 tahun (Anjarsari, 2018).

3. Faktor risiko infeksi *Ascariasis*

Menurut penelitian Lumbantobing dkk., (2020), Menggarisbawahi risiko tinggi infeksi *Soil Transmitted Helminths* (STH) di Indonesia disebabkan oleh sanitasi yang tidak memadai dan kondisi ekonomi sosial yang kurang ideal, terutama di daerah-daerah dengan tingkat ekonomi sosial rendah. Menurut penelitian Panjaitan (2022), menjelaskan faktor-faktor seperti iklim tropis, kelembaban tinggi, perilaku kurang *higienis*, dan tingginya kepadatan penduduk semuanya berkontribusi pada peningkatan kasus infeksi cacing. Dalam konteks infeksi *Ascariasis*, risiko melibatkan lingkungan rumah yang kurang bersih, terutama pada anak-anak sekolah dasar yang rentan. Kurangnya pendidikan, pengetahuan, pekerjaan dan status ekonomi menengah ke bawah, serta kebiasaan konsumsi sayuran yang kurang dimasak atau tidak dicuci dengan baik menjadi pemicu penularan. Beraktivitas tanpa alas kaki di tanah dan tidak mencuci tangan setelah bermain juga dapat meningkatkan risiko penularan infeksi *Ascariasis*.

Penelitian oleh Azizy dkk., (2022), menegaskan bahwa anak-anak memiliki risiko tinggi terkena infeksi *Soil Transmitted Helminths* (STH), diperparah oleh sanitasi yang kurang ideal dan kondisi ekonomi sosial yang tidak memadai, termasuk iklim hangat dan lembab di Indonesia. Oleh karena itu, strategi pencegahan dan pengendalian infeksi STH di Indonesia perlu mempertimbangkan faktor-faktor ini secara komprehensif.

a. Sanitasi lingkungan

Sanitasi lingkungan merupakan kunci utama dalam menciptakan lingkungan yang sehat, melibatkan kontrol terhadap faktor-faktor fisik yang dapat membahayakan perkembangan fisik, kesehatan, dan kelangsungan hidup manusia.

Upaya ini mencakup pasokan air bersih dan higienis, pengelolaan limbah (manusia, hewan, dan industri) yang teratur, perlindungan makanan dari kontaminasi biologis dan kimia, serta menjaga kebersihan udara dan rumah. Dengan tujuan utama memenuhi persyaratan agar lingkungan menjadi tempat yang sehat dan nyaman bagi manusia (Anita Yusiana dkk., 2023).

Sanitasi lingkungan bukan hanya sebagai usaha pencegahan umum, tetapi juga sebagai langkah kongkret untuk meningkatkan dan menjaga kualitas lingkungan agar terhindar dari organisme penyebab infeksi, termasuk cacing *Soil Transmitted Helminths* (STH). Kualitas sanitasi rumah dievaluasi berdasarkan ketersediaan sumber air bersih, keberadaan toilet, fasilitas pembuangan air limbah, keberadaan bak sampah, dan jenis lantai rumah (Anita Yusiana dkk., 2023).

Kondisi sanitasi yang tidak memadai dapat menjadi sumber penularan cacing pada manusia, terutama pada anak-anak sekolah dasar yang lebih rentan terhadap infestasi cacing karena bermain di tempat yang kotor. Sanitasi lingkungan yang kurang memadai merupakan faktor risiko signifikan untuk infeksi cacing kremi pada anak-anak, di mana telur cacing tertelan dan masuk ke dalam perut manusia (Anita Yusiana dkk., 2023).

b. Sanitasi makanan

Faktor sanitasi makanan yang berkontribusi pada kejadian infeksi cacingan adalah perilaku makan sehari-hari, seperti mengonsumsi makanan mentah atau setengah matang seperti ikan, daging, dan sayuran, serta penyajian makanan yang harus memenuhi standar kebersihan yang tepat (Larasati dan Idayani, 2021).

4. Gejala klinis *Ascariasis*

Ascariasis, yang disebabkan oleh *Ascaris lumbricoides*, seringkali tidak menunjukkan gejala (*asimptomatik*), namun dapat menyerupai gejala kecacingan lainnya seperti penurunan berat badan, masalah gizi, anemia, dan gangguan pencernaan. Kecacingan dapat menghambat penyerapan nutrisi di usus halus, menyebabkan kekurangan gizi, dan berdampak pada pertumbuhan fisik (Sibuea, 2022). Gejala *Ascariasis* melibatkan peningkatan *eosinofil*, reaksi alergi, dan peradangan paru-paru akibat *penetrasi* larva. Larva yang melimpah dapat menyebabkan batuk *spasmodik*, sementara cacing dewasa menimbulkan gejala bervariasi tergantung pada faktor-faktor individu (Ompusunggu dan Mardella, 2019 : 31-32).

Pada anak-anak, infeksi ringan bisa tanpa gejala, tetapi infeksi sedang dan berat menunjukkan gejala seperti perut buncit, nyeri perut, *anoreksia*, diare, dan hambatan pertumbuhan. Balita dengan infeksi berat dapat mengalami malnutrisi karena kerusakan mukosa usus oleh cacing dewasa. Pada orang dewasa, infeksi mungkin tanpa gejala dan hanya terdeteksi melalui temuan telur cacing dalam feses atau keluarnya cacing dewasa bersama feses (Ompusunggu dan Mardella, 2019 : 31-32).

5. Komplikasi infeksi *Ascariasis*

Kecacingan dapat menyebabkan berbagai dampak negatif pada anak, termasuk hambatan pertumbuhan, anemia, gangguan konsentrasi belajar, penurunan berat badan, kelelahan, serta masalah perut dan diare (Sibuea, 2022). Infeksi kronis dapat menyebabkan kondisi malnutrisi dan keterlambatan pertumbuhan, dengan gejala yang mencakup rasa sakit perut, kembung, mual, muntah, *anoreksia*, dan diare *intermiten* (Azura dkk., 2023).

Komplikasi kecacingan dapat timbul dari migrasi cacing yang semakin dewasa. Misalnya, larva yang memasuki saluran empedu dapat menyebabkan penyumbatan saluran dan gejala *ikterus*, sementara *penetrasi* ke saluran pankreas dapat mengakibatkan *pankreatitis*. Kasus *penetrasi* ke usus buntu dapat menyebabkan *apendisitis*. Beberapa ahli berpendapat bahwa *Ascaris lumbricoides* dapat berperan sebagai *vector* bagi bakteri patogen ke organ-organ di usus, termasuk *apendiks*. Terkadang, terjadi kelainan *ektopik*, di mana *Ascariasis* terjadi di organ-organ tertentu, yang dapat menyebabkan komplikasi serius (Ompusunggu dan Mardella, 2019 : 32).

Ileus obstruktif adalah komplikasi serius yang dapat timbul karena keberadaan nematoda *Ascaris lumbricoides* di perut. *Obstruksi* dapat terjadi ketika jumlah cacing melebihi 60 ekor, dengan gejala termasuk mual, *distensi abdomen*, kekakuan usus, perubahan bentuk usus, peningkatan bising usus, dan bahkan kolapsnya *ampula recti* saat dilakukan *rectal toucher* (Azura dkk., 2023).

6. Pengobatan dan pencegahan *Ascariasis*

Pencegahan dan penanggulangan penyakit *Ascariasis* melibatkan penggunaan obat seperti *albendazole* dan *mebendazole*, namun pendekatan pencegahan lebih efektif. Praktik hidup bersih seperti mencuci tangan, memasak makanan hingga matang, menghindari anak-anak untuk tidak menelan tanah, dan menggunakan fasilitas jamban yang sesuai merupakan kunci dalam menjaga kebersihan individu dan lingkungan (Anjarsari, 2018). Pencegahan kecacingan juga melibatkan praktik hidup bersih seperti sanitasi lingkungan, dan mencuci bahan makanan dengan air bersih, bersama dengan upaya menjaga kebersihan dan keamanan makanan, berperan penting dalam pencegahan infeksi kecacingan (Sibuea, 2022).

Dalam konteks siklus hidup, langkah-langkah pencegahan mencakup menghindari kontaminasi tanah oleh telur cacing, mencegah kontaminasi telur *Ascaris* pada makanan dan minuman, dan mengobati sumber penularan baik pada tingkat individu maupun massal. Fokus pencegahan ditekankan pada anak usia sekolah dasar dan kelompok berprofesi yang berhubungan dengan tanah. Upaya ini perlu didukung oleh kampanye berkelanjutan untuk meningkatkan pemahaman masyarakat tentang risiko infeksi cacing *Soil Transmitted Helminths* (STH) dan cara pencegahannya (Ompusunggu dan Mardella, 2019 : 33).

B. Parasit *Ascaris lumbricoides*

1. Definisi *Ascaris lumbricoides*

Ascaris lumbricoides, termasuk dalam kelompok nematoda usus, umumnya ditemukan terutama di daerah subtropis dan tropis. Di wilayah-wilayah ini, kondisi lingkungan setempat menunjukkan kebersihan yang kurang memadai dan kesehatan yang terancam. Cacing *Ascaris lumbricoides*, penularannya melibatkan tanah. Keberadaannya telah diidentifikasi secara internasional, dengan prevalensi tertinggi terjadi di wilayah beriklim lembab dan panas, di mana sanitasi dan kebersihan lingkungan kurang memadai. Selain itu, cacing ini juga dapat ditemukan di daerah di mana tinja manusia digunakan sebagai pupuk organik (Wibowo, 2022).

Ascaris lumbricoides, yang merupakan nematoda terbesar yang dapat ditemukan di dalam usus manusia dengan panjang mencapai 40 cm, adalah parasit yang menginfeksi manusia sebagai satu-satunya hospes. Parasit ini dapat menyebabkan penyakit yang dikenal sebagai *Ascariasis*. Mayoritas individu yang terinfeksi tidak menunjukkan gejala (*asimptomatik*). Gejala klinis umumnya timbul akibat migrasi larva ke paru-paru atau akibat adanya cacing dewasa di dalam usus. (Arief, 2020).

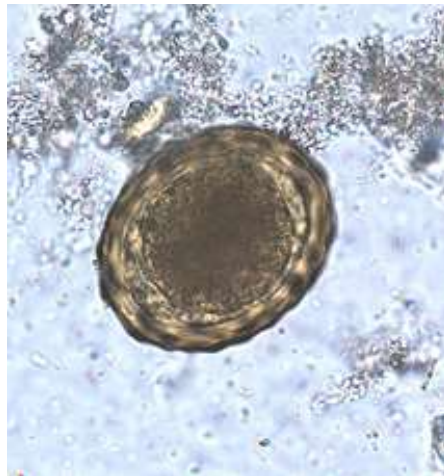
2. Taksonomi *Ascaris lumbricoides*

Kingdom : *Animalia*
Phylum : *Nemathelminthes*
Kelas : *Nematoda*
Sub-kelas : *Phasmida*
Ordo : *Rhabdidata*
Sub-Ordo : *Ascaridata*
Famili : *Ascarididae*
Genus : *Ascaris*
Spesies : *Ascaris lumbricoides*

(Irianto, 2013 : 233).

3. Morfologi *Ascaris lumbricoides*

a. Telur *Ascaris lumbricoides*



Gambar 1. Telur *Fertil Ascaris lumbricoides*
Sumber : CDC, 2019.



Gambar 2. Telur *Infertil Ascaris lumbricoides*

Sumber : CDC, 2019.

Terdapat dua jenis telur dari cacing ini, yakni telur *fertil* yang dihasilkan melalui pembuahan dan telur *infertil* yang tidak mengalami pembuahan. Keduanya memiliki dinding tiga lapisan, secara berurutan dari luar ke dalam terdiri dari dinding albumin yang bergelombang, yang menjadi ciri khas telur *Ascaris lumbricoides*, dinding *hialin*, dan dinding *vitelina*. Dinding albumin sering kali mengerut atau bahkan hilang akibat berbagai faktor seperti kekeringan, bahan kimia, lemak, dan lain-lain. Hilangnya dinding ini disebut *dekortikasi* (Ompusunggu dan Mardella, 2019 : 30).

Telur *fertil* memiliki bentuk oval dengan ukuran $40-75\ \mu \times 35-50\ \mu$. Dinding *hialin* terlihat tebal dan berisi satu *blastomer*. Saat diperiksa dalam tinja, telur tersebut sudah berisi sel-sel telur karena mengalami pertumbuhan selama melewati saluran pencernaan. Sementara itu, telur *infertil* memiliki bentuk lonjong dengan ukuran $80-94\ \mu \times 38-44\ \mu$, dan hanya berisi *granula-granula*. Dinding tengahnya terlihat tipis (Ompusunggu dan Mardella, 2019 : 30).

b. Cacing *Ascaris lumbricoides*



Gambar 3. Morfologi Cacing Dewasa *Ascaris lumbricoides*

Sumber : CDC, 2019.

Cacing ini adalah nematoda usus terbesar yang mudah dikenali karena berbentuk gilik dengan kedua ujung tubuh yang lancip. Identifikasi jenis kelamin dapat dilakukan dengan melihat posisi ujung tubuhnya; jika kedua ujung tubuhnya lurus, itu menandakan cacing betina, sedangkan jika salah satu ujungnya melengkung ke arah *ventral*, itu menandakan cacing jantan (Ompusunggu dan Mardella, 2019 : 29).

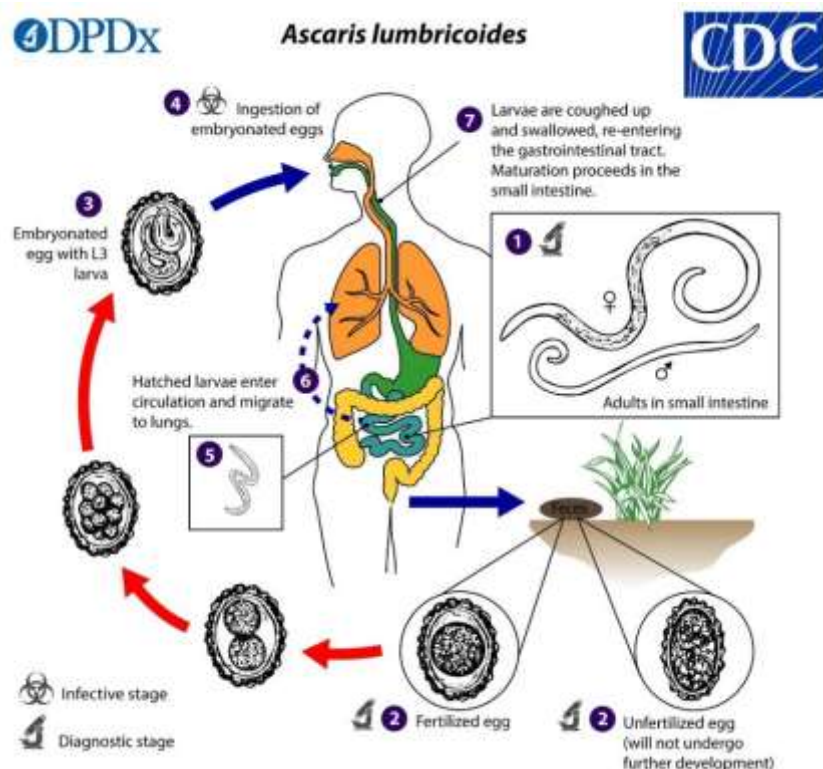


Gambar 4. Morfologi Mulut Cacing Dewasa *Ascaris lumbricoides*

Sumber : CDC, 2019.

Mulut *Ascaris lumbricoides* memiliki tiga bibir, terdiri dari satu bibir *dorsal* yang lebar dan dua bibir *subventral* berbentuk oval yang dilengkapi dengan *papila sensoris*. *Esofagusnya* pendek dan berotot. Panjang cacing jantan berkisar antara 15-31 cm dengan diameter 3 mm, lebih kecil dibandingkan dengan ukuran cacing betina yang memiliki panjang 22-34 cm dengan diameter 5 mm. Cacing betina dilengkapi dengan sistem reproduksi yang terletak pada dua pertiga bagian posterior tubuhnya, sementara *vulva* berada di sepertiga anterior tubuh. Anus terletak di permukaan ventral tubuh dekat ujung ekor. Cacing jantan memiliki sepasang *spikula* dengan panjang yang tidak sama. *Kloaka* terletak di ujung posterior tubuh. (Ompusunggu dan Mardella, 2019 : 29).

4. Daur hidup *Ascaris lumbricoides*



Gambar 5. Daur Hidup *Ascaris lumbricoides*

Sumber : CDC, 2019.

Siklus hidup cacing ini, seperti yang tergambar pada Gambar 5, dimulai dengan telur belum matang yang dihasilkan oleh cacing betina di dalam usus halus. Jika telur berada di tanah yang subur, dalam 10-14 hari hingga 3 minggu, telur akan tumbuh menjadi matang dan dapat menyebabkan infeksi. Pertumbuhan telur dipengaruhi oleh jenis tanah, iklim, dan paparan sinar matahari dengan suhu optimal 25°C. Telur matang yang tertelan akan menetas di usus halus menjadi larva *rabditiform*. Larva ini menyebar melalui pembuluh darah, mencapai paru-paru melalui sirkulasi darah sistem *porta*, dan mengalami pertumbuhan di jaringan *alveoli* selama 5-7 hari. Setelah itu, larva berkembang menjadi stadium yang lebih tua, bermigrasi menuju laring melalui saluran pernapasan, dan akhirnya menjadi cacing dewasa setelah tertelan dan mencapai usus halus. Dua hingga tiga bulan setelah telur matang tertelan, cacing betina mulai menghasilkan rata-rata 200.000 butir telur setiap hari, menandai awal siklus paru. Kadang-kadang, larva dapat mengikuti aliran vena *pulmonalis* ke jantung kiri dan menyebar ke seluruh tubuh, menyebabkan kelainan atau larva *ektopik* di luar usus halus (Ompusunggu dan Mardella, 2019 : 30).

5. Patogenesis *Ascaris lumbricoides*

Kelainan yang muncul dapat disebabkan oleh perjalanan larva atau oleh iritasi serta migrasi cacing dewasa. Kelainan akibat larva bergantung pada jumlah larva, histologi organ, dan kondisi paru. Cacing dewasa akan merangsang respons *humoral* dengan meningkatkan *IL4*, *IL5*, *eosinofilia*, dan *Ascaris-specific IgE* sebagai indikator respons imun dari *Th2*. Manifestasi alergi yang terjadi disebabkan oleh *hipersensitivitas* yang dimediasi oleh *IgE* (seperti *rinitis alergi*, *eksim*, asma, dan alergi makanan) dapat dideteksi melalui "*skin test*" atau pemeriksaan serum "*allergen-specific IgE*". Umumnya, keadaan seperti ini terjadi pada akhir periode

migrasi larva di paru-paru dan berlanjut selama fase *Ascariasis*. Cacing dewasa yang mati dapat menghasilkan racun protein yang menyebabkan *nekrosis* pada dinding usus (Ompusunggu dan Mardella, 2019 : 31).

6. Epidemiologi *Ascaris lumbricoides*

Ascaris lumbricoides, bersama dengan *Hookworm* dan *Trichuris trichiura*, tergolong dalam *Soil Transmitted Helminth* (STH). Sayuran menjadi sumber penularan yang paling umum. Berdasarkan beberapa penelitian, setiap spesimen sayuran rata-rata mengandung 1,44 telur, dengan 42,8% di antaranya mengandung telur *Ascaris lumbricoides*. Selanjutnya, sekitar 23,1% dari telur yang ditemukan ternyata telah mengalami *embriogenesis*. Sumber penularan lainnya adalah tanah. Dalam penelitian yang sama, disebutkan bahwa setiap 5 gram tanah dapat mengandung hingga 360 telur. Telur *Ascaris lumbricoides* juga dapat ditemukan dalam debu rumah. Dalam setiap gram debu tersebut, terdapat sekitar 31 butir telur *Ascaris lumbricoides*. Serangga juga sering disebutkan sebagai sumber penularan. Penularan dari berbagai sumber ini semakin memudahkan karena telur *Ascaris lumbricoides* memiliki daya tahan terhadap asam, alkohol, dan bahan pengawet yang umum digunakan di rumah tangga. (Bernardus, 2007 : 124).

Penularan parasit ini umumnya terjadi melalui konsumsi makanan, minuman, atau mainan yang telah terkontaminasi oleh telur cacing yang sedang dalam tahap infeksi. Anak-anak lebih rentan terhadap infeksi ini dibandingkan dengan orang dewasa karena mereka sering berinteraksi dengan tanah, tempat perkembangan telur cacing. Infeksi terjadi ketika seseorang menelan telur cacing yang telah mengalami embrio melalui kontak langsung dengan debu, hewan peliharaan, atau mainan yang terkontaminasi. (Dwiutami dkk., 2018).

Ascariasis dapat terjadi pada semua kelompok umur, namun insiden tertinggi cenderung terjadi pada kelompok usia 5-9 tahun. Hal ini mungkin disebabkan oleh faktor perilaku dan pekerjaan individu. Selain itu, penggunaan tinja sebagai pupuk juga diidentifikasi sebagai salah satu faktor yang berkontribusi pada tingginya jumlah kasus *Ascariasis* di Asia. (Bernardus, 2007 : 124).

C. Gen target spesifik *first Internal Transcribed Spacer (ITS-1)*

Internal Transcribed Spacer (ITS) pada *Ascaris lumbricoides* adalah suatu wilayah pada DNA ribosom internal yang berperan dalam identifikasi dan klasifikasi spesies ini. ITS terdiri dari dua subunit, yaitu ITS-1 dan ITS-2, yang terletak di antara dua urutan ribosomal yang ditranskripsi (18S, 5.8S, dan 28S rRNA). ITS-1 rDNA menjadi target spesifik untuk *Ascaris lumbricoides* dan *Ascaris suum*. Melalui analisis genetik, ditemukan bahwa tidak ada perbedaan dalam urutan rDNA atau wilayah ITS-2 dari kedua spesies ini. Meskipun demikian, terdapat perbedaan sebanyak enam pasangan basa dalam wilayah ITS-1 mereka. Hal ini menunjukkan bahwa wilayah ITS-1 dari spesies *Ascaris* berpotensi menjadi penanda pembeda antara keduanya (Pecson *et al.*, 2006).

Pemahaman perbedaan pada wilayah ITS-1 dapat digunakan sebagai dasar untuk mengembangkan metode identifikasi lebih akurat antara *Ascaris lumbricoides* dan *Ascaris suum*. Wilayah ITS sering digunakan untuk membedakan organisme dalam genus yang sama karena memiliki keragaman urutan yang tinggi dibandingkan subunit rDNA. Selain itu, produk transkripsi dari ITS-1 berfungsi sebagai penanda viabilitas dengan keberadaan yang esensial untuk fungsi sel dasar, tetapi bersifat singkat dalam umur di dalam sel. Penghapusan ITS-1 dari genom menghambat pembentukan ribosom dan proses pembentukan protein. Meskipun ITS-1 rRNA

cepat terdegradasi setelah transkripsi, penggunaannya dapat mengatasi kendala persistensi DNA dan rRNA dalam sel yang dinaktifkan. Namun, meskipun wilayah ITS sebelumnya digunakan untuk klasifikasi dan deteksi organisme, belum digunakan untuk menilai viabilitas (Pecson *et al.*, 2006).

ITS-1 memiliki beberapa karakteristik yang menjadikannya sebagai kandidat yang baik sebagai penanda molekuler untuk mengukur keberlanjutan hidup. Pertama, tingkat ITS-1 rDNA berkorelasi positif dengan jumlah sel *Ascaris*. Pada saat telur mendekati jumlah sel maksimalnya (hari ke-10 hingga ke-12), jumlah ITS-1 rDNA mencapai puncaknya pada hari ke-8. Wajar jika jumlah ITS-1 rDNA mencapai puncaknya sebelum bukti morfologis pembentukan larva muncul karena DNA direplikasi sebelum pembelahan sel. Meskipun jumlah salinan ITS-1 rDNA per genom belum pernah dilaporkan sebelumnya untuk *Ascaris*, jumlah yang ditentukan secara eksperimental, yaitu $42,2 \pm 5,8$, mirip dengan nilai 55 yang dilaporkan untuk nematoda *Caenorhabditis elegans* (Pecson *et al.*, 2006).

D. Metode deteksi parasit *Ascaris lumbricoides*

1. Metode konvensional untuk deteksi *Ascaris lumbricoides*

Ascariasis dapat didiagnosis melalui berbagai metode dengan memperhatikan gejala seperti rasa lemah, penurunan berat badan, dan keluarnya cacing dewasa. Pemeriksaan laboratorium, terutama pemeriksaan feses, diperlukan untuk memastikan diagnosis. Berbagai metode pemeriksaan feses, baik kualitatif maupun kuantitatif seperti *Direct Smear*, *Kato's Thick Smear*, dan *Kato-Katz's Smear*, dapat digunakan (Azizy dkk., 2022).

Diagnosis laboratorium dapat dikonfirmasi melalui identifikasi telur cacing dalam sampel feses, meskipun kemungkinan hasil negatif palsu tetap ada karena

kemungkinan hanya cacing jantan yang dihasilkan oleh penderita. Disarankan membuat tiga sediaan rutin dari setiap sampel feses untuk menghindari hasil palsu. Pemeriksaan dapat ditingkatkan menggunakan metode konsentrasi, seperti pengapungan atau pengendapan. Derajat infeksi *Soil Transmitted Helminth* (STH) dapat ditentukan berdasarkan jumlah telur cacing per gram feses menggunakan metode seperti *Stoll* dan *Kato-Katz*, yang memerlukan kecermatan dalam mengidentifikasi telur cacing tambang (Ompusunggu dan Mardella, 2019 : 32-33).

2. Metode serologi untuk deteksi *Ascaris lumbricoides*

Pengujian serologi berdasarkan deteksi antibodi dapat menyebabkan perkiraan prevalensi infeksi yang lebih tinggi, karena persistensi antigen yang berlangsung lama setelah pengobatan pasien. Meskipun teknik serodiagnosis baru yang spesifik dan sensitif, yang melibatkan deteksi IgG4 antigen *ekskretori-sekretori* (ES) *Ascaris*, telah dikembangkan dan digunakan dalam penelitian (Vlaminck *et al.*, 2016).

Uji *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) Uji ELISA dengan IgG4 spesifik dapat digunakan untuk mendeteksi antibodi yang khusus terhadap antigen cacing *Ascaris lumbricoides* dalam sampel darah. Metode ini menawarkan tingkat deteksi yang lebih akurat dibandingkan dengan teknik mikroskopis, sehingga memberikan gambaran yang lebih jelas mengenai prevalensi parasit cacing ini dalam populasi target. Konsentrasi tinggi IgG4 dalam plasma darah dikaitkan dengan infeksi cacing yang bersifat *hiporesponsif* dan *asimptomatik*, menunjukkan infeksi cacing kronis pada individu dengan tingkat IgG4 yang tinggi dan tingkat IgE yang rendah, yang mengindikasikan penekanan pada respons imunitas efektor. (Maulina, dkk., 2022). Penggunaan metode deteksi IgG4 secara khusus cenderung memberikan estimasi prevalensi yang lebih akurat daripada penelitian lain yang hanya

mengandalkan teknik mikroskopis. Dengan demikian, hasil tersebut menghasilkan pengamatan yang signifikan terkait keberadaan parasit dalam populasi yang diteliti. (Gowon *et al.*, 2018).

3. Metode PCR untuk deteksi *Ascaris lumbricoides*

a. Definisi metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah metode *sintesis* dan amplifikasi DNA secara *in vitro*, sangat umum digunakan dalam diagnosis berbasis molekuler. PCR merupakan alternatif *gold standard*, terutama ketika parasit yang hidup sulit ditemukan dalam tubuh. DNA dari *hospes* dan parasit memiliki urutan yang berbeda, memungkinkan PCR untuk mendeteksi keberadaan parasit secara spesifik dalam tubuh. Proses PCR melibatkan tahapan pemisahan untai ganda DNA menjadi untai tunggal, diikuti dengan hibridisasi primer, dan dilanjutkan dengan replikasi DNA yang melibatkan penambahan basa pada cetakan DNA oleh enzim polimerase. Dalam beberapa jam, PCR mampu menghasilkan jutaan salinan DNA yang berkali-kali lipat dari fragmen aslinya. Untuk menjalankan PCR, diperlukan tabung reaksi yang responsif terhadap perubahan suhu serta mesin *thermal cycler* yang mampu mengatur suhu dengan cepat dan tepat. Selain itu, bahan-bahan yang diperlukan untuk menyusun reaksi PCR juga harus tersedia. (Kartini dan Rosdarni, 2023).

b. Prinsip dasar *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah teknik amplifikasi *nukleotida* yang dilakukan di dalam tabung reaksi secara *in vitro* dengan bantuan proses enzimatik. Melalui teknik ini, jumlah nukleotida dari DNA target dapat diperbanyak secara signifikan, melebihi jumlah asalnya beberapa kali lipat. Keberhasilan teknik ini tergantung pada dua aspek kunci, yaitu pengelolaan *amplifikasi* DNA non-target

yang minim dan pengaturan suhu yang optimal pada setiap tahapnya (Irianto, 2013 : 549).

Proses *Polymerase Chain Reaction* (PCR) melibatkan tiga tahapan utama, yaitu *denaturasi*, *annealing*, dan *extension*. Tahap *denaturasi* memisahkan DNA menjadi untai tunggal pada suhu sekitar 92-95°C. Pada tahap *annealing*, *primer* menempel pada DNA target yang akan di-*amplifikasi*, dengan suhu sekitar 5°C di bawah *melting temperature* (T_m), biasanya pada 55°C. Penting untuk menjaga suhu pada tahap *annealing* agar tidak kurang dari 37°C untuk efisiensi *amplifikasi* yang optimal. Pada tahap *ekstensi*, terjadi pemanjangan untai baru DNA dimulai dari posisi primer pada urutan DNA target, dengan suhu sekitar 70-72°C (Irianto, 2013 : 549).

Suhu yang umumnya digunakan pada masing-masing tahap *Polymerase Chain Reaction* (PCR) adalah sebagai berikut: *Denaturasi*: 95°C, 30 detik; *Annealing*: 55-60°C, 30 detik dan *Ekstensi*: 72°C, dengan durasi tergantung pada panjang DNA yang diinginkan sebagai produk *amplifikasi*. Proses amplifikasi diulang dalam siklus-siklus, umumnya sekitar 35 siklus, untuk mendapatkan hasil yang memadai. Teknik PCR memiliki peran sentral dalam berbagai bidang seperti bioteknologi, forensik, dan penelitian genetika (Irianto, 2013 : 549).

c. Tahapan reaksi *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Dalam setiap siklus reaksi PCR, terdapat tiga tahap utama (Irianto, 2013 : 525):

- 1) *Denaturasi*: Pada tahap ini, DNA untai ganda terbuka menjadi dua untai tunggal karena suhu tinggi memutuskan ikatan hidrogen antar basa-basa yang berkomplementer. Proses ini dilakukan pada suhu antara 90°C hingga 95°C, menghentikan semua reaksi *enzimatik*, seperti pada siklus sebelumnya.

- 2) Penempelan *primer*: Pada tahap penempelan primer atau *annealing*, *primer* berkomplementer dengan urutan target dan membentuk ikatan hidrogen dengan templatnya. Proses ini dilakukan pada suhu antara 50°C hingga 60°C, diikuti oleh pengikatan DNA polimerase pada suhu 72°C, menghasilkan ikatan hidrogen yang kuat.
- 3) Reaksi polimerisasi (*Extension*): Proses perpanjangan rantai berlangsung pada suhu 72°C. Primer yang sudah terikat sebelumnya diperpanjang pada sisi 3' melalui penambahan dNTP yang berkomplementer dengan templat, diinduksi oleh DNA *polimerase*.
- 4) Pra-*denaturasi*, bertujuan untuk memastikan *denaturasi* yang sempurna dan mengaktifasi DNA polimerase dengan pendekatan hot-start. Ini berlangsung selama 1-9 menit di awal reaksi.
- 5) Tahap final *elongasi* dilakukan pada suhu optimal enzim, berkisar antara 70-72°C, selama 5-15 menit, untuk memastikan perpanjangan sempurna dari setiap utas tunggal yang tersisa. Tahap ini dilaksanakan setelah siklus PCR terakhir.

Melalui siklus PCR, daerah antara dua primer mengalami amplifikasi eksponensial, membentuk amplop ganda DNA yang disebut ampikon. Jumlah ampikon dapat dihitung menggunakan rumus $(2^n) \times x$, di mana n adalah jumlah siklus dan x adalah jumlah awal molekul DNA. Sebagai ilustrasi, satu molekul DNA awal akan menghasilkan 2 molekul setelah satu siklus, 4 molekul setelah dua siklus, dan seterusnya, menunjukkan pertumbuhan eksponensial. Pada PCR dengan enzim Taq DNA polimerase, setiap akhir siklus akan menambahkan satu nukleotida A pada ujung 3' dari DNA yang dihasilkan. Hasil PCR dapat dikloning dengan menggunakan

vektor yang memiliki nukleotida T pada ujung-ujung 5'. Proses PCR dilakukan menggunakan *thermo cycler*. (Irianto, 2013: 525-526).

d. Kelebihan dan kekurangan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Polymerase Chain Reaction (PCR) memiliki sejumlah keunggulan, antara lain sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi dibandingkan dengan metode konvensional yang dianggap sebagai *gold standard* dalam mendeteksi DNA parasit dalam sampel yang terbatas serta membedakan spesies parasit tunggal, waktu yang relatif lebih singkat dibandingkan dengan teknik perbanyakan menggunakan vektor, dan hanya memerlukan sejumlah kecil DNA target. Namun, ada beberapa keterbatasan, seperti keharusan mengetahui urutan nukleotida dari segmen DNA yang diinginkan untuk mensintesis primer, PCR hanya dapat diterapkan pada fragmen DNA yang memiliki ukuran kurang dari 5 kb, serta biaya dan peralatan yang relatif mahal dibandingkan dengan metode konvensional. (Irianto, 2013 : 525-526).