

Table Of Content

Journal Cover	2
Author[s] Statement	3
Editorial Team	4
Article information	5
Check this article update (crossmark)	5
Check this article impact	5
Cite this article	5
Title page	6
Article Title	6
Author information	6
Abstract	6
Article content	8

Academia Open

Vol 8 No 2 (2023): December

DOI: 10.21070/acopen.8.2023.7229 . Article type: (Clinical Research)

Originality Statement

The author[s] declare that this article is their own work and to the best of their knowledge it contains no materials previously published or written by another person, or substantial proportions of material which have been accepted for the published of any other published materials, except where due acknowledgement is made in the article. Any contribution made to the research by others, with whom author[s] have work, is explicitly acknowledged in the article.

Conflict of Interest Statement

The author[s] declare that this article was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Copyright Statement

Copyright © Author(s). This article is published under the Creative Commons Attribution (CC BY 4.0) licence. Anyone may reproduce, distribute, translate and create derivative works of this article (for both commercial and non-commercial purposes), subject to full attribution to the original publication and authors. The full terms of this licence may be seen at <http://creativecommons.org/licences/by/4.0/legalcode>

EDITORIAL TEAM

Editor in Chief

Mochammad Tanzil Multazam, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

Managing Editor

Bobur Sobirov, Samarkand Institute of Economics and Service, Uzbekistan

Editors

Fika Megawati, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

Mahardika Darmawan Kusuma Wardana, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

Wiwit Wahyu Wijayanti, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

Farkhod Abdurakhmonov, Silk Road International Tourism University, Uzbekistan

Dr. Hindarto, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

Evi Rinata, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

M Faisal Amir, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

Dr. Hana Catur Wahyuni, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

Complete list of editorial team ([link](#))

Complete list of indexing services for this journal ([link](#))

How to submit to this journal ([link](#))

Article information

Check this article update (crossmark)



Check this article impact (*)



Save this article to Mendeley



(*) Time for indexing process is various, depends on indexing database platform

Enhancing Medical Lab Education via Molecular Biology: A Service Learning Approach for Toxoplasmosis Detection

Meningkatkan Pendidikan Laboratorium Medis melalui Biologi Molekuler: Pendekatan Pembelajaran Berbasis Pelayanan untuk Deteksi Toksoplasmosis

Miftahul Mushlih , mif.mushlih@umsida.ac.id, (1)

Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

Puspitasari, puspitasari@umsida.ac.id, (0)

Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

Sitti Nur Qablyatin Syabandia, mif.mushlih@umsida.ac.id, (0)

Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

Wa Ode Asma`Ul Husna Huesein, mif.mushlih@umsida.ac.id, (0)

Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

Andika Aliviameyta , mif.mushlih@umsida.ac.id, (0)

Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

⁽¹⁾ Corresponding author

Abstract

Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan pemahaman siswa SMK Teknologi Lab Kedokteran dalam ranah pengembangan pemeriksaan kesehatan melalui integrasi teknik biologi molekuler. Menggunakan kerangka Service Learning (SL), mahasiswa dibimbing dalam memahami evolusi metode diagnostik yang berkaitan dengan bidangnya, selama periode Februari hingga Maret 2023. Kuliah dan diskusi memperkenalkan mahasiswa pada aplikasi biologi molekuler dalam berbagai ujian, sementara lokakarya terarah pendekatan memungkinkan aplikasi langsung dari metode ini untuk pengujian toksoplasmosis. Prosesnya meliputi ekstraksi DNA dari sampel wajah kucing liar menggunakan Chelex 100 Grade Resin, menargetkan gen B1 untuk PCR, menggunakan siklus PCR minimal, dan memvisualisasikan hasil PCR melalui elektroforesis gel agarosa 1%. Hasil, menunjukkan identifikasi toksoplasma positif dalam 5 dari 6 sampel, menggarisbawahi kemanjuran pendekatan ini. Analisis pra dan pasca tes menunjukkan peningkatan pengetahuan yang signifikan di antara peserta, menekankan implikasi metodologi pemeriksaan medis lanjutan dalam pendidikan dan praktik.

Highlight:

- Integrasi Biologi Molekuler: Menekankan penggabungan teknik biologi molekuler ke dalam pendidikan laboratorium medis untuk meningkatkan kemampuan diagnostik dan pembelajaran siswa.
- Pendekatan Service Learning: Menyoroti penggunaan Service Learning sebagai metode yang efektif untuk menjembatani pengetahuan teoretis dengan aplikasi praktis, menumbuhkan pemahaman yang lebih dalam tentang pengembangan

pemeriksaan medis.

- Identifikasi Toksoplasmosis: Menampilkan keberhasilan penerapan metode molekuler, seperti ekstraksi PCR dan DNA, untuk mengidentifikasi keberadaan toksoplasma dalam sampel kucing liar, menunjukkan potensi deteksi penyakit yang akurat.

Kata kunci: Pendidikan Lab Medis, Biologi Molekuler, KKN, Deteksi Toksoplasmosis, Peningkatan Pengetahuan

Published date: 2023-08-15 00:00:00

PENDAHULUAN

Pada saat ini perkembangan biologi molekular sebagai basis pemeriksaan di bidang teknologi laboratorium medik memiliki perkembangan yang pesat [1], [2]. Penggunaan pemeriksaan berbasis biologi molekular merupakan metode yang menjadi standart untuk wabah yang melanda beberapa tahun yang lalu yaitu Sars Cov 2 [3]. Sebelumnya, metode ini juga digunakan sebagai alat utama pemerintah untuk mendeteksi dan mencegah penyebaran dari tuberculosis [4]. Metode yang memanfaatkan molekul asam nukleat untuk keperluan diagnosis disebut *nucleic acid amplification test* (NAATs). Saat ini pemeriksaan biologi molekular tidak hanya sebatas identifikasi pathogen saja [5], termasuk didalamnya screening genetic dan diagnosis ekspresi gen [6], [7], [8], [9]. Beberapa klinik kesehatan dan rumah sakit juga sudah menawarkan pemeriksaan tersebut secara luas, tidak kurang 52 pemeriksaan ditawarkan oleh klinik swasta yang ada di Indonesia. Berkembangnya aplikasi metode ini menuntut adanya sumber daya manusia yang kompeten.

Sekolah menengah kejuruan (SMK) mitra sehat merupakan salah satu SMK yang memiliki jurusan Teknologi Laboratorium Medik yang ada di Sidoarjo. SMK Mitra Sehat, Sidoarjo berada di bawah naungan Yayasan Mitra Sehat Mandiri Sidoarjo yang beralamatkan di jalan Ki Hajar Dewantara Nomor 200. Perlunya meningkatkan kompetensi siswa mendorong untuk dapat mengenalan metode yang *up to date* sangat diperlukan kepada siswa.

Berdasarkan latar belakang tersebut prodi TLM, UMSIDA yang memiliki keunggulan diagnosis molecular melakukan kegiatan pengenalan dan workshop metode biologi molecular untuk diagnosis penyakit kepada SMK Mitra, Sehat Sidoarjo. Pengenalan tahapan tersebut dimulai dari pre analitik, meliputi pengambilan sampel, dan isolasi DNA. Kegiatan analitik meliputi PCR dan analisis hasil melalui gel agarose serta kegiatan post analitik meliputi pengeluaran hasil.

METODE

Kegiatan pengabdian masyarakat ini dilakukan pada bulan Maret 2023 bertempat di laboratorium Biologi Molekular, Fakultas ilmu kesehatan Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. Peserta pelatihan terdiri atas 24 orang siswa dari SMK Mitra Sehat Sidoarjo. Siswa dibagi menjadi enam kelompok secara acak dari kelas 10 sampai kelas 12. Masing masing kelompok diberi satu sampel dan beberapa reagen. Kegiatan dibantu oleh 4 orang Asisten yang selalu siap siaga ketika terdapat kelompok yang mengalami kesulitan. Evaluasi kegiatan dilakukan dengan dilakukan pretest dan posttest dilakukan untuk mengetahui perkembangan siswa.

Pengarahan

Sebelum dilakukan kegiatan, praktikan diberikan arahan mengenai beberapa alat dasar, kondisi standar laboratorium, dan mekanisme kerja untuk melakukan kegiatan pemeriksaan laboratorium biologi molekular. Para peserta juga dibekali dengan modul (*handbook*) yang menuntun kegiatan. Setelah semua siap maka kegiatan dapat di mulai.

Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan dalam kegiatan ini adalah feses kucing yang diperoleh dari pasar tradisional di sekitar kampus 3 UMSIDA, sampel berupa sampel basah yang di masukkan kedalam 1,5 mL tube. Untuk melakukan isolasi DNA maka preparasi yang dilakukan adalah melarutkan feses (kurang lebih 0,1-0,5 gr) dengan NaCl 1,5 ml, kemudian homogenkan dengan cara di vortex. Setelah homogen, kemudian sampel dibiarkan selama 15 menit. Tahap ini memberi kesempatan telur cacing mengapung. Setelah itu, Ambil supernatant (ambil bagian paling atas) sebanyak 750 ul. Sampel kemudian disentrifuge dengan kecepatan 2500 rpm sepuluh menit. Setelah sentrifugasi selesai maka buang bagian supernatant sisakan pellet. Setelah pellete didapatkan maka dapat dilakukan isolasi DNA metode resin.

Isolasi DNA

Isolasi DNA dilakukan pada sampel hasil preparasi sampel sebelumnya dan diisolasi menggunakan metode resin [10]. Sampel ditambahkan pellete dengan 1 ml ddH₂O, kemudian vortex sampai homogen. Setelah itu sampel disentrifuge dengan kecepatan 12.000 rpm. Selanjutnya sepernatan dibuang. Tambahkan 100 µl instagen dan incubasi 100 C selama 8 menit (standar yang digunakan di kit reagen adalah 200 µl, karena dalam pemeriksaan tidak harus banyak bisa diminimalisir volume yang digunakan). Vortex lagi selama 10 detik selanjutnya sentrifuge lagi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 3 menit. Untuk proses PCR usahkan pellete dan supernatant tidak bercampur dan gunakan bagian supernatant. Sampel sisa PCR dapat disimpan dalam lemari pendingin suhu -20 sampai 4 °C. Apabila digunakan untuk kedua kali maka ulangi proses sentrifugasi.

Polimerase Chain Reaction (PCR)

Komposisi PCR yang digunakan adalah adalah primer forward 1 µl, primer reverse 1 µl, DNA 5 µl, ddH₂O 3 µl, dan

PCR mix 10 µl. Primer forward yang digunakan adalah 5'- ATG TGC CAC CTC GCC TCT TGG -3' dan primer reverse 5'- GAA CTG TAA TGT GAT ACT GTG -3'[11]. Setelah semua dipipete ke dalam PCR tube maka sampel dimasukkan kedalam thermocycler BioRad 100.

Proses	Suhu	Lama
Pre- Denaturasi Denaturasi Annealing Extension Post Extension HoldSiklus	94°C94°C54°C72°C72°C4 °C20 siklus	3 menit 20 detik 20 detik 20 detik 1 menit-

Table 1. Siklus PCR yang digunakan untuk mendeteksi *Toxoplasma gondii*

Gel agarose elektroforesis

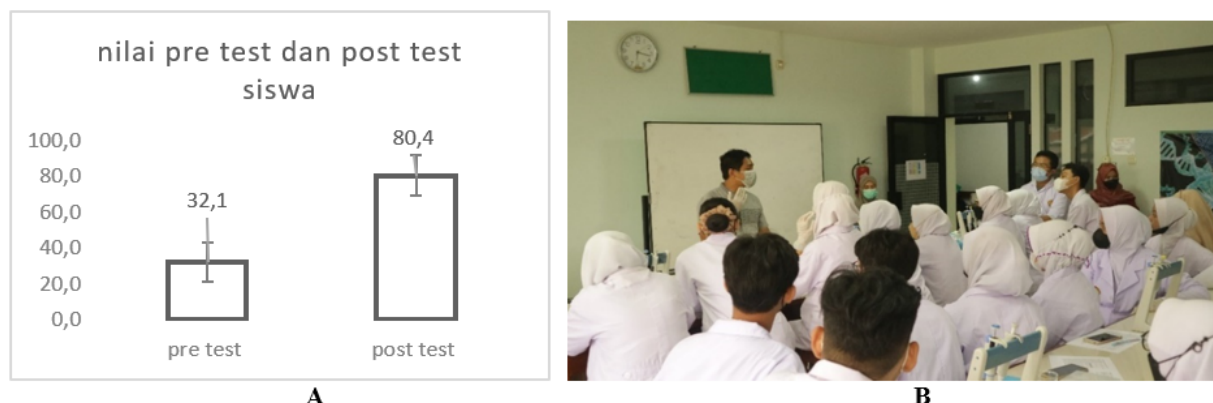
Proses elektroforesis yang digunakan adalah 1 % menggunakan tray kecil dengan volume 20 ul. Adapun tahapan dari proses elektroforesis adalah timbang 0,2-gram agarose dan dilarutkan dalam 20 ml TBE dalam erlenmeyer. Kemudian, panaskan menggunakan microwave selama 1 menit, pastikan sudah homogen yang di tandai dengan warna bening bebas dari butiran agarose. Setelah itu, biarkan dingin sampai sekitar 70 °C, masukkan 1,5 ul gel red, kemudian homogenkan. Tray dan comb disusun untuk mencetak agarose, larutan dituang ke tray secara hati hati dan pastikan tidak ada gelembung dan tunggu hingga benar benar dingin. Loading dan running Elektroforesis dengan campuran 2 ul Hasil PCR, 1 ul loading dye dan, 2 ul ddH₂O. Running 20 menit pada 100 volt, kemudian dibaca pada UV transilluminator [12].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Workshop yang merupakan kegiatan pengabdian masyarakat diadakan untuk meningkatkan pengetahuan dan kompetensi siswa. Berdasarkan diskusi dengan pihak jurusan di SMK, dapat dijelaskan bahwa pemeriksaan berbasis molekular belum masuk di kurikulum dan belum pernah dikenalkan sebelumnya. Hal ini menjadi tantangan dan pengembangan siswa untuk memberikan wawasan baru. Pemeriksaan yang dilakukan dengan menggunakan metode yang singkat dan sampel yang mudah di dapat yaitu fases kucing yang kemungkinan terdapat toxoplasma gondii di dalamnya.

Toxoplasma gondii merupakan parasite yang menyebabkan Toxoplasmosis atau keluarga dari penyakit TORCH. Wanita yang mengalami infeksi penyakit tersebut dapat terganggu proses kehamilannya. Secara laboratorium identifikasi torch dapat menggunakan immunoserologi (IgG dan IgM). Metode lain yang dapat digunakan adalah microscopi dengan pewarnaan, akan tetapi dalam aplikasinya membutuhkan waktu yang lama dan ketelitian yang tinggi. Pada kegiatan ini para siswa sebanyak 24 anak diberi pengarahan terlebih dahulu mengenai cara kerja pemeriksaan berbasis perbanyak materi genetic (NAATs). Untuk mendeteksi suatu parasite maka yang diidentifikasi adalah gen yang mampu menjadi barcode pada individu tersebut. Berdasarkan penelitian laboratorium yang pernah dilakukan maka penelitian ini menggunakan gen B1 sebagai marker.

Sebelum melakukan praktikum langsung para peserta diberi pre test untuk mengukur pengetahuan siswa. Di dapatkan hasil pretest yang cukup rendah yaitu 32,1 % dari 20 pertanyaan yang diajukan. Setelah itu, praktikum yang lakukan berdasarkan modul yang diberikan, untuk mempersingkat waktu metode standart yang ada pada rujukan dipersingkat (lihat metodologi). Untuk pembuatan agarose disediakan oleh asisten dosen sehingga siswa tinggal load sampel ke cetakan agar.



Gambar 1. Nilai pre Test dan post Test (A, n=24), dan pengarahan sebelum praktikum dilakukan (B).

Figure 1. Nilai pre Test dan post Test (A, n=24), dan pengarahan sebelum praktikum dilakukan (B)

Selama kegiatan dilakukan kendala yang dihadapi oleh praktikan adalah belum terbiasanya menggunakan bermain dengan higene yang tinggi. Permasalahan kedua adalah sista kesulitan didalam melakukan pippeting, karena pippeting yang dilakukan menggunakan volume yang relative kecil dibandingkan pemeriksaan dengan metode lain, seperti hematologi, dan kimia klinik. Kesulitan utama terutama pada proses loading ke gel agarose. Proses kegiatan berjalan lancar. Berdasarkan kegiatan yang dilakukan, Preparasi sampel bertujuan untuk memisahkan toxoplasma dengan zat yang tidak diinginkan seperti debres dan kotoran. Penggunaan NaCl mengadopsi dari metode *Floating Microscopic* yang memungkinkan Toxoplasma akan terapung pada bagian atas. Sampel tersebut kemudian akan disentrifugasi, sehingga Toxoplasma akan mengendap pada bagian bawah, dan ini yang digunakan sebagai sampel dalam analisis.

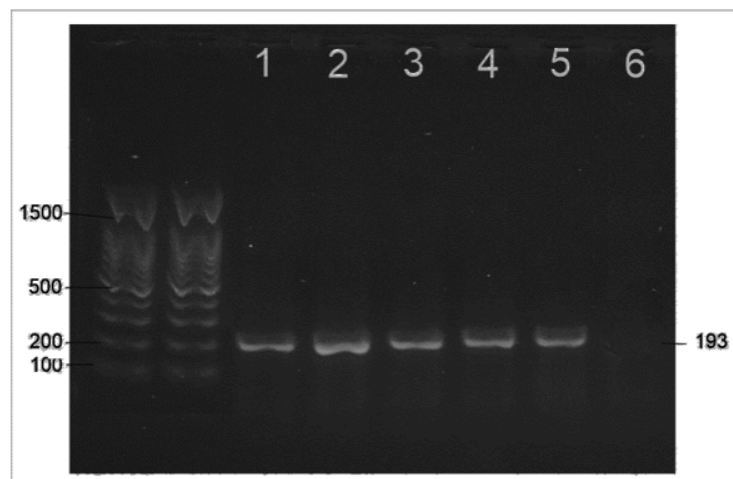
Isolasi DNA dilakukan pada sampel hasil preparasi sampel. Sampel yang telah mengendap sebelumnya kemudian dilakukan lisis sekaligus pengeluaran materi genetic menggunakan metode resin. Keunggulan metode tersebut terletak pada waktu yang dibutuhkan yang relative singkat yaitu sekitar 20 menit saja. Waktu tersebut jauh lebih singkat dibandingkan dengan metode lain seperti spin column yang membutuhkan waktu kurang lebih 2 jam [13]. Selama kegiatan berlangsung tidak ada kendala berarti didalam jalannya kegiatan.

Pada tahap PCR dilakukan dengan mencampurkan beberapa bahan. Yaitu sampel hasil dari isolasi DNA, kemudian Primer Forward dan Primer Reverse, serta PCR mix dan penambahan ddH₂O. mulai dari tahapan ini para praktikan agak kesulitan didalam mempippet. Kesulitan tersebut dikarenakan beberapa hal diantaranya 1. Para praktikan baru pertama kali dalam melakukan kegiatan terutama di bidang biologi molecular, hal ini menyebabkan tangan masih gemeteran. 2. Posisi dalam pipetting tidak terbiasa dalam keadaan duduk, ini sangat berpengaruh apabila yang dipippet dalam volume kecil. Kegiatan selanjutnya adalah elektroforesis.

Berdasarkan praktikum yang telah dilakukan, maka didapatkan hasil yang dilakukan didapatkan 5 dari 6 sampel ditemukan band sepanjang 319 bp. Hasil tersebut dapat dilihat pada Gambar 2. Hasil dari Post-test menunjukkan hasil yang berbeda signifikan 80.4 % dari soal yang diberikan.



A



B

Gambar 2. Siswa memasukkan sampel ke dalam gel Agorose (A), dan hasil gel agarose elektroforesis (B).

Figure 2. Siswa memasukkan sampel ke dalam gel Agorose (A), dan hasil gel agarose elektroforesis (B)

SIMPULAN

Pengabdian masyarakat dengan memperkenalkan metode biologi molekular untuk mendeteksi adanya toxoplasma gondii berjalan dengan baik, hal ini dibuktikan dengan meningkatnya nilai pretest dan posttest siswa. Selain itu metode yang merupakan metode modifikasi guna mempercepat berjalannya workshop dapat mengamplifikasi dan mendeteksi toxoplasma dengan baik pada panjang band 193 bp.

References

1. C. A. Holland and F. L. Kiechle, "Point-of-care molecular diagnostic systems — past, present and future," *Trends Microbiol*, vol. 13, no. 11, pp. 517-523, Nov. 2005, doi: 10.1016/j.mib.2005.08.001.
2. H. Vira, V. Bhat, and P. Chavan, "Diagnostic molecular microbiology and its applications: Current and future

- perspectives," *Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 1, no. 1, pp. 20–31, 2016, doi: 10.15761/CMID.1000105.
3. L. Wang, Y. Wang, D. Ye, and Q. Liu, "Review of the 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) based on current evidence," *Int. J. Antimicrob. Agents*, vol. 55, no. 6, p. 105948, Jun. 2020, doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105948.
 4. C. M. Chan et al., "Single-tube nested PCR in the diagnosis of tuberculosis," *J. Clin. Pathol.*, vol. 49, no. 4, pp. 290–294, Apr. 1996, doi: 10.1136/jcp.49.4.290.
 5. A. Aliviameita et al., "Detection of *Salmonella typhi* Using Multiplex and Monoplex PCR in Typhoid Fever Patients," *Med. Lab. Technol. J.*, vol. 3, no. 1, 2019, doi: 10.31964/mltj.v0i0.230.
 6. O. Article, "Evaluation of Cancer Risk Induced by Radiation Exposure from Normal Head CT Scans," vol. 10, no. 3, pp. 5–10, 2023.
 7. W. D. Foulkes et al., "Diabetes and breast cancer among women with BRCA1 and BRCA2 mutations," *Cancer*, vol. 117, no. 9, pp. 1812–1818, May 2010, doi: 10.1002/cncr.25595.
 8. M. Mushlih, F. K. Sari, D. A. Hadie, and S. Ardiyansyah, "Genetic Polymorphism in Individuals With Type II Diabetes Mellitus Using PCR-RAPD in Sidoarjo District," pp. 153–159, 2021.
 9. M. Mushlih, F. K. Sari, H. S. Amin, and S. A. Iknan, "Identification of Molecular Markers for Type 2 Diabetes Mellitus in Sidoarjo, Indonesia," *J. Technol. Lab.*, vol. 9, no. 2, pp. 186–191, 2020, doi: 10.1525/9780520974166-002.
 10. L. D. Jayanti and M. Mushlih, "Comparison of the Quality of DNA Template Isolation Results of the Resin Method with and Without Centrifugation," pp. 1–9, 2021, doi: 10.21070/ijins.v15i.551.
 11. M. Mushlih, A. Nurfitriana, K. W. Ningsih, N. Azizah, N. L. Ariani, and I. Lubiz, "Perbandingan Identifikasi *Toxoplasma gondii* Menggunakan Metode PCR dan Metode Elfa," *J. Poltekkes Denpasar*, vol. 8, no. 6, pp. 101–108, 2020.
 12. M. Mushlih, S. N. M. Tis'iyah, C. S. Rini, and A. K. Sari, "Specific Primer Design of Leucine Rich Repeats and Guanylate Kinase Domain Containing (LRGUK) Genes in Type II Diabetes Mellitus Patients," *Med. Technol. Public Heal. J.*, vol. 6, pp. 2045, 2022, doi: 10.33086/mtphj.v6i2.3476.
 13. D. Apriliana and M. Mushlih, "Comparison of PCR (Polymerase Chain Reaction) Results Using DNA Template Isolation Results with Column and Resin Methods," *Indones. J. Innov. Stud.*, vol. 15, pp. 1–9, 2021, doi: 10.21070/ijins.v15i.548.