

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kandidiasis merupakan infeksi jamur pada permukaan mukosa manusia sejak setelah lahir, menginfeksi kulit, kuku, selaput lendir mulut atau vagina dan organ tubuh lain. Hampir 1 milyar orang di dunia mengalami infeksi jamur dan 10 juta diantaranya mengalami kandidiasis. Kandidiasis di Indonesia menempati urutan pertama penyebab dermatomikosis di beberapa kota seperti di Makassar, Medan, dan Denpasar. (Bongomin, dkk., 2017; Soetojo, 2016; Jawetz, dkk., 2014)

Salah satu penyebab kandidiasis adalah jamur *Candida albicans* yang dapat dideteksi dengan pemeriksaan laboratorium. Pemeriksaan tersebut diantaranya pemeriksaan mikroskopis menggunakan KOH 10% dan pewarnaan Gram. Ada juga pemeriksaan biakan dengan menanam sampel pada media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA), *Corn Meal Candida Agar* (CMCA) atau *CHROMAgar*. Waktu inkubasi biakan 24-72 jam dilanjutkan tahapan identifikasi yang memakan waktu hingga 10 hari. (Riskillah, 2010; Mutiawati, 2016)

Pemeriksaan berbasis molekuler dilakukan dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Pemeriksaan ini lebih singkat sehingga membantu diagnosa lebih cepat. PCR sudah dijadikan standar pemeriksaan di banyak negara terkait keterjangkauan dan reproduksibilitasnya. Pemeriksaan dengan metode PCR dianggap memiliki sensitivitas yang lebih baik dalam mendeteksi infeksi jamur patogen. (Mutiawati, 2016; Arastehfar dkk., 2019; Khlif dkk., 2009)

PCR adalah metode yang digunakan untuk mengamplifikasi potongan DNA. Pada tahun 1993, diperkenalkan metode *Real Time Polymerase Chain Reaction (Real Time PCR)* yang mampu memantau pembentukan produk PCR secara komputersasi bersamaan dengan proses amplifikasinya. *Real Time PCR* mengurangi resiko yang mungkin terjadi pada tahapan pasca PCR pada PCR konvensional seperti resiko kontaminasi dan paparan *Ethidium Bromide (EtBR)* yang karsinogenik. (Khlif, dkk., 2009; Ma, dkk., 2006)

Untuk mendapatkan komposisi dan kondisi PCR yang sesuai, optimasi dilakukan dengan memvariasikan tahapan PCR baik waktu, suhu dan komposisi PCR lainnya. Suhu *annealing* yang umum dipakai adalah 37°C - 56°C atau 5°C di bawah *temperature melting* (T_m) primer. Jika terlalu rendah, dapat terjadi *mispriming* membentuk *multiple band*. Suhu terlalu tinggi menghasilkan produk PCR yang tidak sempurna. Penelitian El-Naggar, dkk. (2010) menggunakan primer ITS5 dan ITS4 dengan suhu *annealing* 65 °C . Harmal, dkk. (2013), Mirhendi dan Makimura (2003) menggunakan primer ITS1 dan ITS2 dengan suhu *annealing* 55°C dan Zhang dkk. (2016) menggunakan primer ITS1 dan ITS2 dengan suhu *annealing* 60°C. (Yuenleni, 2019; Nurhayati dan Darmawati, 2017)

Komponen lain yang mempengaruhi tahapan *annealing* adalah konsentrasi primer karena berkaitan dengan T_m primer. Primer merupakan potongan asam nukleat yang berkomplemen dengan cetakan DNA dan bertindak sebagai pembatas target DNA. Konsentrasi terlalu rendah menyebabkan tidak terjadinya amplifikasi dan produk PCR. Konsentrasi yang terlalu tinggi menghasilkan produk PCR yang semakin tidak spesifik dan terjadinya *secondary priming*.

Berbagai konsentrasi primer digunakan dalam penelitian terdahulu diantaranya Mirhendi dan Makimura (2003) menggunakan primer dengan konsentrasi 50 pmol. Nabili, dkk (2013) menggunakan primer dengan konsentrasi 12,5 pmol, dan Harmal dkk (2013) menggunakan primer dengan konsentrasi 0,4 pmol/ μ l (Yuenleni, 2019; Nurhayati dan Darmawati, 2017, Biosyn; *Thermofisher Scientific*).

Berdasarkan latar belakang tersebut, penulis tertarik untuk melakukan penelitian studi literatur mengenai “*Optimasi Suhu Annealing dan Konsentrasi Primer ITS5 dan ITS4 untuk Deteksi Candida albicans Metode Real Time PCR*”.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan di atas, maka diperoleh rumusan masalah sebagai berikut:

1. Berapa suhu *annealing* yang optimum untuk deteksi *Candida albicans* dengan metode *Real Time* PCR berdasarkan studi literatur?
2. Berapa konsentrasi primer yang optimum untuk deteksi *Candida albicans* dengan metode *Real Time* PCR berdasarkan studi literatur?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas maka tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui suhu *annealing* yang optimum untuk deteksi *Candida albicans* dengan metode *Real Time* PCR berdasarkan studi literatur.

2. Mengetahui konsentrasi primer yang optimum untuk deteksi *Candida albicans* dengan metode *Real Time* PCR berdasarkan studi literatur.

1.4 Manfaat

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Bagi Institusi

Sebagai informasi yang dapat dipergunakan dalam melakukan pemeriksaan sampel *Candida albicans* dengan metode yang memberikan hasil yang lebih optimal.

2. Bagi penulis

Menambah pengetahuan dalam bidang keilmuan Biologi Molekuler dan Mikologi serta aplikasi dari pengetahuan akademik.