

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Malaria merupakan suatu penyakit infeksi yang disebabkan oleh parasit dari genus *Plasmodium*. Parasit ini menular kepada manusia melalui gigitan nyamuk *Anopheles* betina. Ada lima jenis *Plasmodium* yang dapat menginfeksi manusia, yaitu *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale*, dan *Plasmodium knowlesi*. *Plasmodium vivax* menjadi jenis yang tersebar luas di berbagai dunia sebagai penyebab malaria (Kemenkes, 2013; WHO, 2018). Penyakit ini menyerang berbagai organ tubuh dan merusak sel darah merah yang dapat menyebabkan gejala anemia, demam dan pembesaran limpa (splenomegali). Keadaan ini dapat memengaruhi organ-organ seperti otak, hati dan ginjal, menciptakan kondisi yang mendukung pertumbuhan dan perkembangan parasit di dalam tubuh (Rokhayati dkk, 2022)..

Plasmodium vivax merupakan satu dari dua jenis spesies yang memiliki bagian terbesar dalam menyebabkan infeksi malaria setelah *Plasmodium falciparum*. Secara global, 53% dari total kasus *Plasmodium vivax* terjadi di wilayah Asia Tenggara, dengan mayoritas kasus terjadi di India (Geneva: World Health Organization, 2019). Di Indonesia *Plasmodium vivax* menjadi masalah kesehatan yang serius dan menantang karena resisten terhadap obat anti malaria (klorokuin). Risiko tertinggi terjadinya malaria berada di wilayah Indonesia Timur, terutama Nusa Tenggara Timur, Maluku dan Papua (Febriani, 2021). *Plasmodium vivax* hanya menginfeksi eritrosit muda sehingga menghasilkan kepadatan parasit

yang rendah dalam darah. Selain itu, adanya fase hipnozoit pada *Plasmodium vivax* dapat menyebabkan kambuh pada penderita. Membuat *Plasmodium vivax* sulit dideteksi dan memerlukan metode diagnosis yang akurat (Kemenkes, 2013; WHO, 2015).

Salah satu strategi untuk melawan malaria adalah melalui diagnosis yang akurat. Diagnosis malaria dapat ditegakkan melalui beberapa metode, termasuk pemeriksaan mikroskopis, uji imunoserologi Rapid Diagnostic Test (RDT) dan Teknik molekular *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang bermanfaat untuk mendeteksi keberadaan *Plasmodium* di dalam tubuh (Alydrus et al,2020). Kemajuan dalam bidang biologi molekuler memungkinkan penggunaan metode PCR yang lebih sensitif dan spesifik dalam diagnosis malaria, karena mampu mendeteksi DNA pada parasitemia ≤ 5 parasit/ μ L. Saat ini dikembangkan kit diagnostik untuk mendeteksi gen 18S rRNA *Plasmodium vivax* berbasis real-time PCR.

Gen 18S rRNA merupakan komponen kecil dari subunit ribosom sel eukariotik yang merupakan salah satu komponen dasar semua sel eukariotik. Gen subunit kecil 18S rRNA adalah salah satu gen yang paling sering digunakan dalam studi filogenetik dan merupakan penanda penting untuk target gen PCR dalam skrining keanekaragaman hayati lingkungan (Meyer et al. 2010). real-time PCR adalah modifikasi dari metode PCR, Metode ini digunakan untuk mengamplifikasi dan sekaligus mengukur jumlah molekul DNA target yang telah diamplifikasi. Dalam real-time PCR, data fluoresensi yang dihasilkan dari proses amplifikasi dapat diamati secara langsung selama proses amplifikasi sedang berlangsung, tanpa

perlu menunggu siklus amplifikasi selesai. Metode real-time PCR bisa digunakan sebagai cara cepat dan spesifik untuk mendiagnosa *Plasmodium vivax*. Dalam pengembangan kit diagnostik berbasis real-time PCR diperlukan optimasi dan validasi metode. Optimasi dilakukan untuk efisiensi waktu dan penggunaan bahan, serta memastikan kondisi PCR dan penggunaan bahan dalam metode tersebut dapat memberikan hasil yang optimum dalam mendeteksi patogen dengan cepat dan tepat (Joko et al.,2011). Optimasi terhadap kondisi PCR telah dilakukan oleh Sri Rahayu (2023) dengan hasil penelitian proses Pre-Denaturasi 95°C 2 menit 1 siklus, Denaturasi 95°C 15 detik 40 siklus, Annealing 59°C 1 menit 40 siklus dan Extention 60°C 1 menit 40 siklus.

Validasi metode dalam identifikasi *Plasmodium vivax* juga diperlukan dan ini belum dilakukan oleh peneliti sebelumnya. Validasi metode digunakan untuk memastikan bahwa hasil yang didapatkan dari metode optimal telah sesuai dengan tujuan penggunaannya dan data yang dihasilkan akurat. Validasi metode sangat diperlukan karena beberapa alasan, yaitu validasi metode adalah persyaratan peraturan dan elemen penting dari kontrol kualitas, serta membantu memberikan jaminan bahwa pengukuran akan dapat diandalkan dalam beberapa bidang (Riyanto, 2014). Parameter untuk validasi metode yang digunakan seperti spesifisitas, limit deteksi, spesifisitas dan selektivitas. Namun, pada penelitian ini hanya difokuskan pada spesifisitas. Spesifisitas merupakan salah satu parameter yang digunakan dalam validasi pengujian molekuler. Ini merujuk pada kemampuan pengujian untuk mengidentifikasi hanya sasaran yang dimaksudkan dan mengukur jumlahnya tanpa terpengaruh oleh reaktivitas terhadap substansi terkait atau

gangguan potensial lainnya (CLSI 2010). Dalam hal ini, primer dapat menjadi faktor yang memengaruhi spesifisitas tes (Misvayanty et al., 2017)

Primer mempengaruhi spesifisitas dalam reaksi PCR. Rancangan primer yang kurang baik dapat membuat produk primer yang dihasilkan tidak spesifik dan menghasilkan primer dimer (Yustinadewi et al., 2018). Pada penelitian sebelumnya, Septia Khumairoh (2023) telah merancang primer 18S rRNA, namun spesifisitasnya belum dipastikan secara Laboratorium. Meskipun peneliti sebelumnya telah mengoptimalkan kondisi PCR menggunakan sampel yang telah dikonfirmasi mengandung *Plasmodium vivax*, namun belum bisa dipastikan apakah primer tersebut tetap spesifik ketika diuji pada sampel dari jenis *Plasmodium* lainnya.

Berdasarkan latar belakang di atas peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang “Penentuan Spesifisitas Primer 18S rRNA untuk Mendeteksi *Plasmodium vivax* metode Real-Time PCR”.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, didapatkan rumusan masalah yaitu, bagaimana spesifisitas primer 18S rRNA dalam mendeteksi *Plasmodium vivax* dengan metode real-time PCR?

1.3 Tujuan

Untuk mengetahui spesifisitas primer 18S rRNA dalam mendeteksi *Plasmodium vivax* metode real-time PCR.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Penulis

Untuk menambah wawasan dan penerapan ilmu yang didapat selama mengikuti perkuliahan di Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Bandung dan mendapat pengalaman mengenai penggunaan *Real Time* PCR.

1.4.2 Bagi Instansi Akademik

Untuk menjadi tambahan referensi dalam perkuliahan dan penelitian-penelitian sejenis terutama pada mata kuliah Biologi Molekuler di Poltekkes Kemenkes Bandung.