

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit menular masih menjadi masalah kesehatan di Indonesia, salah satunya adalah Hepatitis. Jenis Hepatitis yang banyak menginfeksi penduduk Indonesia hingga 21,8% adalah Hepatitis B, yakni infeksi hati yang disebabkan oleh Virus Hepatitis B (VHB) (Infodatin, 2018; CDC, 2019). WHO memperkirakan bahwa pada tahun 2015 sekitar 257 juta orang di dunia hidup dengan infeksi VHB kronis dan sebanyak 1,34 juta penduduk dunia meninggal karena Hepatitis (WHO, 2017). Hasil Riskesdas 2018 menunjukkan adanya peningkatan prevalensi Hepatitis di Indonesia dari 0,2% menjadi 0,4%.

Secara umum, pemeriksaan infeksi VHB dapat dilakukan dengan metode serologis atau deteksi DNA VHB dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) (EASL, 2017; Armas Cayarga *et al.*, 2019). Metode PCR semakin banyak digunakan karena sensitivitas dan spesifisitas yang lebih tinggi dibandingkan metode serologis. Saat ini, *Real-time* PCR mulai banyak digunakan dibandingkan dengan PCR konvensional, karena dari segi teknis maupun praktis lebih menguntungkan (Abbas, Rasool and Afroze, 2005; Ghosh *et al.*, 2015).

Ada beberapa komponen *Real-Time* PCR yang perlu diperhatikan, salah satunya adalah primer. Primer yang dibahas dalam penelitian ini adalah primer gen pengkode *Hepatitis B core Antigen* (HBcAg). Untuk mengoptimalkan deteksi DNA VHB menggunakan *Real-Time* PCR, perlu dilakukan optimasi proses PCR.

Optimasi bertujuan agar proses amplifikasi DNA lebih efisien dan produk yang dihasilkan sesuai dengan yang diinginkan (Anwar, Mustopa, Ningrum, & Suharsono, 2019; Mulyanto et al., 2009; Yano, Utsumi, Lusida, dan Hayashi, 2015). Optimasi dilakukan dengan cara memvariasikan kondisi yang digunakan pada proses PCR tersebut, diantaranya pada suhu *annealing* dan konsentrasi primer (Handoyo and Rudiretna, 2001; Blirt, 2016).

Tahapan PCR yang paling kritis adalah suhu *annealing*. Suhu *Annealing* yang biasa digunakan untuk amplifikasi DNA VHB adalah 55°C. Aturan umum menyatakan bahwa suhu *annealing* biasanya 3-5°C lebih rendah dari *Temperature melting* (T_m) primer yang dipilih untuk amplifikasi DNA. T_m merupakan suhu dimana 50% pasang primer terpisah. Dengan mengatur suhu lebih rendah, primer tersebut akan seluruhnya terpisah dan terjadi penempelan primer terhadap urutan komplementer pada DNA target (Oliosio et al., 2007; Liu et al., 2017). Optimasi suhu *annealing* penting dilakukan agar produk PCR yang didapatkan lebih efektif dan spesifik. Jika suhu *annealing* terlalu tinggi, ikatan antara primer dengan templat DNA menjadi tidak efektif, sehingga produk PCR yang dihasilkan rendah atau bahkan tidak ada. Namun, jika suhunya terlalu rendah, dapat terjadi ikatan yang tidak spesifik (Blirt, 2016; Thermofisher Scientific, 2016).

Optimasi terhadap konsentrasi primer juga penting untuk dilakukan. Konsentrasi primer yang direkomendasikan untuk PCR adalah antara 0,1 μM dan 1 μM . Penggunaan konsentrasi primer yang terlalu tinggi, maka hanya akan menghasilkan dimer primer dan tidak meningkatkan amplifikasi DNA. Jika konsentrasinya terlalu rendah, akan terjadi ikatan primer non-spesifik yang dapat

meningkatkan risiko hasil negatif palsu dan mengurangi sensitivitas reaksi PCR (Gunson, Gillespie and Carman, 2003; Behlke, Jäger and Brown, 2019).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka penulis tertarik untuk melakukan studi literatur tentang optimasi suhu *annealing* dan konsentrasi primer gen pengkode Hepatitis B *core* Antigen untuk deteksi Virus Hepatitis B metode *Real-Time* PCR. Di dalam penelitian ini akan ditampilkan beberapa data hasil *resume* dari beberapa literatur yang mendukung hasil uji studi literatur ini.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, didapatkan rumusan masalah sebagai berikut:

1. Berapakah rentang suhu *annealing* yang optimal dan paling umum digunakan untuk deteksi Virus Hepatitis B menggunakan *Real-Time* PCR dari hasil studi literatur?
2. Berapakah rentang konsentrasi primer yang optimal dan paling umum digunakan untuk deteksi Virus Hepatitis B menggunakan *Real-Time* PCR dari hasil studi literatur?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui rentang suhu *annealing* yang optimal dan paling umum digunakan untuk deteksi Virus Hepatitis B menggunakan *Real-Time* PCR dari hasil studi literatur.

2. Mengetahui rentang konsentrasi primer yang optimal dan paling umum digunakan untuk deteksi Virus Hepatitis B menggunakan *Real-Time* PCR dari hasil studi literatur.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Meningkatkan ilmu pengetahuan dibidang Biologi Molekuler terutama mengenai optimasi untuk deteksi Virus Hepatitis B menggunakan *Real-Time* PCR.

1.4.2 Bagi Institusi Pendidikan

Menjadi salah satu literatur bagi mahasiswa lain yang akan melakukan penelitian di bidang Biologi Molekuler serta menjadi referensi pustaka.

1.4.3 Bagi Tenaga Kesehatan

Menjadi tambahan referensi bagi penelitian selanjutnya untuk pengembangan pemeriksaan Virus Hepatitis B dengan metode Biologi Molekuler.