

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Angka kejadian penyakit yang disebabkan oleh parasit di daerah Indonesia masih sangat tinggi salah satunya malaria. Hal ini dikarenakan Indonesia beriklim tropis, sehingga penyebarannya juga meningkat. Malaria di Indonesia masih menjadi permasalahan kesehatan serius terutama di daerah kawasan timur seperti Papua, Irian Jaya Barat, Maluku dan NTT. Berdasarkan *Annual Parasite Incidence* (API) pada tahun 2018, jumlah kasus positif malaria per 1.000 penduduk dalam satu tahun sebesar 0,68%. Pada tahun 2018 *World Health Organization* (WHO) juga memperkirakan 228 juta kasus dengan lebih dari 400 ribu orang meninggal terinfeksi malaria (Kementerian Kesehatan RI, 2018).

Malaria merupakan suatu penyakit akut maupun kronik disebabkan oleh parasit genus *Plasmodium* yang ditularkan pada manusia melalui gigitan nyamuk dengan manifestasi menyerang eritrosit dan ditandai ditemukannya bentuk aseksual *Plasmodium* sp dalam darah (Laishram et al, 2012). Salah satu parasit menyebabkan malaria yaitu *Plasmodium falciparum*, yang merupakan penyebab malaria terbanyak dan menyebabkan kematian paling utama. Menurut WHO pada tahun 2018 ditemukan kasus malaria sebesar 99,7% di Afrika, 50% di Asia Tenggara dan 71% di Mediterania Timur malaria disebabkan oleh *Plasmodium falciparum* (WHO, 2019).

Dalam menentukan metode diagnosis klinis yang tepat untuk mengetahui ada tidaknya infeksi pada manusia diperlukan pemeriksaan laboratorium. Salah satunya yaitu pemeriksaan mikroskopis darah yang masih menjadi standar baku (*gold standard*) (Kementerian Kesehatan RI, 2018). Namun, pemeriksaan mikroskopis ini memiliki beberapa kelemahan yaitu memerlukan ketersediaan mikroskop cahaya yang memadai, tenaga pemeriksa yang terampil dan batas deteksi 50 - 100 parasit/ μ L darah. Dengan berkembangnya teknologi, saat ini diagnosis klinis berbasis Biologi Molekuler sudah mulai dikembangkan dengan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) (Siahaan, 2018; Herman et al, 2011).

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan proses biokimia yang menyalin dan amplifikasi *template* DNA dalam jumlah banyak menggunakan DNA polimerase yang stabil. Salah satu PCR yang biasa digunakan di laboratorium diagnostik yaitu *Real-Time* PCR (Lotfis, et al, 2014). *Real-Time* PCR memiliki beberapa keuntungan diantaranya yaitu memiliki kemampuan untuk memantau kemajuan reaksi PCR yang terjadi secara *real-time*, pembacaan secara langsung dengan menganalisis kurva Ct yang terbentuk, kemampuan untuk mengukur jumlah ampikon pada setiap siklus, lebih sensitif dan spesifik serta meminimalisir kontaminasi (BioRad, 2012). Pemeriksaan ini menjadi metode untuk mendeteksi *Plasmodium sp* yang sensitif karena dapat mendeteksi level parasitemia yang sangat rendah dengan jumlah sedikit sampai dengan 1 - 5 parasit/ μ L (Herman et al.,2011).

Untuk mendapatkan hasil *Real-Time* PCR yang optimal perlu dilakukan dengan cara memvariasikan kondisi yang digunakan pada proses PCR tersebut. Optimasi tersebut berkaitan dengan konsentrasi, volume, jumlah siklus, suhu maupun kondisi lingkungan. Optimasi ini bertujuan agar proses amplifikasi DNA lebih efisien dan produk yang dihasilkan sesuai dengan yang diinginkan (Blirt, 2016; Handoyo et al., 2001). Pada suhu *extention* juga perlu dilakukan optimasi untuk memastikan pemanjangan primer dan aktivitas enzim berlangsung maksimal (Thermofisher, 2016). Suhu *extention* di dalam proses pemanjangan dipengaruhi oleh enzim dan peranan dNTP (Biolabs, 2015). Suhu *extension* yang direkomendasikan dalam proses siklus amplifikasi yaitu 68°C. Berdasarkan penelitian Shazia Ruybal Pesantez pada tahun 2017, dalam siklus amplifikasi DNA *Plasmodium falciparum* dapat menggunakan suhu *extention* 65°C (Pesantez et al., 2017). Selain itu, hasil penelitian tahun 2011 oleh Maria Jose Lopez Barragan, *Plasmodium falciparum* memiliki genom yang kaya basa A+T sehingga suhu *extention* dapat diturunkan dari 70°C hingga 60°C. DNA *Plasmodium falciparum* dapat diamplifikasi menggunakan suhu *extention* 60°C (Barragan et al., 2011).

Optimasi terhadap konsentrasi DNA juga merupakan hal penting untuk dilakukan. Konsentrasi DNA yang direkomendasikan untuk PCR yaitu 1 - 10 ng/ μ L. Jika konsentrasinya terlalu rendah, maka primer mungkin tidak dapat menemukan target, dan sebaliknya bila terlalu tinggi akan meningkatkan kemungkinan salah tempel (*mispriming*), yaitu penempelan primer di luar sekuen target (Zein, 2013).

Berdasarkan hal-hal di atas, maka penulis tertarik untuk melakukan studi literatur mengenai “Optimasi Suhu *Extension* dan Konsentrasi DNA untuk Deteksi *Plasmodium falciparum* Metode *Real-Time* PCR”. Di dalamnya terdapat data hasil uji dari beberapa jurnal yang mendukung studi literatur ini.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Berapakah rentang suhu *extension* yang optimum dan paling umum digunakan untuk deteksi *Plasmodium falciparum* dengan menggunakan metode *Real-Time* PCR hasil studi literatur?
2. Berapakah rentang konsentrasi DNA yang optimum dan paling umum digunakan untuk deteksi *Plasmodium falciparum* dengan menggunakan metode *Real-Time* PCR hasil studi literatur?

1.3 Tujuan Penelitian

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

1. Untuk mengetahui rentang suhu *extension* yang optimum dan paling umum digunakan untuk deteksi *Plasmodium falciparum* dengan menggunakan metode *Real-Time* PCR hasil studi literatur.

2. Untuk mengetahui rentang konsentrasi DNA yang optimum dan paling umum digunakan untuk deteksi *Plasmodium falciparum* dengan menggunakan metode *Real-Time* PCR hasil studi literatur.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Penulis

Manfaat penelitian dapat digunakan dalam menerapkan pengetahuan yang diperoleh dari akademik serta menambah informasi mengenai deteksi *Plasmodium falciparum* dengan menggunakan metode *Real-Time* PCR.

1.4.2 Bagi Laboratorium

Dengan adanya penelitian ini, sebagai informasi yang dapat diaplikasikan ke lapangan untuk digunakan dalam memeriksa sampel malaria dari hasil optimasi yang telah dilakukan sehingga mendapatkan hasil terbaik serta menjadi referensi pustaka.

1.4.3 Bagi Instansi Akademik

Dengan adanya penelitian ini dapat digunakan sebagai tambahan referensi dan menambah pengetahuan bagi mahasiswa dan penelitian-penelitian sejenis.