

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Malaria merupakan suatu penyakit infeksi akut maupun kronik yang disebabkan oleh infeksi *Plasmodium* yang menyerang eritrosit dan ditandai dengan ditemukannya bentuk aseksual dalam darah, dengan gejala demam, menggigil, anemia, dan pembesaran limpa. Pada tahun 2013, prevalensi malaria di Indonesia sebesar 1,9% yaitu terdapat 343.527 kasus terkonfirmasi dan 45 kematian. Menurut Riset Kesehatan Dasar, prevalensi malaria pada penduduk Indonesia tahun 2018 adalah 220.000 kasus (0,4%) (RISKESDAS, 2018). Ada empat jenis spesies parasit malaria di dunia yang dapat menginfeksi sel darah merah manusia, yaitu *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae* dan *Plasmodium ovale* (Soedarto, 2011 ; Fitriany, 2018).

Plasmodium falciparum merupakan penyebab dari malaria *tropica* atau malaria *falciparum*, dan bertanggungjawab atas sebagian besar angka mortalitas. Malaria *falciparum* memiliki perkembangan manifestasi klinis yang cepat dan menghasilkan parasitemia tinggi yang menyerang semua bentuk eritrosit. Adapun pemeriksaan laboratorium untuk mendeteksi malaria yaitu pemeriksaan mikroskopis dan *Rapid Diagnostic Test* (RDT). Pemeriksaan mikroskopis sediaan darah tebal dan tipis dengan pewarnaan Giemsa masih merupakan baku emas dalam menegakkan diagnosis malaria sampai saat ini (Soedarto, 2011 ; Tooy, *et al.*, 2016).

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan salah satu metode biologi molekuler yang telah dikembangkan untuk mendeteksi penyakit infeksi seperti malaria. PCR bekerja dengan memperbanyak suatu sekuens gen yang diinginkan dan kemudian dibaca pada *agarose gel* yang telah dielektroforesis. Salah satu modifikasi dari PCR konvensional yaitu *Real-time* PCR. Prinsip kerja *Real-Time* PCR hampir sama dengan PCR konvensional, namun *Real-Time* PCR dapat mengkuantifikasi dan memonitor secara langsung amplifikasi dari suatu DNA spesifik. Saat ini *Real-Time* PCR telah banyak diteliti sebagai alternatif dari pemeriksaan malaria konvensional seperti pemeriksaan mikroskopis atau *Rapid Diagnostic Test* (RDT). Pada studi Alam dkk, menemukan bahwa terdapat nilai sensitivitas 97,1% dan nilai spesifisitas 97,6% dalam mendeteksi *Plasmodium falciparum* menggunakan *Real-Time* PCR (Tooy, *et al.*, 2016 ; Alam, 2011).

Adanya penggunaan *Real-Time* PCR dengan kondisi tidak optimum akan menghasilkan produk yang tidak sesuai dengan target, karena kondisi optimum masing-masing fragmen DNA berbeda tergantung pada variasi komponen *Real-Time* PCR, salah satunya adalah konsentrasi primer dan suhu *annealing*. (Asy'ari, 2005; Ehtisham, *et al.*, 2016; Kartika, 2018).

Pada penelitian Thomas Mikeska dan Alexander Dobrovic menyelidiki dan memvalidasi dampak penggunaan matriks optimisasi primer. Memvariasikan konsentrasi primer memiliki efek yang besar pada kinerja uji *Real-Time* PCR. Berbagai konsentrasi primer yang digunakan pada penelitian terdahulu untuk mendeteksi *Plasmodium falciparum* diantaranya penelitian Chen dkk menggunakan primer DBL-1 dengan konsentrasi sebesar 1 μ M dan penelitian

Ikenoue dkk menggunakan primer DBL-1 dengan konsentrasi sebesar 2 μ M (Mikeska & Dobrovic, 2009 ; Chen, *et al.*, 1998 ; Ikenoue, *et al.*, 2002).

Komponen lain dalam optimasi penggunaan *Real-Time* PCR yaitu suhu *annealing*. Suhu *annealing* sangat penting karena berkaitan dengan spesifitas dan sensitifitas produk PCR. Jika suhu *annealing* terlalu rendah maka reaksi akan menjadi tidak spesifik karena menyebabkan primer menempel bukan pada target. Namun, jika suhu terlalu tinggi akan menyebabkan kekakuan yang dapat mempengaruhi kegagalan penempelan primer. Yuenleni menyatakan bahwa variasi suhu *annealing* didapatkan dengan perhitungan rata-rata suhu *melting* (T_m) primer *forward* dan primer *reverse* kemudian dikurangi 5, karena suhu *annealing* biasanya 5°C dibawah T_m primer yang sebenarnya. Sama halnya dengan pernyataan diatas, Handoyo menyatakan bahwa suhu *annealing* yang digunakan pada proses PCR dapat dihitung berdasarkan $(T_m - 5)^\circ\text{C}$ sampai dengan $(T_m + 5)^\circ\text{C}$ (Ehtisham, *et al.*, 2016 ; Yuenleni, 2019 ; Handoyo, 2000).

Berdasarkan latar belakang tersebut, penulis tertarik untuk melakukan studi literatur mengenai “Optimasi Konsentrasi Primer dan Suhu *Annealing* untuk Deteksi DNA *Plasmodium falciparum* Metode *Real-Time* PCR.”

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, didapatkan rumusan masalah adalah sebagai berikut:

1. Berapakah rentang konsentrasi primer yang optimal untuk deteksi DNA *Plasmodium falciparum* menggunakan *Real-Time* PCR dari hasil studi literatur?
2. Berapakah rentang suhu *annealing* yang optimal untuk deteksi DNA *Plasmodium falciparum* menggunakan *Real-Time* PCR dari hasil studi literatur?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan uraian rumusan masalah di atas, maka tujuan dalam studi literatur ini adalah sebagai berikut :

1. Untuk menentukan rentang konsentrasi primer yang optimum untuk deteksi DNA *Plasmodium falciparum* metode *Real-Time* PCR hasil dari studi literatur.
2. Untuk menentukan rentang suhu *annealing* yang optimum untuk deteksi DNA *Plasmodium falciparum* metode *Real-Time* PCR hasil dari studi literatur.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Penulis

Untuk menambah wawasan dan penerapan ilmu yang didapat selama mengikuti perkuliahan di Jurusan Analis Kesehatan 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.

1.4.3 Bagi Laboratorium

Sebagai informasi untuk diaplikasikan di lapangan dalam mendeteksi *Plasmodium falciparum* dengan optimasi yang telah dilakukan sehingga didapatkan hasil deteksi *Real-Time* PCR yang terbaik .