BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Malaria disebabkan oleh parasit *Plasmodium*. Parasit ini ditularkan melalui gigitan nyamuk Anopheles yang merupakan vektor malaria. Ada empat jenis plasmodium yaitu, *Plasmodium falciparum, Plasmodium vivax, Plasmodium malariae, Plasmodium ovale*. *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium vivax* merupakan penyebab malaria terbanyak, penyebab kematian paling utama disebabkan oleh *Plasmodium falciparum*. Prevalensi kejadian malaria masih menunjukkan angka relatif tinggi pada wilayah Kabupaten Jayapura, dan yang paling banyak menyebabkan kematian dari spesies ini adalah *Plasmodium falciparum*, (Banyal, 2016; Soedarto, 2011).

Pada tahun 2018 *World Health Organizatio*n (WHO) memperkirakan ada sekitar 228 juta kasus malaria dengan lebih dari 400 ribu orang meninggal, 93% orang di kawasan Afrika, 3,4% di Asia Tenggara serta 2,6% di Kawasan Mediterania Timur. Di Indonesia ada 266 kabupaten/ kota (52,0%) di antara 514 kabupaten/ kota yang dinyatakan bebas malaria. Selain itu, terdapat 39 kabupaten/ kota dengan penularan tinggi yang terutama berada di kawasan timur Indonesia, yaitu Papua, Papua Barat, dan NTT. Pada tahun 2018, pemerintah mentargetkan 285 kabupaten/kota bebas malaria, dan telah melakukan berbagai strategi untuk mengeliminasi malaria di antaranya dengan mengintensifkan penyemprotan rumah secara selektif, meningkatkan perlindungan kelompok rentan malaria (ibu hamil dan balita), meningkatkan deteksi

dini malaria, pengobatan yang tepat, serta meningkatkan kesadaran dan pengetahuan masyarakat untuk melakukan upaya pencegahan malaria (Debora, 2018; WHO, 2019).

Pengobatan malaria tidak dapat diberikan tanpa kepastian ditemukannya parasit malaria, baik secara mikroskopis maupun dengan pemeriksaan *rapid diagnostic test* (RDT). Oleh karena itu, keakuratan dalam diagnosis sangat penting dalam memberantas malaria. Sampai saat ini pemeriksaan mikroskopis sediaan darah tebal dan tipis dengan pewarnaan Giemsa masih merupakan baku emas (*gold standard*) dalam menegakkan diagnosis malaria, (Tooy, 2016).

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan salah satu metode Biologi Molekuler yang telah dikembangkan untuk mendeteksi penyakit infeksi seperti malaria. Saat ini *Real-Time* PCR telah banyak diteliti sebagai alternatif dari pemeriksaan malaria secara konvensional, seperti pemeriksaan mikroskopis atau *Rapid Diagnostic Test* (RDT). *Real-Time* PCR memiliki nilai sensitivitas 94,1% dan nilai spesifisitas 100% terhadap pemeriksaan mikroskopis dalam mendeteksi *Plasmodium falciparum,* (Langi, 2016).

Ada tiga tahapan pada siklus reaksi PCR yaitu denaturasi, *annealing*, dan *extention*. Keberhasilan dalam memperoleh produk DNA pada metode ini dipengaruhi oleh templat DNA, DNA polymerase, konsentrasi Mg^{2+} , buffer PCR, konsentrasi dNTP, primer dan optimasi proses PCR yang meliputi denaturasi, suhu *annealing* dan banyaknya siklus amplifikasi (Blirt, 2016 dan Hanina, 2018).

Suhu denaturasi dapat mempengaruhi hasil PCR, karena jika suhu denaturasi terlalu tinggi dan terlalu lama dapat merusak residu sitosin, menyebabkan deaminasi dan juga dapat merusak DNA *polymerase* yang mengurangi kinerja PCR. Dan suhu

denaturasi yang rendah dapat menyebabkan *template* DNA untai ganda tidak terpisah dengan baik, (Thermofisher, 2016). Sedangkan pada jumlah amplifikasi berpengaruh terhadap efisiensi waktu yang digunakan, tetapi kualitas produk akhir juga menjadi hal penting dalam proses PCR, dimana apabila terlalu banyak siklus dapat meningkatkan jumlah dan kompleksitas produk non spesifik sedangkan apabila terlalu sedikit siklus akan menghasilkan produk PCR yang rendah (Pestana, et al, 2010). Oleh karena itu, untuk memperoleh produk DNA hasil *Real-Time* PCR yang baik perlu dilakukan optimasi yang tepat pada suhu denaturasi DNA dan jumlah siklus amplifikasi.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penulis ingin melakukan penelitian tentang "Optimasi Suhu Denaturasi DNA dan Jumlah Siklus Amplifikasi DNA Untuk Deteksi *Plasmodium falciparum* Metode *Real-Time* PCR".

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang diatas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Berapakah suhu denaturasi DNA yang optimal untuk deteksi *Plasmodium falciparum* metode *Real-Time* PCR ?
2. Berapakah jumlah siklus amplifikasi DNA yang optimal untuk deteksi *Plasmodium falciparum* metode *Real-Time* PCR ?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan uraian pada latar belakang diatas, maka tujuan dalam penelitian ini adalah:

1. Memperoleh suhu denaturasi DNA yang optimal untuk deteksi *Plasmodium falciparum* metode *Real-Time* PCR.
2. Memperoleh jumlah siklus amplifikasi DNA yang optimal untuk deteksi *Plasmodium falciparum* metode *Real-Time* PCR.

1.4 Manfaat Penelitian

Berdasarkan tujuan penelitian, maka manfaat penelitian yang dapat diperoleh adalah:

1.4.1 Bagi Peneliti

Meningkatkan pemahaman dan keahlian di bidang Biologi Molekular serta memperoleh pengalaman dalam hal penggunaan *Real-Time* PCR.

1.4.2 Bagi Institusi Pendidikan

Memberikan informasi mengenai suhu denaturasi DNA dan jumlah siklus yang optimal untuk deteksi *Plasmodium falciparum* metode *Real-Time* PCR, sehinggga dapat dijadikan sebagai bahan acuan bagi penelitian berikutnya untuk pengembangan deteksi *Plasmodium falciparum* metode *Real-Time* PCR.

1.4.3 Bagi Tenaga Kesehatan

Sebagai informasi untuk diaplikasikan di lapangan dalam mendeteksi *Plasmodium falciparum* metode *Real-Time* PCR yang telah dioptimasi sehingga diperoleh hasil uji terbaik.