BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hepatitis B merupakan penyakit menular yang menjadi masalah kesehatan masyarakat di Indonesia. Hepatitis B menyebabkan infeksi akut dan kronis yang menyerang sekitar 400 juta orang di dunia serta diperkirakan terdapat 1 juta orang meninggal setiap tahunnya. Virus Hepatitis B (VHB) menempati urutan pertama yang umum menginfeksi penduduk di indonesia sebesar 21,8% (Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI, 2017).

Diagnosis Hepatitis B umumnya dapat dilakukan dengan metode serologis untuk mendeteksi antigen dan antibodi terhadap VHB (Song & Kim, 2016). Kelemahan utama metode tersebut adalah spesifisitas yang rendah sehingga mengurangi akurasi diagnostik. Untuk mengatasi hal tersebut, dikembangkanlah berbagai metode untuk deteksi VHB salah satunya dengan pendekatan berbasis molekuler menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). PCR mempunyai sensitifitas dan spesifisitas yang tinggi serta kemampuan deteksi yang luas. Metode PCR mempunyai kelebihan yaitu dapat mendeteksi sedikitnya satu salinan gen saja. Saat ini, *Real-Time* PCR lebih banyak digunakan karena dari segi teknis maupun praktis lebih menguntungkan dibandingkan PCR konvensional (Abbas, Rasool, & Afroze, 2005; Alves, 2016).

Optimasi deteksi virus Hepatitis B metode *Real-Time* PCR perlu dilakukan, salah satunya dengan cara memvariasikan kondisi yang digunakan pada proses PCR (Handoyo & Rudiretna, 2001; Blirt, 2016). Siklus PCR yang paling kritis untuk dioptimasi adalah suhu *anneling* dari primer (Ta) (Blirt, 2016). Namun, volume templat DNA dan suhu denaturasi juga dapat dioptimasi untuk keberhasilan deteksi virus Hepatitis B.

Suhu denaturasi yang tepat tampaknya menjadi variabel yang belum tereksploitasi sebanyak variabel lain dalam pengaturan pengujian PCR (Korner, 2017). Suhu yang terlalu rendah dapat menyebabkan templat DNA untai ganda tidak terpisah dengan baik, sedangkan suhu yang telalu tinggi dapat mengurangi aktivitas enzim (ThermoFisher Scientific, 2016). Dalam kasus tes tertentu hasil PCR menjadi lebih baik dengan suhu denaturasi yang lebih tinggi sementara spesifitas meningkat dengan suhu denaturasi yang lebih rendah. Oleh karena itu, optimasi suhu denaturasi perlu digunakan untuk mengoptimalkan PCR untuk hasil yang spesifik dan sesuai kebutuhan (Korner, 2017).

Optimasi volume templat DNA juga dapat bermanfaat untuk hasil percobaan. Seringkali penambahan volume templat DNA menjadi kesalahan umum dalam amplifikasi PCR. Jika terlalu banyak penambahan templat DNA dapat mengakibatkan amplifikasi produk yang tidak spesifik (Lorenz, 2012; ThermoFisher Scientific, 2016).

Oleh karena itu, untuk mendeteksi virus Hepatitis B yang optimum diperlukan optimasi pada volume templat DNA dan suhu denaturasi. Berdasarkan latar belakang

tersebut, penulis melakukan tinjauan teoritis mengenai optimasi volume templat DNA dan suhu denaturasi untuk deteksi virus Hepatitis B metode *Real-Time* PCR. Di dalamnya akan ditampilkan beberapa data hasil uji metode *Real-Time* PCR yang mendukung tinjauan teoritis ini.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Berapakah rentang volume templat DNA yang optimal untuk deteksi virus Hepatitis B metode *Real-Time* PCR dari hasil studi literatur?
2. Berapakah rentang suhu denaturasi yang optimal untuk deteksi virus Hepatitis B metode *Real-Time* PCR dari hasil studi literatur?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan pada latar belakang di atas maka tujuan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui volume templat DNA yang optimal untuk deteksi virus Hepatitis B metode *Real-Time* PCR dari hasil studi literatur.
2. Mengetahui suhu denaturasi yang optimal untuk deteksi virus Hepatitis B metode *Real-Time* PCR dari hasil studi literatur.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat diperoleh dari hasil penelitian ini bagi penulis sebagai sarana meningkatkan ilmu pengetahuan di bidang Biologi Molekuler terutama mengenai optimasi untuk deteksi Virus Hepatitis B menggunakan *Real-Time* PCR. Adapun bagi institusi pendidikan dapat dijadikan sebagai sumber literatur bagi mahasiswa lain yang akan melakukan penelitian di bidang Biologi Molekuler. Kemudian, bagi tenaga kesehatan dan masyarakat dapat dijadikan sebagai tambahan referensi untuk penelitian selanjutnya dalam mengembangkan pemeriksaan virus Hepatitis B metode *Real-Time* PCR.