BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Malaria merupakan penyakit menular yang disebabkan oleh infeksi parasit genus *Plasmodium* dan ditularkan ke manusia melalui vektor nyamuk *Anopheles* (Kemenkes RI, 2018). Infeksi malaria disebabkan oleh patogen protozoa dari *Plasmodium spp*. *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium vivax* merupakan spesies yang paling sering menginfeksi manusia. Terdapat 5 jenis malaria yaitu malaria *Falciparum*, malaria *Vivax*, malaria *Ovale*, malaria *Malariae* dan malaria *Knowlesi* (Kemenkes, 2017).

Beberapa daerah di Indonesia seperti Bengkulu, Padang, hingga Manokwari dimana *Plasmodium vivax* merupakan penyebab malaria paling umum. Dari seluruh kasus malaria, sebanyak 473 kasus atau dengan persentase 85% *Plasmodium vivax* telah ditemukan pada tahun 2021 (Elbands dkk, 2022). Salah satu cara untuk melawan malaria adalah melalui diagnosis yang tepat. Diagnosis yg tepat dapat dilakukan dengan berbagai cara, antara lain pemeriksaan mikroskopis, uji imunoserologi *Rapid Diagnostic Test* (RDT) dan teknik molekular *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang berguna untuk mendeteksi Plasmodium di dalam tubuh (Alydrus *et al*, 2020).

Metode PCR merupakan salah satu cara yang dikembangkan untuk mendeteksi penyakit menular 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). Berbagai pengembangan metode PCR telah digunakan untuk mendeteksi adanya DNA target dalam suatu sampel seperti *simplex* PCR, *multiplex* PCR dan *quantitative* PCR (qPCR) (Tooy, *et al.,* 2016). Adapun perbedaan dari berbagai pengembangan metode PCR yaitu *simplex* PCR hanya mengamplifikasi satu target DNA pada sekali reaksi PCR, hasilnya dapat dilihat melalui elektroforesis gel *agarose* jika *multiplex* PCR yaitu mengamplifikasi banyak target DNA dalam satu kali reaksi PCR, hasilnya dapat dilihat melalui elektroforesis gel *agarose* sedangkan qPCR yaitu menggabungkan amplifikasi, deteksi, dan kuantifikasi fragmen DNA secara bersamaan dan langsung.

Metode qPCR sering disebut juga sebagai *Real-Time* PCR. Keunggulan qPCR adalah waktu pengujian yang relatif singkat, kurang lebih 70 menit dan hasil pengujian dapat dipastikan secara visual melalui grafik yang dihasilkan pada komputer yang terhubung dengan mesin qPCR. Selain mendeteksi, qPCR juga secara tepat menghitung (mengkuantifikasi) jumlah molekul DNA target yang dihasilkan dari amplifikasi (Nurhayati, 2019).

Salah satu target deteksi *Plasmodium vivax* adalah gen 18S rRNA. Gen 18S rRNA merupakan komponen kecil dari subunit ribosom sel eukariotik yang merupakan salah satu komponen dasar semua sel eukariotik. Pemilihan gen 18S rRNA dalam amplifikasi dengan PCR disebabkan perannya sebagai penanda (*marker*) (Prakoso dkk, 2016).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Khumairoh, Septia (2023) yaitu produk pasangan primer yang dapat mendeteksi gen pengkode 18S rRNA *Plasmodium vivax* dihasilkan produk amplifikasi yaitu sebesar 114 bp dan diperoleh kurva amplifikasi rata-rata nilai CT *value* 18.94 serta diperoleh urutan pasangan primer yang dapat mendeteksi gen pengkode 18S rRNA pada *Plasmodium vivax* dengan urutan *Primer Forward* 5'GTCCATCGAGTTTCTGACCTATC'3 dengan panjang basa 23 dan *Primer Reverse* 5'GCTATTTCTCAAGCTCCCTCTC'3 dengan panjang basa 22. Berdasakan hasil penelitian

Rahayu, Sri (2023) menyatakan bahwa konsentrasi primer yang optimum untuk mendeteksi Gen 18S rRNA *Plasmodium vivax* menggunakan qPCR bila dilihat dari nilai *cycle threshold* (CT) yang terendah adalah 300 nM, namun konsentrasi 200-500 nM juga bisa digunakan untuk pemeriksaan *Plasmodium vivax* karena memiliki hasil yang relatif berdekatan. Dalam penelitian ini, penulis akan melakukan pemeriksaan *Plasmodium vivax* (*P.vivax*) menggunakan metode qPCR yang menargetkan gen 18S rRNA.

Tahapan PCR merupakan siklus berulang yang meliputi denaturasi, annealing, dan ekstensi oleh enzim DNA polimerase. Kondisi proses qPCR dioptimalkan untuk mencapai hasil PCR yang optimum. Salah satu kondisi PCR yang perlu dioptimalkan adalah suhu denaturasi (Fatchiyah, 2011).

Menurut Azzahra, dkk 2019 mengatakan bahwa suhu denaturasi adalah komponen yang perlu dioptimasi karena akan menentukan kualitas produk *Real-time* PCR. Suhu denaturasi dapat mempengaruhi hasil PCR, karena suhu denaturasi terlalu tinggi dan terlalu lama dapat merusak residu sitosin dan juga dapat merusak DNA polimerase yang mengurangi kinerja PCR sedangkan suhu denaturasi yang rendah dapat menyebabkan template DNA untai ganda tidak terpisah dengan baik, (Thermofisher, 2016).

Menurut Feranisa (2016) mengatakan bahwa DNA akan terdenaturasi pada temperatur 90 hingga 97°C. Salah satu faktor yang menyebabkan produk PCR tidak mencukupi adalah denaturasi DNA yang kurang optimum. Oleh karena itu, diperlukan optimasi suhu denaturasi yang tepat untuk memperoleh produk DNA yang baik dari hasil *Real-Time* PCR.

Penelitian yang dilakukan oleh Rahayu (2023) menggunakan suhu denaturasi dari reagen dan belum dioptimasi. Maka dari itu berdasarkan latar belakang tersebut, penulis melakukan penelitian tentang “Optimasi Suhu Denaturasi Untuk Deteksi Gen 18S rRNA *Plasmodium vivax* Metode qPCR”.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka penulis dapat merumuskan masalah yaitu berapa suhu denaturasi yang optimum untuk deteksi gen 18S rRNA *Plasmodium vivax* metode qPCR?

1.3. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui suhu denaturasi yang optimum untuk deteksi gen 18S rRNA *Plasmodium vivax* metode qPCR.

1.4. Manfaat Penelitian

Berdasarkan uraian diatas, penelitian ini memiliki manfaat yaitu memberikan pengetahuan pada bidang biologi molekuler tentang suhu denaturasi yang optimum untuk deteksi gen 18S rRNA *Plasmodium vivax* metode qPCR.