

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Pemeriksaan laboratorium memegang peranan yang sangat penting dalam dunia kesehatan. Laboratorium patologi klinik melaksanakan layanan pemeriksaan spesimen klinik untuk memperoleh informasi tentang kesehatan, terutama untuk menunjang upaya diagnosis penyakit, dan pemulihan kesehatan (Suhartati 2013). Seiring dengan berkembangnya teknologi dibidang kesehatan, berbagai metode telah dikembangkan dalam bidang pemeriksaan laboratorium untuk menghasilkan diagnostik yang cepat dan akurat dengan tingkat spesifitas serta sensitivitas yang tinggi, salah satunya dengan menggunakan pendekatan berbasis molekuler yaitu *Polymerase Chain Reaction* (PCR) (Kwilas dkk, 2015).

*Polymerase Chain Reaction* (PCR) adalah teknologi yang mampu melipat gandakan fragmen DNA yang terdapat dalam kompleks makromolekul genom dari berbagai sumber (hewan, tumbuhan, bakteri, dan virus) menjadi 2 kali lipatnya secara enzimatik. Teknologi ini juga dikenal dengan sensitifitas yang tinggi karena hanya membutuhkan sedikit sampel DNA untuk mendapatkan jutaan *copy* DNA baru (Budiartha 2015). Deteksi molekuler dengan menggunakan PCR yaitu isolasi DNA maupun protein, amplifikasi DNA, dan elektroforesis serta deteksi menggunakan *Real-Time* PCR untuk melihat nilai CT (*Cycle Threshold*) (Widyastuti 2017).

Tahap pertama pada pemeriksaan PCR yaitu isolasi DNA adalah isolasi dilakukan dengan pemisahan molekul-molekul DNA dari komponen sel. Isolasi DNA mempunyai dua prinsip, yaitu sentrifugasi dan presipitasi (Octavia dkk, 2021). Isolasi DNA bertujuan untuk memisahkan DNA dari partikel-partikel seperti lipid, protein, polisakarida, dan zat lainnya (Hariyadi dkk, 2018). Isolasi DNA dari darah dilakukan dengan cara melisis sel darah merah (eritrosit) yang tidak mengandung DNA genom agar dapat dipisahkan dari sel darah putih (leukosit) (Siswanto dkk, 2017).

Namun demikian isolasi DNA pada gel darah memiliki kekurangan seperti kondisi penyimpanan sampel darah (Siswanto dkk, 2017), kuantitas

DNA yang rendah jika sampel darah yang digunakan memiliki jumlah sel yang sedikit (Wardana & Mushlih, 2021), dan isolasi DNA darah rentan terjadi kontaminasi diantaranya kesalahan pengambilan supernatan yang kurang teliti serta hati-hati sehingga substansi selain DNA ikut terambil (Octavia dkk, 2021).

Menghindari keterbatasan tersebut yang dapat ditimbulkan, para peneliti mulai mencari alternatif isolasi DNA darah salah satunya dengan menggunakan isolasi DNA darah kering atau *dried blood spots* (DBS). Isolasi DNA darah kering adalah metode alternatif yang digunakan untuk mengambil dan menyimpan sampel darah pada kertas saring atau *whatman*. Isolasi DNA darah kering dengan menggunakan kertas *whatman* memperlihatkan sensitivitas dan spesifisitas deteksi sangat tinggi yaitu berkisar dari 97-100%. *Dried blood spots* (DBS) merupakan teknik pengumpulan sampel darah dengan melibatkan penyerapan sejumlah kecil darah pada substrat seperti karton filter atau kertas saring dan kemudian di keringkan untuk penyimpanan (Dikshit dkk, 2019). Penerapan metode ini telah dimanfaatkan untuk mendiagnosa medis, pengawasan obat, dan analisis genetika (Maliza dkk, 2021). Teknik *dried blood spots* (DBS) atau isolasi DNA darah kering memberikan penyederhanaan proses pengumpulan darah dan analisis dibandingkan metode darah vena (*whole Blood*). Metode sampel darah kering diperkirakan menjadi pengganti metode darah vena yang menjanjikan bahkan bisa melebihi metode bio-matriks (plasma atau serum) (Mawardi & Maladan, 2020).

Beberapa keuntungan menggunakan metode sampel darah kering atau *dried blood spots* (DBS) antara lain; mudah dan invasif dalam pengumpulan sampel, dapat dilakukan tanpa tenaga *phlebotomist* karena sampel dikumpulkan dari ujung jari atau tumit, volume sampel yang digunakan sedikit, analit lebih stabil dibandingkan penyimpanan pada freezer, biaya yang lebih murah, karena sampel darah kering dapat di simpan pada suhu kamar, memberikan keamanan, dalam keadaan kering senyawa patogen menjadi tidak aktif sehingga mengurangi resiko terkena infeksi (Mawardi & Maladan, 2020).

Hasil penelitian Puniari dkk (2015) tentang kualitas dan kuantitas DNA darah kering yang disimpan dalam kurun waktu berbeda. Hasil penelitian menunjukkan bahwa DNA dari darah kering pada besi dan kayu dapat disimpan dalam kurun waktu empat bulan masih dapat diekstraksi, namun terjadi penurunan kuantitas DNA sejalan dengan lama waktu penyimpanan darah (Puniari dkk, 2015).

Penelitian lain juga, telah dilakukan Maliza dkk (2021) tentang uji kualitas DNA darah pada kertas saring *whatman* yang diisolasi dengan CHELEX-100 serta variasi waktu penyimpanan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa DNA sampel darah kering pada kertas *whatman* yang di simpan selama 1, 3, dan 7 hari dengan menggunakan metode CHELEX-100 dan dapat dijadikan DNA templete untuk di amplifikasikan dengan gen target (Maliza dkk, 2021).

Berdasarkan penelitian sebelumnya tentang uji kualitas DNA darah pada kertas saring *whatman* yang diisolasikan dengan CHELEX-100 serta variasi waktu penyimpanan, maka perbedaan yang akan dilakukan pada penelitian ini yaitu menggunakan sampel HBV positif, kertas saring *whatman No. 3* dan menggunakan metode *Real-Time PCR*. Berdasarkan latar belakang diatas, maka peneliti melakukan penelitian yang berjudul “Perbandingan variasi waktu penyimpanan sampel terhadap nilai *viral load* HBV DNA yang diisolasi menggunakan kertas saring *whatman No.3*”.

## **B. Rumusan Masalah**

Rumusan masalah penelitian ini adalah, adakah Perbandingan variasi waktu penyimpanan sampel terhadap nilai CT (*Cycle Threshold*) HBV DNA yang diisolasi menggunakan kertas saring *whatman No.3*?

## **C. Tujuan Penelitian**

### **1. Tujuan Umum**

Untuk menganalisis perbandingan variasi waktu penyimpanan sampel terhadap nilai CT (*Cycle Threshold*) HBV DNA yang diisolasi menggunakan kertas saring *whatman No.3*.

2. Tujuan khusus
  - a. Menghitung distribusi frekuensi CT (*Cycle Threshold*) HBV DNA berdasarkan lama simpan 1, 3, dan 7 hari.
  - b. Menganalisis perbandingan variasi waktu penyimpanan sampel terhadap nilai CT (*Cycle Threshold*) HBV DNA yang diisolasi menggunakan kertas saring *whatman No.3*.

#### **D. Manfaat Penelitian**

##### 1. Manfaat Teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat mengembangkan kajian tentang metode isolasi DNA dengan menggunakan kertas saring *whatman No.3* dan memberikan informasi tentang waktu penyimpanan yang optimal untuk mempertahankan kuantitas DNA.

##### 2. Manfaat Aplikatif

###### a. Bagi Peneliti

Mengaplikasikan ilmu yang diperoleh dikampus terkait dengan isolasi DNA darah kering menggunakan kertas saring sebagai alternatif isolasi DNA darah serta waktu penyimpanan yang optimal untuk mempertahankan kuantitas DNA yang baik.

###### b. Bagi Institusi Pendidikan

Memberikan informasi terkait dengan isolasi DNA darah kering menggunakan kertas saring dan variasi waktu penyimpanan terhadap uji kuantitas HBV menggunakan *Real-Time* PCR.

#### **E. Ruang Lingkup**

Bidang yang diambil pada penelitian ini adalah Biologi Molekuler dengan jenis penelitian eksperimental. Variabel penelitian adalah variasi waktu penyimpanan 1, 3, dan 7 hari, kertas saring *whatman No.3* dan nilai CT (*Cycle Threshold*) HBV DNA menggunakan *Real-Time* PCR. Variabel bebas variasi penyimpanan 1, 3, dan 7 hari dan kertas saring *whatman No.3*. Variabel terikat nilai CT (*Cycle Threshold*) HBV DNA menggunakan *Real-Time* PCR. Subyek penelitian ini adalah darah HBV yang dinyatakan positif dan diambil pada UDD Pembina PMI Provinsi Lampung. Metode penelitian ini adalah menggunakan metode *Real-Time* PCR untuk melihat

nilai CT (*Cycle Threshold*) HBV DNA. Tempat penelitian di lakukan di Laboratorium Biologi Molekuler Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Kemenkes Poltekkes Tanjungkarang pada Bulan Maret-Mei 2024. Analisis data dengan menggunakan analisis bivariat.