

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Perkembangan teknologi pemeriksaan laboratorium khususnya dibidang kesehatan telah berkembang dengan sangat cepat, berbagai metode telah dikembangkan untuk menghasilkan informasi kesehatan secara cepat dan akurat serta memiliki tingkat presisi dan sensitif yang tinggi, salah satunya dengan menggunakan pendekatan berbasis molekuler yaitu *Polymerase Chain Reaction* (PCR) (Dewantoro dkk, 2021).

PCR yaitu teknologi yang digunakan untuk menggandakan materi genetik terutama DNA secara *in vitro*. Metode PCR memiliki sensitifitas dan spesifitas yang tinggi sehingga pemeriksaan yang dilakukan lebih akurat (Mursyidin dkk, 2023). Tahap pertama pada pemeriksaan PCR yaitu isolasi DNA (Faatih, 2009).

Isolasi DNA yaitu teknik dasar dalam biomolekuler yang bertujuan untuk memisahkan DNA dari komponen lain, seperti polisakarida, lemak, protein dan zat yang lain (Hariyadi dkk, 2018). Isolasi DNA biasanya dilakukan dengan dua metode utama yaitu sentrifugasi dan presipitasi (Faatih, 2009). Isolasi DNA memiliki kekurangan dalam penyimpanan sampel darah. Waktu penyimpanan sampel yang terlalu lama dapat mempengaruhi kondisi sampel sehingga menyebabkan kerusakan pada sel darah dan menurunkan kemurnian DNA. Hal ini membuat sampel rentan rusak, terutama jika pendistribusian sampel tidak baik atau jaraknya terlalu jauh, yang pada akhirnya dapat mengurangi sensitifitas dan spesifitas saat pemeriksaan (Lio *et al.*, 2021).

Alternatif penanganan sampel diterapkan agar sampel dapat dikirim dan disimpan dalam jangka waktu yang lama tanpa terjadi kerusakan pada sampel sehingga memberikan hasil yang akurat (Dikshit *et al.*, 2019). Salah satunya dengan menggunakan *dried blood spots* (DBS). DBS merupakan metode alternatif yang sering digunakan untuk mengumpulkan dan menyimpan sampel darah pada kertas saring. Metode

ini digunakan karena kemudahannya dalam pengumpulan dan penyimpanan, terutama dalam diagnosis medis, pengawasan obat, dan analisis genetik (Choi *et al.*, 2014). Salah satu keuntungan utama DBS adalah hanya memerlukan sedikit sampel darah, memiliki biaya yang lebih rendah, serta meningkatkan stabilitas selama penyimpanan dan pengiriman jangka panjang (Whittaker *et al.*, 2021). Selain itu, sampel dapat disimpan pada suhu ruangan tanpa memerlukan freezer, sehingga lebih praktis dan efisien (Déglon *et al.*, 2012).

Selain faktor efisiensi, metode ini juga lebih aman karena penyimpanan dalam kondisi kering membuat senyawa patogen menjadi tidak aktif, sehingga mengurangi risiko infeksi (Mawardi dkk, 2020). Pada tahun 2010, *National Committee of Bioethics-National Committee for Biotechnologies and Life Sciences* (CNB-CNBBSV) menerbitkan rekomendasi mengenai penyimpanan dan penggunaan DBS sebagai metode pengambilan sampel darah (Choi *et al.*, 2014). Salah satu alat yang digunakan dalam metode ini adalah kertas saring *Whatman*, yang terbukti memiliki sensitivitas dan ketepatan tinggi dalam mendeteksi DNA dari darah kering, dengan akurasi mencapai 97–100% (Maliza dkk, 2021).

Salah satu jenis kertas saring yang umum digunakan adalah kertas saring *Whatman* No. 3, yang memiliki kapasitas pori sebesar 6 µm. Kertas ini sangat baik untuk penyimpanan karena mampu menahan endapan yang lebih besar dan memiliki daya serap yang tinggi, sehingga efektif untuk menyaring partikel halus (*Whatman*, 2013). Dengan berbagai keunggulan tersebut, metode DBS menggunakan kertas saring *Whatman* No. 3 menjadi solusi yang efektif untuk penyimpanan dan pengiriman sampel darah, terutama bagi daerah yang memiliki keterbatasan akses terhadap fasilitas kesehatan (Whittaker *et al.*, 2021).

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Maliza dkk (2021) tentang uji kualitas DNA darah pada kertas saring *Whatman* yang diisolasi dengan CHELEX-100 serta variasi penyimpanan, menunjukkan bahwa DNA dari sampel darah kering pada kertas *Whatman* yang diisolasi menggunakan metode CHELEX-100 tetap dapat digunakan sebagai

template untuk amplifikasi gen target, meskipun telah disimpan selama 1, 3, dan 7 hari (Maliza dkk, 2021).

Penelitian lain yang dilakukan oleh Lange *et al* (2017) tentang akurasi diagnostik deteksi dan kuantifikasi HBV-DNA dan HCV-RNA menggunakan DBS, menunjukkan hasil bahwa penggunaan DBS merupakan metode efektif untuk mendeteksi dan mengukur DNA Hepatitis B (HBV) dan RNA Hepatitis C (HCV) dengan tingkat sensitivitas dan spesifitas masing-masing mencapai 95-99%. Namun penelitian ini menekankan perlunya pengembangan untuk memastikan kualitas hasil uji menggunakan DBS serta waktu penyimpanan dan pengaturan suhu yang berbeda (Lange *et al.*, 2017).

Penelitian yang dilakukan oleh Ramadan (2024) tentang perbandingan variasi waktu penyimpanan sampel terhadap nilai CT (*Cycle Threshold*) HBV DNA menggunakan sampel darah donor yang diisolasi dengan menggunakan kertas saring *Whatman* No.3, menunjukkan hasil bahwa tidak ada perbedaan sampel darah HBV yang diisolasi pada kertas saring *Whatman* No.3 dan menyimpan HBV DNA dalam jangka waktu 1, 3, dan 7 hari. Namun sampel darah donor dapat menyebabkan degradasi DNA dikarnakan pengaruh pada suhu penyimpanan, lama penyimpanan dan anti koagulan yang digunakan (Ramadan, 2024).

Berdasarkan penelitian sebelumnya terkait dengan perbandingan variasi waktu penyimpanan sampel terhadap nilai CT (*Cycle Threshold*) HBV DNA dengan menggunakan sampel darah donor, maka perbedaan atau pembaharuan yang akan dilakukan pada penelitian ini adalah menggunakan sampel pasien positif Hepatitis B serta menghitung jumlah *viral load* yang di simpan dengan menggunakan kertas *Whatman* No.3 dengan menggunakan metode *Real-Time PCR*. Berdasarkan uraian diatas, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian terkait dengan perbandingan variasi waktu penyimpanan sampel terhadap *viral load* pada pasien positif Hepatitis B yang diisolasi dengan menggunakan kertas *Whatman* No.3.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah, bagaimana perbandingan variasi waktu penyimpanan sampel terhadap *viral load* pada pasien positif Hepatitis B yang diisolasi menggunakan kertas saring *Whatman No.3* ?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui perbandingan variasi waktu penyimpanan sampel terhadap *viral load* pada pasien positif Hepatitis B yang diisolasi menggunakan kertas saring *Whatman No.3*.

2. Tujuan Khusus

- a. Menghitung jumlah *viral load* pada pasien positif Hepatitis B berdasarkan lama simpan 1, 3 dan 7 hari menggunakan kertas saring *Whatman No.3*.
- b. Menganalisis perbandingan variasi waktu penyimpanan sampel terhadap *viral load* pada pasien positif Hepatitis B yang diisolasi menggunakan kertas saring *Whatman No.3*.

D. Manfaat Penelitian

Berdasarkan tujuan penelitian, maka manfaat penelitian yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat secara teoritis terkait 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

Hasil penelitian dapat menambah wawasan, pengetahuan dan pengalaman dalam melakukan penelitian tentang perbandingan variasi waktu penyimpanan sampel terhadap *viral load* pada pasien positif Hepatitis B yang diisolasi menggunakan kertas saring

Whatman No.3 sebagai alternatif isolasi DNA darah serta waktu yang optimal untuk mempertahankan kuantitas DNA yang baik di bidang biologi molekuler dan sebagai salah satu syarat dalam menyelesaikan studi di Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang.

b. Bagi Institut Pendidikan

Penelitian ini dapat memberikan informasi dan referensi terkait dengan isolasi DNA darah kering menggunakan kertas saring dan variasi waktu penyimpanan terhadap uji kuantitas sampel positif Hepatitis B menggunakan *Real-Time PCR*.

c. Bagi Ahli Teknologi Laboratorium Medis

Penelitian ini bermanfaat bagi ATLM terkait isolasi DNA darah kering pada pasien positif Hepatitis B menggunakan kertas saring sebagai alternatif isolasi DNA, hal ini tentunya akan membantu ATLM untuk mendapatkan hasil yang akurat tanpa khawatir sampel yang digunakan akan lisis.

E. Ruang Lingkup

Ruang lingkup dalam penelitian ini adalah Biologi Molekuler dengan jenis penelitian eksperimental, dengan desain penelitian yaitu *Quasi experiment*. Variabel bebas pada penelitian ini variasi penyimpanan 1, 3, dan 7 hari kertas saring *Whatman* No.3. Variabel terikat jumlah *viral load* sampel positif Hepatitis B menggunakan *Real-Time PCR*. Subjek penelitian ini adalah darah pasien Hepatitis B yang telah dinyatakan positif dan diambil di RSAM Bandar Lampung. Metode penelitian ini adalah menggunakan *Real-Time PCR* untuk melihat jumlah *viral load* pada pasien positif Hepatitis B. Lokasi penelitian di lakukan di Laboratorium Biologi Molekuler Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Tanjungkarang pada bulan Mei-Juni 2025. Analisis data dilakukan secara univariat dan bivariat. Analisis univariat yang dilakukan adalah uji normalitas *shapiro wilk* dan analisa bivariat yang dilakukan adalah uji *One Way Anova*.