

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tuberculosis (TB) merupakan penyakit menular yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*. *M. tuberculosis* merupakan jenis bakteri yang memiliki bentuk batang dan sifatnya yang tahan asam sehingga sering disebut sebagai Basil Tahan Asam (BTA). Penyakit TB sudah menjadi permasalahan di bagian kesehatan dari abad ke-19 hingga sampai ke awal abad ke-20.¹ *M. tuberculosis* memiliki kemampuan untuk dapat menginfeksi hampir seluruh organ tubuh manusia (TB ekstra paru) seperti di pleura, kelenjar limfe, tulang, dan organ ekstra paru lainnya, tetapi paru-paru tepatnya di parenkim paru merupakan organ yang paling umum terkena infeksi dari *M. tuberculosis*. TB sendiri menyebar dari satu individu ke individu lainnya dari seorang penderita TB aktif (*actively infected*) melalui cara batuk ataupun bersin dalam bentuk droplet.² Menurut *Global TB Report* tahun 2023, pada tahun 2022 terdapat total sekitar 10.6 juta kasus yang ditemukan diseluruh dunia dan Indonesia sendiri merupakan salah satu kontributor utama peningkatan kasus TB global bersama Myanmar dan Filipina, yaitu sekitar 0.4 juta kasus dari tahun 2020 sampai tahun 2022.³

Mendeteksi suatu penyakit TB harus dilakukan secara singkat untuk membantu menunjang pengobatan, penanganan awal penyakit dan mencegah penyebaran penyakit. Metode kultur merupakan pemeriksaan baku emas yang harus dilakukan untuk mendeteksi suatu penyakit yang disebabkan oleh bakteri terutama *M. tuberculosis*. Namun, waktu yang dibutuhkan untuk mendapatkan sensitivitas dan spesifisitas maksimal itu cukup lama, yaitu sekitar 6-8 minggu dan ini dapat menjadi permasalahan karena menunda pasien untuk mendapat pengobatan yang tepat sehingga pasien bisa berisiko jatuh kekeadaan resisten obat. Selain dari metode kultur, metode mikroskopis bakteri tahan asam (BTA) dengan pewarnaan Ziehl-Neelsen juga merupakan metode untuk diagnosis penyakit TB. Waktu pemeriksaan yang tergolong cepat dan mudah membuat metode ini rutin digunakan di laboratorium, rumah sakit, maupun puskesmas di Indonesia. Namun, dibutuhkan

spesimen sputum paling sedikit 500 mikrobakterial/ml untuk mendapatkan sensitivitas yang tinggi.^{4,5}

Seiring dengan berjalannya waktu sudah dikembangkan teknologi yang bernama biologi molekuler yang sekarang keberadaannya sudah menggeser metode kultur/metode konvensional. Teknik dari biologi molekuler ini memiliki waktu yang singkat untuk mendeteksi suatu jenis bakteri yang masih hidup ataupun sudah mati dengan sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi.⁶ Widaningsih dkk (2012) menyatakan bahwa deteksi *M. tuberculosis* dengan PCR memiliki daya lacak yang lebih tinggi atau sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode kultur dan BTA. Metode PCR dapat mendeteksi sebanyak 40 (90,9%) sampel positif dari 44 sampel pasien yang terinfeksi *M. tuberculosis*.⁷

Banyak tahap yang harus dilalui untuk mendapatkan sensitivitas dan spesifisitas yang maksimal pada metode PCR, salah satunya yaitu dengan melalui ekstraksi DNA.^{4,8} Isolasi/ekstraksi DNA adalah prosedur rutin untuk mengumpulkan DNA untuk analisis molekuler dengan cara merusak atau memecah dinding sel sehingga DNA keluar dari inti sel. Terdapat 3 hal penting untuk dapat mengukur prosedur ekstraksi DNA yang baik, yaitu kemurnian DNA yang tinggi, DNA dalam keadaan utuh, dan konsentrasi DNA yang tinggi.⁹ Untuk mengoptimalkan metode ekstraksi DNA, hal lain yang harus dipertimbangkan adalah waktu, biaya, hasil, risiko toksisitas, peralatan laboratorium dan keahlian yang diperlukan, serta jumlah sampel yang diperlukan untuk protokol.¹⁰

Banyak metode yang dapat dilakukan untuk melakukan ekstraksi DNA khususnya DNA TB, yang masing-masing dari metode tersebut tentunya memiliki kekurangan dan kelebihan, salah satunya adalah metode *boiling*.¹¹ Metode *boiling* merupakan metode ekstraksi DNA dengan sederhana yang fokusnya adalah melakukan pemanasan dengan suhu tinggi biasanya sekitar (90°C-100°C), tetapi lamanya pemanasan dan suhu yang diperlukan sangat dipengaruhi oleh sampel yang digunakan. Penelitian yang dilakukan oleh Fihirudin (2022) menyatakan untuk kemurnian DNA dari metode *boiling* yang dipanaskan pada suhu 90°C dan 95°C dapat teramplifikasi dengan metode PCR, dimana pita yang bagus muncul pada hasil elektroforesis gel agarosa 1% dan berada di antara marker ke-4 dan ke-5, walaupun kemurnian DNA-nya masih terbilang rendah yang berada di bawah

nilai 1.8-2.0.⁶ Metode ini dapat digunakan untuk jenis bakteri gram positif maupun negatif.¹²

Metode *boiling* ini juga sangat efektif dalam merusak struktur membran sel dan meningkatkan permeabilitas sel, sehingga DNA keluar dan menghasilkan DNA yang berkualitas untuk digunakan dalam metode PCR. Selain itu, metode *boiling* tidak perlu menggunakan kolom atau *magnetic beads* yang dapat meningkatkan biaya ekstraksi DNA dan menggunakan reagen tambahan.^{6,11} Metode *boiling* juga memiliki biaya yang relatif murah, serta prosedur untuk melakukan ekstraksi yang mudah dan tidak memerlukan waktu yang lama.⁶ Banuls dkk (2015) melakukan penelitian ekstraksi DNA *M. tuberculosis* dengan menggunakan metode *boiling*. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa metode *boiling* dengan menggunakan suhu 100°C selama 10-30 menit dapat menghasilkan DNA yang murni dan berkualitas untuk dapat digunakan sebagai *template* PCR.¹³ Gowda dkk (2017) juga melakukan penelitian ekstraksi DNA *Salmonella* dengan menggunakan metode *boiling* dan hasilnya adalah efektif untuk menganalisis genetik dari *Salmonella* tersebut.¹⁴ Perbandingan ekstraksi DNA menggunakan *boiling* dengan metode kultur didapatkan sensitivitas 93.8% dan spesifisitas 99.1% untuk mendeteksi bakteri *M. tuberculosis*. Metode *boiling* ini dapat digunakan untuk mendeteksi kuman dengan cepat.¹⁵

Selain dari metode *boiling*, terdapat juga metode yang digunakan untuk isolasi DNA yaitu metode dengan menggunakan kit komersial. Kit komersial yang saat ini digunakan adalah berbasis filter/*Filter Based Kit*, yang menggunakan kolom spin yang memiliki bahan pengikat untuk memudahkan penerapan prinsip ekstraksi DNA. Metode ini memiliki kemudahan untuk menerapkannya dan memiliki hasil konsentrasi DNA dan kemurnian yang cukup tinggi. Metode ini juga memiliki keuntungannya tersendiri, yaitu pengerjaan dari isolasi DNA yang sederhana tidak membutuhkan banyak zat pelarut dan resiko untuk terkena toksik berkurang. Semua bahan dan larutan yang dibutuhkan sudah dikemas menjadi satu paket sehingga waktu pengerjaan lebih efisien. Namun, kit komersial juga memiliki kekurangan diantaranya, bahan yang digunakan untuk ekstraksi DNA sulit untuk didapatkan, waktu importasi yang cukup lama, dan juga membutuhkan biaya yang cukup mahal untuk mendapatkan alat ekstraksi tersebut.^{16,17}

Berdasarkan latar belakang diatas penulis tertarik mengetahui perbandingan antara metode *boiling* dan kit komersial untuk diagnosis TB yang di tinjau dari aspek kualitas, kuantitas, dan integritas DNA.

1.2 Rumusan Masalah

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

1. Bagaimana perbedaan kualitas DNA dari ekstraksi DNA TB dengan menggunakan metode *boiling* dan kit komersial?
2. Bagaimana perbedaan kuantitas DNA dari ekstraksi DNA TB dengan menggunakan metode *boiling* dan kit komersial?
3. Bagaimana perbedaan integritas DNA dari ekstraksi DNA TB dengan menggunakan metode *boiling* dan kit komersial?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui perbandingan ekstraksi DNA TB melalui metode *boiling* dan kit komersial melalui aspek kualitas, kuantitas, dan integritas DNA.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menganalisis perbedaan kualitas DNA dari ekstraksi DNA TB dengan menggunakan metode *boiling* dan kit komersial.
2. Menganalisis perbedaan kuantitas DNA dari ekstraksi DNA TB dengan menggunakan metode *boiling* dan kit komersial.
3. Menganalisis perbedaan integritas dari ekstraksi DNA TB dengan menggunakan metode *boiling* dan kit komersial.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti

Hasil penelitian dapat menambah ilmu pengetahuan tentang bagaimana perbandingan ekstraksi DNA TB antara metode *boiling* dan kit komersial yang di tinjau dari aspek kualitas, kuantitas, dan integritas DNA.

1.4.2 Manfaat Bagi Klinisi

Penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan klinisi dalam hal penunjang diagnosis, yaitu dengan perbandingan ekstraksi DNA antara metode *boiling* dan kit komersial yang ditinjau dari aspek kualitas, kuantitas, dan integritas DNA.

1.4.3 Manfaat Bagi Ilmu Pengetahuan

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah terkait perbandingan ekstraksi DNA antara metode *boiling* dan kit komersial yang ditinjau dari aspek kualitas, kuantitas, dan integritas DNA.

1.4.4 Manfaat Bagi Peneliti Lain

Penelitian ini diharapkan dapat menambah gagasan untuk penelitian sejenis terkait perbandingan ekstraksi DNA antara metode *boiling* dan kit komersial yang ditinjau dari aspek kualitas, kuantitas, dan integritas DNA.

