

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Tuberkulosis (TB) adalah penyakit infeksi yang ditularkan melalui droplet yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* (Christanto, 2018). TB telah ditetapkan oleh *World Health Organization* (WHO) menjadi *global emergency* sejak tahun 1992 dan menjadi penyebab kematian nomor dua di dunia yang disebabkan oleh agen infeksi, setelah COVID-19. Kasus TB global menunjukkan tren peningkatan yang signifikan, mencapai 10,6 juta penderita di seluruh dunia. Angka ini meningkat dari 10,3 juta dan 10,0 juta pada dua tahun sebelumnya, yang membalikkan tren penurunan yang telah berlangsung dalam jangka panjang. Estimasi insiden TB Indonesia tahun 2021 sebesar 969.000 atau 354 per 100.000 penduduk. Kematian karena TB diperkirakan sebesar 144.000 atau 52 per 100.000 penduduk (Utami *et al.*, 2023). Prevalensi TB di Sumatera Barat berdasarkan Laporan Riskesdas Sumatera Barat pada tahun 2018, jumlah kasus TB semua tipe menurut jenis kelamin di Provinsi Sumatra Barat didapatkan data kasus TB pada laki-laki 5.190 kasus (62,70%), dan kasus TB pada perempuan 3.087 kasus (37,30) dengan total 8.277 (Riskesdas, 2019). Berdasarkan laporan *Global Tuberculosis Report 2023* oleh WHO, pemulihan TB Global belum mencapai target dikarenakan setiap tahunnya masih terdapat kesenjangan antara perkiraan jumlah orang yang mengidap TB dan jumlah kasus baru yang dilaporkan (WHO, 2023).

*Mycobacterium tuberculosis* adalah bakteri patogen intraseluler yang dikenal sebagai Basil Tahan Asam (Sabina Gero, 2018) (Maison, 2022). Meskipun mereka dapat bertahan hidup dalam cuaca yang dingin, kuman ini akan mati dengan sinar matahari langsung (Budi *et al.*, 2018). Infeksi TB dapat terjadi secara primer atau pascaprimier. Pasien yang menderita atau terinfeksi *Mycobacterium tuberculosis* dikategorikan menjadi 3 : latent TB infection (infeksi TB laten/LTBI), TB aktif, TB DR (drug resistens).

Upaya pencegahan TB telah dilakukan di tingkat global maupun nasional. Tingkat global WHO telah meluncurkan rumusan Program *END-TB* pada 2014 dengan satu tujuan, yaitu mengakhiri epidemi TB di seluruh dunia (Christanto,

2018). Tingkat nasional pemerintah telah menetapkan 6 strategi utama dalam penanggulangan kasus TB salah satunya adalah pemanfaatan hasil riset dan teknologi skrining, diagnosis, dan tatalaksana TB (Probandari *et al.*, 2020). Diagnosis dini dan diikuti dengan inisiasi pengobatan yang cepat serta mengikuti panduan pengobatan yang tepat adalah salah satu faktor penting dalam suksesnya penanganan kasus TB (Utami *et al.*, 2023). *Gold standard* penegakan diagnosis TB saat ini adalah kultur. Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* biasanya dibiakkan pada media Lowenstein-Jensen yang populer untuk mengisolasi strain *M. tuberculosis* pada manusia dan sebagian besar mikobakteri lainnya (Acharya *et al.*, 2020). Saat ini teknik molekuler sudah mulai menggeser teknik kultur, karena teknik molekuler dapat mengidentifikasi bakteri dengan cepat dengan nilai sensitivitas dan spesifitas yang tinggi (Doerr, 2013). Kultur juga membutuhkan waktu lebih dari satu minggu untuk memperoleh hasilnya, sehingga akan memperlambat penanganan TB lebih lanjut (Jannah & Rahmawati, 2009). Hal ini membuat penanganan TB yang terlambat dapat menyebabkan *Multi Drug Resisten-Tuberculosis* (MDR-TB). Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah salah satu metode yang dapat digunakan untuk mendeteksi bakteri sebagai metode diagnosis yang cepat dan tepat dengan jumlah sampel yang terbatas melalui amplifikasi DNA spesifik dengan sensitivitas yang tinggi (Farzam *et al.*, 2015). Spesifitas dan sensitivitas yang tinggi dapat dihasilkan dari hasil ekstraksi DNA yang memiliki konsentrasi dan kemurnian yang tinggi.

Ekstraksi DNA merupakan tahapan yang penting dalam teknik molekuler untuk mendapatkan isolat DNA. Isolat DNA nantinya diamplifikasi menggunakan PCR. Tentunya diharapkan isolat yang diekstrak mengandung konsentrasi dan kemurnian yang tinggi. Konsentrasi dan kemurnian sampel yang baik sangat diperlukan pada saat proses amplifikasi sehingga akan diperoleh visualisasi yg baik (Muna *et al.*, 2014). Beberapa teknik ekstraksi DNA telah dikembangkan untuk mencapai hasil yang optimal. Kemajuan dalam metode ekstraksi DNA biasanya diikuti oleh peningkatan biaya. Penggunaan beragam reagen kimia juga dapat membahayakan ekosistem jika digunakan dengan pengelolaan yang buruk, sementara itu metode ekstraksi DNA sederhana seperti metode boiling memiliki beberapa kelebihan, diantaranya mudah dilakukan, biaya murah, waktu yang

dibutuhkan singkat dan lebih ramah lingkungan (Muna *et al.*, 2014). Metode boiling dapat mengekstraksi DNA bakteri yang memiliki struktur umum Gram positif dan Gram negatif menggunakan suhu panas untuk melisiskan sel. Metode boiling juga memiliki kekurangan yaitu isolat DNA yang dihasilkan memiliki kemurnian yang rendah, diakibatkan karena tidak ada tahapan washing dan elution (Adhyatma *et al.*, 2020).

Penelitian-penelitian sebelumnya melakukan penambahan senyawa pada proses ekstraksi DNA dengan metode boiling untuk mendapatkan konsentrasi dan kemurnian yang lebih tinggi. Proteinase K adalah contoh senyawa yang sering digunakan dalam metode boiling. Proteinase K berfungsi mendegradasi protein yaitu dengan memotong atau mencerna protein dengan menghilangkan kontaminan berupa protein. Penelitian Wang *et al.* (2016) membuktikan bahwa dari beberapa penambahan senyawa Proteinase K memiliki sensitivitas hasil ekstraksi yang paling baik (Wang *et al.*, 2016). Homogenisasi dan pencairan lendir yang tepat oleh Proteinase K akan membantu menghilangkan zat-zat yang menghambat amplifikasi, serta meningkatkan hasil DNA yang diekstraksi (Peng *et al.*, 2020). Penelitian Lesiani *et al.*, (2023) membuktikan bahwa terdapat pengaruh konsentrasi penambahan Proteinase K terhadap kuantitas dan kualitas DNA dan menyarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut dengan konsentrasi yang berbeda. Penelitian Adhyatma *et al.*, (2020) menemukan waktu optimal untuk Inkubasi Sampel pada metode boiling adalah 10-30 menit. Pemilihan konsentrasi Proteinase K yang tepat menjadi faktor kritis dalam optimalisasi hasil ekstraksi DNA. Studi terdahulu menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi Proteinase K tidak selalu berbanding lurus dengan kualitas DNA yang dihasilkan. Penelitian Singh *et al.* (2018) menunjukkan bahwa konsentrasi Proteinase K yang terlalu tinggi (di atas 100 ng/ $\mu$ l) dapat berdampak negatif terhadap kualitas DNA yang diekstraksi. Hal ini terjadi karena pada konsentrasi tinggi, Proteinase K dapat mengalami autodigesti yang menghasilkan peptida dan asam amino yang justru dapat mengganggu proses kemurnian DNA. Selain itu, konsentrasi Proteinase K yang terlalu tinggi dapat menyebabkan degradasi berlebihan pada DNA target, terutama pada DNA yang sudah terfragmentasi, sehingga mengurangi kualitas hasil ekstraksi (Griffiths & Chacon-Cortes, 2014).

Berdasarkan penelitian diatas penulis tertarik untuk mengetahui konsentrasi Proteinase K optimal dan waktu inkubasi terbaik sehingga menghasilkan ekstraksi DNA yang baik secara kualitas dan kuantitas. Ketertarikan peneliti untuk mengeksplorasi topik ini juga didasari oleh kebutuhan terhadap metode ekstraksi DNA yang optimal, cepat, dan ekonomis untuk diagnosis TB.

## **1.2. Rumusan Masalah**

Bagaimana pengaruh penambahan Proteinase K berbagai konsentrasi dan waktu inkubasi terhadap hasil ekstraksi DNA *Mycobacterium tuberculosis* hasil ekstraksi dengan metode *boiling*?

## **1.3. Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Mengetahui pengaruh penambahan Proteinase-K berbagai konsentrasi dan waktu inkubasi terhadap hasil ekstraksi DNA *Mycobacterium tuberculosis* dengan metode *boiling*.

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

1. Mengidentifikasi pengaruh penambahan Proteinase K berbagai konsentrasi dan waktu inkubasi terhadap kuantitas DNA *Mycobacterium tuberculosis* hasil ekstraksi dengan metode *boiling*.
2. Menganalisis kualitas DNA *Mycobacterium tuberculosis* hasil ekstraksi dengan metode *boiling* dengan penambahan Proteinase K berbagai konsentrasi dan waktu inkubasi.
3. Melihat Nilai Cq, Integritas DNA serta menentukan konsentrasi Proteinase K dan waktu inkubasi optimal dalam ekstraksi DNA *Mycobacterium tuberculosis* dengan metode *boiling*.

## **1.4. Manfaat Penelitian**

### **1.4.1 Manfaat Terhadap Peneliti**

Menambah pengetahuan, wawasan, pemahaman dan keterampilan dalam teknik ekstraksi DNA metode *boiling*, khususnya pada bakteri *M. tuberculosis*.

#### **1.4.2 Manfaat Terhadap Masyarakat**

Memberikan kontribusi nyata dalam mengoptimalkan teknik diagnosis molekuler TB yang lebih cepat, akurat, dan terjangkau

#### **1.4.3 Manfaat Terhadap Ilmu Pengetahuan**

Memberikan informasi ilmiah mengenai efektivitas konsentrasi Proteinase-K dan waktu inkubasi optimal dalam proses ekstraksi DNA *M. tuberculosis* menggunakan metode boiling dan Menyediakan data dasar untuk pengembangan protokol ekstraksi DNA yang lebih efisien dalam diagnosis TB

