

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Biologi molekuler merupakan pertemuan berbagai bidang ilmu biologi dan fisika serta cabang ilmu biokimia, genetika, mikrobiologi, dan virologi yang sudah dimulai pada tahun 1930-an (Jannah *et al.* . 2021). Biologi molekuler merupakan cabang biologi yang mempelajari dasar-dasar molekuler yang terdiri dari aktivitas biologis yang terjadi di sel, terutama hubungan antara berbagai molekul contohnya *Deoxyribonucleic Acid* (DNA), *Ribonucleic Acid* (RNA) dan protein yang berperan menunjang kehidupan di dalam sel (Mark Herbert 2016).

Deoxyribonucleic Acid (DNA) adalah molekul yang menyimpan informasi genetik pada makhluk hidup dan beberapa organisme. DNA berperan sebagai dasar kehidupan yang mengatur berbagai proses biologis (Doudna and Gersbach 2015). Pada tahun 1869, DNA pertama kali ditemukan dari isolasi inti sel darah putih oleh Friedrich Miescher. Struktur DNA ditemukan pertama kali oleh James Watson dan Francis Crick pada tahun 1953, terdiri dari dua rantai nukleotida membentuk double heliks (Zhan *et al.* . 2023). Komponen DNA disusun oleh gula deoksiribosa, fosfat, dan basa nitrogen. Basa nitrogen pada DNA terdiri dari purin (Adenin dan Guanin) dan pirimidin (Sitosin dan Timin). Basa nitrogen saling berpasangan terikat oleh ikatan hidrogen , adenin berpasangan dengan timin dan guanin berpasangan dengan sitosin (Zeraati *et al.* 2018).

Informasi genetik pada DNA diterjemahkan menjadi mRNA melalui proses transkripsi pada sintesis DNA (Milenkovic and Pan 2024). RNA merupakan molekul asam nukleat yang berfungsi membawa informasi genetik dari DNA ke ribosom. Pada organisme tunggal seperti virus, RNA berfungsi sebagai bahan genetik utama untuk virus (Palermo and Soares 2023) Struktur RNA berupa satu rantai nukleotida (*single stranded*) yang tersusun oleh gula ribosa, gugus fosfat, dan empat basa nitrogen. Basa nitrogen pada RNA terdiri dari adenin, guanin, sitosin, dan urasil (Banerjee and Mukherjee 2024).

Virus RNA adalah jenis virus yang memiliki asam ribonukleat (RNA) sebagai materi genetik utamanya. Virus ini memiliki kemampuan untuk menginfeksi sel inang dan memanfaatkan mekanisme sel untuk mereplikasi dan menghasilkan partikel virus baru (Zhang *et al.* 2025). Beberapa contoh virus RNA yang dikenal luas termasuk virus influenza, HIV, dan SARS-CoV-2. RNA pada virus RNA berfungsi sebagai template untuk proses sintesis protein virus dan replikasi genom virus itu sendiri. RNA bersifat tidak stabil dan mudah terdegradasi karena faktor lingkungan seperti terpapar enzim RNase, suhu dan pH. Hal ini membuat RNA yang diekstraksi tidak dapat bertahan lama dan rusak, sehingga susah untuk dianalisis dan digunakan dalam penelitian maupun diagnosis (Sabsay and te Velthuis 2023)

Teknologi *Reverse Transcriptase* (RT) adalah teknologi yang menggunakan enzim *reverse transcriptase* untuk mengubah RNA menjadi DNA (Huber, Betz, and Marx 2023). *Reverse transcription* memungkinkan RNA diubah kembali menjadi DNA melalui enzim *reverse transcriptase*, menghasilkan *complementary* DNA (cDNA) (Jie *et al.* 2019). cDNA bersifat lebih stabil dibandingkan RNA dan dapat digunakan untuk berbagai analisis molekuler, seperti deteksi ekspresi gen dan identifikasi patogen (Mohr *et al.* 2024). cDNA hanya mencakup urutan gen yang aktif diekspresikan (ekson), sehingga lebih spesifik untuk penelitian tertentu.

Kemajuan teknologi biologi molekuler telah mempercepat pengembangan dan aplikasi cDNA (Saviano 2023). Penelitian terhadap cDNA menunjukkan lonjakan signifikan dalam berbagai bidang, termasuk diagnostik medis, terapi genetik, dan analisis penyakit. Penelitian Brown *et al.* (2015) cDNA memiliki sensitivitas yang lebih tinggi dalam mendeteksi patogen dibandingkan analisis RNA langsung. Teknologi biologi molekuler menjadi dasar bagi pengembangan vaksin berbasis RNA, seperti mRNA vaksin yang mengalami kemajuan pesat pada pertengahan 2010-an.

cDNA ini sering digunakan sebagai cetakan (template) dalam amplifikasi genetik menggunakan metode PCR konvensional (Green and Sambrook 2019). PCR konvensional berfungsi untuk memperbanyak sekuens DNA target secara

spesifik melalui siklus denaturasi, annealing, dan ekstensi dengan bantuan primer yang sesuai. Proses PCR memungkinkan deteksi gen atau ekspresi gen tertentu dari sampel RNA yang telah diubah menjadi cDNA (Chowdhury, Khan, and Bora2014). Penggunaan PCR konvensional pada cDNA sangat penting dalam analisis genetik, diagnosis penyakit berbasis molekuler, dan validasi ekspresi gen karena mampu memberikan hasil yang akurat dengan biaya yang relatif lebih rendah dibandingkan metode PCR yang lebih modern seperti *real-time* PCR (Chen *et al* . 2011).

Pengembangan cDNA, dua pendekatan utama yang digunakan dalam pengembangan cDNA, yaitu cDNA yang dirancang secara *in-house* (cDNA *in-house*) (Alhamlan *et al* . 2020). keterbatasan fleksibilitas desain menjadi tantangan besar, terutama bagi laboratorium dengan anggaran terbatas (Taylor *et al* ., 2014). *In-house* dapat menjadi alternatif yang lebih ekonomis dan fleksibel. Pada cDNA, peneliti dapat merancang primer sesuai kebutuhan spesifik. Penelitian oleh Wang *et al* . (2015) menunjukkan bahwa cDNA *in-house* dapat diadaptasi untuk mengidentifikasi mutasi spesifik pada patogen lokal, yang sering kali tidak terdeteksi oleh produk komersial. Penelitian memiliki tantangan tersendiri, seperti kebutuhan akan keahlian teknis yang lebih tinggi, serta waktu dan usaha tambahan untuk memastikan validitas hasil yang diperoleh.

Analisis Efisiensi dan efektivitas menjadi dua parameter utama dalam desain cDNA *in-house* dengan cDNA komersial (Mote *et al* . 2021). Efisiensi mencakup aspek biaya, sedangkan efektivitas mencakup berhasilnya mengamplifikasi (memperbanyak) DNA target secara spesifik dan jelas, sehingga menghasilkan pita DNA yang sesuai ukuran dan terbaca di gel elektroforesis. (RÁCZ *et al* . 2019). Perbandingan dapat memberikan panduan bagi laboratorium, terutama dalam memilih metode yang paling sesuai dengan kebutuhan dan sumber daya yang tersedia.

Meningkatnya kebutuhan diagnostik molekuler yang cepat, akurat, dan hemat biaya, studi ini bertujuan untuk menganalisis efisiensi serta efektivitas desain cDNA *in-house* (Torrejón *et al* . 2023). Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi signifikan dalam bidang diagnostik molekuler, serta menjadi dasar bagi

pengembangan strategi yang lebih hemat biaya tanpa mengorbankan kualitas hasil analisis. Penelitian ini juga diharapkan dapat menjadi referensi bagi laboratorium untuk menentukan pendekatan terbaik. cDNA merupakan salinan DNA dari RNA yang disintesis enzim *reverse transcriptase*. Karena lebih stabil dibanding RNA, cDNA banyak digunakan dalam deteksi molekuler seperti PCR. Desain cDNA secara *in-house* menjadi alternatif ekonomis dan fleksibel. Penjelasan latar belakang diatas, penulis termotivasi melakukan penelitian yang berjudul “Identifikasi Efisiensi dan Efektivitas Desain cDNA *in-house* menggunakan metode PCR Konvensional” untuk memastikan kualitas dan keandalannya dalam aplikasi biologi molekuler.

1.2 Rumusan Masalah

- 1) Bagaimana efisiensi desain cDNA *in-house* berdasarkan waktu dan biaya menggunakan metode PCR Konvensional?
- 2) Bagaimana efektivitas desain cDNA *in-house* dalam menghasilkan PCR yang valid dan konsisten?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Identifikasi Efisiensi dan Efektivitas Desain cDNA *in-house* menggunakan metode PCR Konvensional

1.3.2 Tujuan khusus

- 1) Mengidentifikasi efisiensi desain cDNA *in-house* berdasarkan waktu dan biaya sintesis menggunakan metode PCR Konvensional
- 2) Menilai efektivitas desain cDNA *in-house* menggunakan metode PCR Konvensional

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Penelitian Bagi Peneliti

- 1) Peneliti akan mendapatkan wawasan yang lebih mendalam mengenai kualitas dan efektivitas berbagai metode sintesis DNA.
- 2) Penghematan biaya penelitian, penelitian ini dapat menawarkan pilihan yang lebih hemat bagi peneliti dengan anggaran yang terbatas.

1.4.2 Manfaat Penelitian Bagi Perkembangan Ilmu Pengetahuan

- 1) Penelitian ini akan menambah kekayaan literatur ilmiah dalam bidang Bioteknologi dan Biologi Molekuler.
- 2) Hasil dari penelitian ini bisa menjadi dasar bagi studi-studi lebih lanjut yang mengeksplorasi aplikasi cDNA dalam konteks lain.

1.4.3 Manfaat Penelitian Bagi Perguruan Tinggi

Penelitian ini dapat memberikan manfaat bagi perguruan tinggi sebagai referensi dalam pengembangan metode sintesis cDNA yang efisien dan efektif. Institusi pendidikan dapat mengurangi ketergantungan terhadap produk komersial yang mahal dengan adanya desain cDNA *in-house* yang lebih ekonomis dan fleksibel