

BAB I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Demam berdarah dengue (DBD) adalah penyakit menular yang disebabkan oleh infeksi virus *dengue* (DENV) melalui gigitan nyamuk *aedes aegypti* sebagai vektor penularan utama, kasus DBD banyak ditemukan di wilayah yang memiliki iklim tropis dan sub-tropis di seluruh dunia (Zebua R *et al.*, 2022). DBD menjadi permasalahan yang cukup serius dalam beberapa dekade terakhir, *World Health Organization* (WHO) menyatakan bahwa kasus DBD tertinggi dalam sejarah dunia tercatat pada tahun 2023 yang memengaruhi lebih dari 80 negara di semua wilayah WHO. Dilaporkan lebih dari 6,5 juta kasus tercatat yang menyebabkan 7.300 kematian terkait demam berdarah (WHO, 2024).

Indonesia sebagai negara yang beriklim tropis tercatat sebanyak 46.168 kasus DBD secara nasional yang kemudian menyebabkan kematian sebanyak 350 jiwa pada tahun 2023, dimana jumlah kasus tertinggi terdapat di Kota Bandung, Kota Kendari, Kabupaten Bandung Barat, Kota Bogor, dan Kabupaten Suban (WHO, 2024). Angka kasus DBD di Indonesia meningkat pada tahun 2024 hingga 88.593 kasus yang menyebabkan kematian sebanyak 621 jiwa (Kemenkes, 2024).

Virus *dengue* adalah jenis virus yang termasuk dalam famili *Flaviviridae* dan genus *Flavivirus*, virus ini mencakup lebih dari 70 patogen penyebab penyakit utama manusia dan memengaruhi sebagian besar daerah antar-tropis. DENV terdiri dari empat serotip termasuk DENV-1, DENV-2, DENV-3, dan DENV-4, dimana keempat jenis serotip ini dapat menyebabkan infeksi pada manusia (Khan MB *et al.*, 2023). Infeksi virus *dengue* mengakibatkan berbagai tingkat kondisi patologis mulai dari demam berdarah tanpa gejala yang jika berada dalam kondisi parah dapat menyebabkan koagulopati, peningkatan kerapuhan pembuluh darah, dan peningkatan permeabilitas, gejala-gejala ini kemudian disebut dengan DBD. Demam ini jika berkembang akan menyebabkan syok hipovolemik atau disebut juga dengan *dengue shock syndrom* (DSS) yang dapat berakibat fatal bagi penderitanya (Khetarpal N *et al.*, 2016). Perparahan fase demam yang cukup fatal ini memerlukan adanya inovasi uji diagnostik cepat DBD untuk mengurangi adanya risiko perparahan penyakit dengan hasil deteksi

yang tepat dan akurat, sehingga optimalisasi protokol diagnostik DBD yang akurat sangat bergantung pada evaluasi komprehensif terhadap konsistensi hasil dari berbagai teknik molekuler.

Beberapa penelitian telah melakukan uji diagnostik DBD dengan memanfaatkan teknik molekuler berdasarkan deteksi RNA dengan reaksi *real time reverse transcriptase-polymerase chain reactin* (qRT-PCR) dan *nested* PCR, kedua metode ini merupakan metode cepat, spesifik, dan sensitif untuk pengelolaan infeksi akut serta pengawasan dan investigasi wabah yang memungkinkan adanya deteksi dengan kuantifikasi RNA virus (Vanneste K *et al.*, 2018). qRT-PCR memiliki keunggulan memberikan hasil yang sensitif dan akurat dalam waktu yang cukup singkat, sensitivitas dan spesifisitasnya yang tinggi sangat cocok sebagai metode deteksi dini untuk DBD, metode ini juga lebih unggul dibandingkan dengan deteksi antigen dan tes serologi karena qRT-PCR dapat mendeteksi DENV sejak dini bahkan sebelum pasien menunjukkan gejala (Kinanti DR *et al.*, 2024). *Nested* PCR merupakan teknik molekuler yang melibatkan dua reaksi amplifikasi berurutan dan masing-masing menggunakan sepasang primer yang berbeda, produk amplifikasi pertama digunakan sebagai template untuk proses reaksi kedua yang disiapkan oleh oligonukleotida yang ditempatkan dalam pasangan-pasangan primer pertama. Penggunaan dua pasang *oligonukleotida* ini memungkinkan adanya jumlah siklus yang lebih tinggi sehingga meningkatkan sensitifitas dari *nested* PCR (Green & Sambrook, 2019).

Dalam pemanfaatan metode qRT-PCR dan *nested* PCR sebagai uji diagnostik, beberapa penelitian sebelumnya telah melakukan perbandingan mengenai uji qRT-PCR dan *nested* PCR sebagai deteksi secara molekuler pada jenis virus lain. Sebuah penelitian yang dilakukan oleh Manuel *et al* (2021) yang membandingkan qRT-PCR dengan *nested* PCR untuk mendeteksi *Human nanoviruv* (NoV) membuktikan bahwa uji *nested* PCR memiliki batas deteksi yang lebih baik dibandingkan dengan qRT-PCR. Penelitian ini menunjukkan bahwa meskipun volume *template* tidak memengaruhi hasil secara signifikan, tetapi batas deteksi atau *low limit of detection* (LOD) berbeda antara kedua metode yang digunakan, dibuktikan dengan *nested* PCR mampu mendeteksi DNA target pada konsentrasi yang lebih rendah, ini menunjukkan bahwa *nested* PCR

lebih sensitif dalam mendeteksi RNA dibandingkan dengan qRT-PCR (Manuel CS *et al.*, 2021).

Penelitian yang dilakukan oleh Mijatovic *et al* (2016) dalam mendeteksi Rotavirus A (RVA) menggunakan metode qRT-PCR dan *nested* PCR, penelitiannya menyebutkan bahwa *nested* PCR mampu menunjukkan kesesuaian hasil yang sangat tinggi. Penelitian ini menyimpulkan bahwa kedua metode menunjukkan hasil positif yang konsisten untuk mendeteksi RVA, tetapi *nested* PCR lebih unggul dalam karakterisasi genetik (Mijatovic SM *et al.*, 2016). Ramesh *et al* (2022) melakukan uji deteksi *Human papillomavirus* (HPV) menggunakan metode qRT-PCR dan *nested* PCR, penelitiannya membuktikan bahwa berdasarkan analisis menggunakan koefisien Kappa Cohen menunjukkan hasil kesepakatan yang rendah ($\kappa = 0,19$) untuk hasil deteksi HPV-16, sedangkan pada HPV-18 menunjukkan konsistensi hasil yang tinggi ($\kappa = 1,00$) antara kedua metode. Penelitian ini juga mendukung bahwa penggunaan qRT-PCR merupakan metode yang lebih sensitif dibandingkan dengan *nested* PCR dalam skrining HR-HPV (Ramesh PS *et al.*, 2022). Penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa meskipun mendeteksi jenis virus yang sama, deteksi virus HPV pada genotip yang berbeda menunjukkan tingkat kesesuaian yang berbeda antara kedua metode.

Ketiga penelitian ini menunjukkan bahwa metode qRT-PCR dan *nested* PCR tidak selalu menunjukkan hasil yang selalu identik, hasil yang diperoleh dapat dipengaruhi oleh perbedaan sensitivitas, panjang ampikon, dan skala hasil yang dapat memengaruhi klasifikasi status infeksi pasien. Analisis tingkat kesesuaian antara kedua metode menjadi krusial dalam konteks kesehatan karena keputusan diagnostik bisa berimplikasi langsung pada penanganan pasien, maka evaluasi tingkat kesesuaian suatu metode dapat digunakan untuk membuktikan validitas suatu metode (Sabharwal CL, 2021). Evaluasi tingkat kesesuaian metode juga bermanfaat dalam memvalidasi metode baru terhadap standar referensi untuk menentukan apakah metode qRT-PCR dan *nested* PCR dapat digunakan secara saling melengkapi atau salah satu metode perlu digantikan.

Perbedaan hasil perbandingan dalam berbagai penelitian disebabkan oleh beberapa faktor termasuk jenis virus atau *strain* yang diuji, kondisi laboratorium, serta primer dan probe yang digunakan. Penelitian mengenai tingkat kesesuaian

qRT-PCR dan *nested* PCR dalam deteksi virus *dengue* sangat penting karena virus ini memiliki empat serotipe yang dapat menunjukkan variasi genetik yang signifikan. Berdasarkan latar belakang diatas, maka peneliti tertarik untuk meneliti tentang tingkat kesesuaian deteksi qRT-PCR dengan *nested* PCR pada identifikasi DENV secara molekuler.

1.2. Rumusan Masalah

- 1) Bagaimana hasil identifikasi virus *dengue* (DENV) pada pasien demam berdarah *dengue* (DBD) dengan metode qRT-PCR dan *nested* PCR?
- 2) Bagaimana tingkat kesesuaian metode qRT-PCR dan *nested* PCR dalam identifikasi virus *dengue* (DENV) pada pasien demam berdarah *dengue* (DBD)?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui tingkat kesesuaian qRT-PCR dan *nested* PCR dalam identifikasi virus *dengue* (DENV) secara molekuler.

1.3.2. Tujuan Khusus

- 1) Melakukan identifikasi virus *dengue* (DENV) pada pasien Demam Berdarah *dengue* (DBD) dengan metode qRT-PCR dan *nested* PCR.
- 2) Menganalisis tingkat kesesuaian metode qRT-PCR dan *nested* PCR dalam identifikasi virus *dengue* (DENV) pada pasien Demam Berdarah *dengue* (DBD).

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Bagi Peneliti

Studi ini bermanfaat dalam pengembangan ide dan gagasan yang telah diperoleh serta untuk menambah wawasan ilmu pengetahuan tentang metode yang tepat, cepat, dan efisien untuk identifikasi virus *dengue* dalam diagnosis demam berdarah *dengue* (DBD).

1.4.2. Manfaat Bagi Ilmu Pengetahuan

Studi ini bermanfaat sebagai bahan informasi peneliti dan tenaga kesehatan lainnya tentang pemilihan metode yang tepat, cepat, dan efisien untuk identifikasi virus *dengue* dalam diagnosis demam berdarah *dengue* (DBD).

1.4.3. Manfaat Bagi Perguruan Tinggi

Studi ini bermanfaat sebagai media pengimplementasian Tri Dharma Perguruan Tinggi dan meningkatkan reputasi perguruan tinggi dari aspek publikasi ilmiah.

1.4.4. Manfaat Bagi Masyarakat

Studi ini bermanfaat sebagai informasi mengenai virus *dengue* (DENV), demam berdarah *dengue* (DBD), serta metode untuk mengidentifikasi virus *dengue* (DENV) dalam diagnosis demam berdarah *dengue* (DBD).

