

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Pada era modern, biologi molekuler semakin dikenal di Indonesia dan terus mengalami perkembangan, terutama dalam bidang kesehatan. Metode biologi molekuler memiliki beberapa keunggulan, antara lain sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi serta efisiensi waktu dalam proses analisis. Penentuan metode yang digunakan dalam analisis biologi molekuler dapat dipengaruhi oleh kemajuan teknologi. Perkembangan teknologi di bidang ini juga menjadi terobosan baru dalam mendeteksi sumber infeksi yang berkontribusi signifikan terhadap proses diagnosis, termasuk deteksi penyakit yang disebabkan oleh bakteri dan virus (Kariri dkk., 2020).

Hepatitis B Virus (HBV) merupakan virus yang menyebabkan penyakit hepatitis B (peradangan hati). Penyakit ini dapat muncul sebagai kondisi akut maupun kronis (Gozali, 2020). Di dunia, angka kematian akibat infeksi virus dan kanker hati yang berhubungan dengan hepatitis serta sirosis setara dengan kematian akibat tuberkulosis dan lebih tinggi dibandingkan dengan kematian akibat HIV. Namun, angka kematian yang disebabkan oleh hepatitis virus terus mengalami peningkatan, sementara kematian akibat tuberkulosis dan HIV menunjukkan tren penurunan. Dari total kematian tersebut, 47% disebabkan oleh virus hepatitis B. Salah satu negara di kawasan Asia Tenggara dengan prevalensi hepatitis B tertinggi adalah Indonesia. Berdasarkan besaran masalah hepatitis tersebut, eliminasi hepatitis B pada tahun 2030 menjadi

salah satu Rencana Aksi Nasional (RAN) Pencegahan dan Pengendalian Hepatitis (Kementerian Kesehatan RI, 2020).

Hepatitis B Virus (HBV) memiliki empat gen utama, yaitu gen S yang mengkode protein permukaan virus, gen C yang mengkode protein inti, gen P yang mengkode DNA polimerase, dan gen X yang sering disebut juga dengan gen *HBx* (Abbas dkk., 2015). *HBx* adalah protein regulator multifungsi yang terlibat dalam karsinogenesis hati terkait infeksi HBV. *HBx* dilaporkan memiliki sifat onkogenik. Ekspresi *HBx* dapat memicu atau mendukung perkembangan karsinoma hepatoseluler (HCC) (Agustiningsih dkk., 2024). Gen *HBx* yang terintegrasi dalam DNA kromosom sering ditemukan pada pasien dengan diagnosis HCC. *HBx* menunjukkan perannya dalam mengganggu berbagai mekanisme seluler dengan mengacaukan homeostasis sel inang, sehingga memicu sifat tumorigenik yang berkontribusi pada perkembangan HCC (Sivasudhan dkk., 2022).

Keberadaan gen sebagai faktor virulensi pada suatu patogen dapat dideteksi dengan teknik biologi molekuler seperti PCR (*Polymerase Chain Reaction*). PCR ini bertujuan untuk mengamplifikasi DNA (Praja dan Rosalina, 2021). PCR dimanfaatkan untuk mendeteksi penyakit genetik serta infeksi yang disebabkan oleh berbagai jenis mikroorganisme. Proses PCR terdiri dari tiga tahap utama yang berulang dan berlangsung dengan cepat, yaitu denaturasi DNA untai ganda, penempelan primer pada wilayah spesifik target DNA (*annealing*) dan sintesis untai DNA baru (ekstensi) (Nurhayati dan Darmawati, 2017).

Salah satu komponen penting dalam melakukan metode PCR adalah primer. Kegagalan amplifikasi dapat disebabkan karena ketidaksesuaian penempelan primer pada tahapan *annealing* (Nafisa dkk., 2022). Primer spesifik untuk amplifikasi gen *HBx* sebagai penunjang diagnosis medis hingga saat ini belum dikembangkan secara spesifik di Indonesia. Penelitian Wungu dkk. (2019) telah menggunakan primer untuk amplifikasi gen *HBx*, tetapi lebih difokuskan pada analisis mutasi gen *HBx* menggunakan metode *nested* PCR. Oleh karena itu, diperlukan perancangan primer yang spesifik untuk amplifikasi gen *Hbx* guna mendukung diagnosis dini perkembangan hepatitis terkait HCC.

Primer yang baik adalah primer yang memiliki karakteristik spesifik yang memungkinkan amplifikasi pada area tertentu dalam genom (Prajna, 2021). Perancangan primer yang akan digunakan untuk amplifikasi harus memenuhi kriteria-kriteria yang sesuai, meliputi panjang primer, komposisi primer, *melting temperatur* (T_m), dan interaksi primer-primer. Penyusunan primer didasarkan pada urutan oligonukleotida dengan panjang 15 – 32 pasangan basa (pb) yang dirancang pada ujung 5' dari DNA cetakan maupun urutan komplementernya (Nurhayati dan Darmawati, 2017).

Seiring dengan kemajuan teknologi di bidang biomolekuler, perancangan primer dapat dilakukan menggunakan pendekatan komputasi dengan memanfaatkan perangkat komputer dan perangkat lunak (*software*). Analisis *in silico* merupakan metode prediksi berbasis komputasi yang berperan penting dalam proses perancangan primer (Saraswati dkk., 2019).

Metode ini memudahkan perolehan primer yang baik untuk mendukung amplifikasi fragmen gen (Merdekawati dan Nurhayati, 2023). Perancangan primer untuk deteksi gen *HBx* pada HBV menggunakan teknik *in silico* diharapkan mampu menghasilkan rancangan primer yang baik untuk analisis PCR, khususnya dalam mendukung diagnosis yang berkaitan dengan HCC, sehingga berkontribusi dalam upaya pengendalian dan eliminasi kasus hepatitis B.

B. Rumusan Masalah

Bagaimana rancangan pasangan primer yang spesifik untuk amplifikasi gen *HBx* pada *Hepatitis B Virus* (HBV)?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengidentifikasi daerah konservatif dari urutan gen *HBx* pada *Hepatitis B Virus* (HBV).
2. Merancang kandidat pasangan primer spesifik untuk amplifikasi gen *HBx* pada *Hepatitis B Virus* (HBV).
3. Menganalisis struktur sekunder pasangan primer spesifik untuk amplifikasi gen *HBx* pada *Hepatitis B Virus* (HBV).
4. Menguji similaritas pasangan primer yang telah dirancang dalam mengamplifikasi gen *HBx* pada HBV menggunakan metode *in silico*.

D. Ruang Lingkup

Penelitian ini dilakukan dalam ruang lingkup ilmu Teknologi Laboratorium Medis bidang Biologi Molekuler.

E. Manfaat Penelitian

1. Manfaat teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat menambah kepustakaan dan memberikan informasi ilmiah di bidang Biologi Molekuler khususnya terkait perancangan primer gen *HBx* pada *Hepatitis B Virus* (HBV) menggunakan pendekatan *in silico* untuk analisis PCR.

2. Manfaat praktis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan rekomendasi dalam optimalisasi dan pengembangan pengujian molekuler pada diagnosis Hepatitis B yang berkaitan dengan HCC sehingga berkontribusi dalam upaya pengendalian dan eliminasi kasus hepatitis B. Penelitian ini juga diharapkan mampu berkontribusi dalam pengembangan metode penelitian biomedis yang lebih canggih dan hemat biaya menggunakan metode komputasional.

F. Keaslian Penelitian

1. Penelitian Abbas, Ajmal dan Afroze (2015) "*Primer Designing for PreS Region of Hepatitis B Virus from The Most Conserved Patches of Hepatitis B Virus Genome*". Penelitian tersebut berhasil merancang Primer Nhepf1 (*forward primer*) dan Primer Nhepr1 (*reverse primer*) untuk mengamplifikasi daerah *PreS* genom HBV. Pasangan primer tersebut dirancang menggunakan *software* biologi PRIMER versi 5.0 dan optimal pada suhu 50°C.

Persamaan : metode perancangan dan organisme patogen

Perbedaan : gen spesifik dan *software* untuk merancang primer

Pada penelitian yang akan dilakukan, pasangan primer spesifik akan dibuat untuk amplifikasi gen *HBx* pada HBV secara *in silico* dengan bantuan *software* Primer-BLAST.

2. Penelitian Suwarny, Purnama dan Sanatang (2025) “Perancangan Primer Secara *In Silico* untuk Amplifikasi Gen IGF1 Menggunakan Aplikasi Bioinformatika”. Hasil dari penelitian ini adalah rancangan primer yang dapat digunakan untuk amplifikasi gen IGF1. Perancangan primer dan analisis primer spesifik dilakukan dengan pendekatan *in silico*. *Software* yang digunakan untuk perancangan primer pada penelitian tersebut adalah Primer3Plus dan analisis struktur sekunder menggunakan *software* Clone Manager Demo 9.

Persamaan : metode perancangan

Perbedaan : gen spesifik, organisme patogen, *software* untuk merancang dan menganalisis primer, uji similaritas

Penelitian ini berfokus pada perancangan pasangan primer spesifik untuk amplifikasi gen *HBx* pada HBV. *Software* yang akan digunakan untuk merancang kandidat primer yaitu Primer-BLAST selanjutnya kandidat primer akan dianalisis struktur sekundernya menggunakan NetPrimer dan dilakukan uji similaritas menggunakan Nucleotide BLAST.

3. Penelitian Praja dan Rosalina (2021) “Perancangan Primer Gen *IktB* pada *Fusobacterium necrophorum* untuk Analisis PCR”. Penelitian tersebut berhasil merancang pasangan primer yang spesifik untuk amplifikasi gen

IktB pada *F.necrophorum*. Perancangan pasangan primer spesifik pada penelitian tersebut dibuat secara *in silico* menggunakan Primer-BLAST dengan cetakan primer berupa urutan sekuen gen yang langsung diambil dari NCBI. Selanjutnya, kandidat primer dianalisis struktur sekundernya menggunakan NetPrimer dan diuji similaritas menggunakan Nucleotide BLAST.

Persamaan : metode perancangan, *software* untuk merancang dan menganalisis kandidat primer

Perbedaan : gen spesifik, organisme dan penentuan daerah konservatif sebagai cetakan primer

Penelitian yang akan dilakukan oleh peneliti adalah merancang primer spesifik untuk mendeteksi gen *HBx* yang diekspresikan oleh HBV sebagai pembawa sifat onkogenik. Penentuan daerah konservatif urutan gen *HBx* pada HBV akan dilakukan terlebih dahulu menggunakan *website* MAFFT *version 7* dan Unipro UGENE *version 52* untuk menentukan urutan gen sebagai cetakan primer yang spesifik.