

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Lawar

1. Definisi Lawar

Lawar, sebuah hidangan tradisional yang berasal dari Provinsi Bali, terdiri dari perpaduan antara daging atau ikan, sayuran, dan rempah-rempah. Hidangan ini telah menjadi bagian dari budaya Bali selama bertahun-tahun, bukan hanya sebagai sajian kuliner, tetapi juga sebagai elemen penting dalam upacara keagamaan dan adat istiadat tradisional, seperti yang diadakan di tempat-tempat suci (pura), pernikahan, pemakaman, dan upacara keagamaan lainnya. Dari masa lampau hingga saat ini, masyarakat yang beragama Hindu di Bali terus membuat dan menikmati Lawar, menjadikannya sebagai simbol identitas budaya bagi penduduk Hindu di Bali (Purnama, dkk., 2017).

2. Jenis-Jenis Lawar

Di Provinsi Bali memiliki banyak jenis lawar. Secara umum terdapat dua jenis lawar yakni : lawar merah dan lawar putih. Lawar memiliki tiga komponen utama, yaitu *rames*, *ketekan*, dan *jukut*. *Rames* adalah kulit hewan yang telah direbus dan kemudian dipotong menjadi potongan kecil. *Jukut* adalah sayuran yang sebelumnya direbus dan dicincang kasar. Sayuran yang sering digunakan termasuk nangka muda, pepaya muda, daun belimbing, dan kacang panjang. *Ketekan* adalah daging yang dicincang halus, diberi bumbu *bali genep*, dan dibungkus dengan daun pisang sebelum dipanggang hingga matang atau setengah matang (Purwanatha, dkk., 2023).

3. Tingkat Kematangan Daging Babi Pada Lawar Plek

Dalam hidangan lawar plek terdapat tingkat kematangan daging babi yang digunakan yaitu : Daging babi mentah adalah daging yang masih berwarna merah pekat dan memiliki tekstur berserat serta kaku; Daging babi tidak masak sempurna (setengah matang) adalah daging yang dimasak pada suhu 60°C selama 10 hingga 20 menit. Daging tersebut ditandai dengan warna merah kecoklatan dan sedikit lebih lembut dalam teksturnya; Daging babi matang sempurna adalah daging yang dimasak pada suhu 60°C selama 20 hingga 30 menit. Ditandai dengan warna kecoklatan dan memiliki tekstur yang lebih lunak (Guna, 2017).

B. *Taeniasis*

1. Definisi *Taeniasis*

Taeniasis pada manusia adalah infeksi parasit yang disebabkan oleh tiga spesies cacing pita, yaitu *Taenia saginata* (cacing pita sapi), *Taenia solium* (cacing pita babi), dan *Taenia asiatica* (cacing pita Asia). Manusia dapat terinfeksi *Taenia saginata* jika mengonsumsi daging sapi yang belum matang sepenuhnya sedangkan *Taenia solium* dan *Taenia asiatica* jika mengonsumsi daging babi yang belum matang atau setengah matang. Seringkali, penderita *taeniasis* tidak menyadari bahwa mereka terinfeksi cacing pita karena gejalanya umumnya ringan atau bahkan tidak muncul sama sekali (CDC, 2020).

2. Penyebab *Taeniasis*

Taeniasis terjadi ketika telur atau larva cacing pita menginfeksi usus manusia. Beberapa jenis cacing pita yang dapat menyebabkan *taeniasis* antara lain: *T. asiatica* (daging babi), *T. Saginata* (daging sapi), *T. Solium* (daging babi). Cacing tersebut dapat masuk ke dalam tubuh manusia melalui beberapa cara,

yaitu: infeksi dapat terjadi karena mengonsumsi daging babi atau sapi yang belum dimasak sempurna, kontak dengan barang-barang yang bisa terkontaminasi oleh telur cacing pita, terutama jika tidak diikuti dengan mencuci tangan, penularan juga mungkin terjadi melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi telur cacing pita dan tidak menggunakan alas kaki saat berjalan di area yang banyak mengandung kotoran babi dapat meningkatkan risiko infeksi (Kemenkes RI, 2022).

3. Gejala Klinis *Taeniasis*

Taeniasis dapat menimbulkan gejala seperti sensasi tidak nyaman di bagian perut, masalah pencernaan, diare, sembelit, migrain, dan anemia. Pemeriksaan sediaan apusan darah tepi pada jumlah eosinofil mengalami peningkatan. *Neurocysticercosis* adalah bentuk *cysticercosis* yang dapat menyebabkan gangguan motorik, masalah saraf sensorik, dan gangguan mental. *Sistiserkosis* di mata bisa menghasilkan ketidaknyamanan, penglihatan kabur, dan bahkan kebutaan. Di sisi lain, infeksi oleh cacing pita ini dapat menyebabkan jantung berdetak >100/menit, sesak napas, kehilangan kesadaran, dan gangguan irama jantung pada otot jantung (Kaunang, dkk., 2022).

4. Komplikasi *Taeniasis*

Meskipun *taeniasis* merupakan infeksi yang jarang terjadi, penting untuk diingat bahwa penyakit ini dapat menyebabkan komplikasi serius pada usus, seperti obstruksi usus akut, nekrosis pankreas, dan obstruksi usus. Dalam kasus yang jarang terjadi, *taeniasis* juga dapat mengakibatkan komplikasi pada sistem hepatobilier. Oleh karena itu, walaupun *taeniasis* jarang terjadi, kondisi ini perlu

dipertimbangkan sebagai penyebab potensial dari masalah perut akut dengan komplikasi bedah yang tidak biasa (Prasada, *et al.*, 2017).

5. Diagnosis *Taeniasis*

Diagnosis *taeniasis* terutama didasarkan pada pencarian parasit dalam tinja. Beberapa tes telah dikembangkan, masing-masing memiliki kekuatan dan kelemahannya sendiri. Metode yang paling banyak digunakan untuk mendiagnosis *Taeniasis* adalah pengujian mikroskopis tinja untuk mendeteksi keberadaan *Taenia sp* berupa *proglotid* atau telur, dan deteksi dengan ELISA. Kemungkinan mendeteksi antibodi spesifik *Taenia sp* dalam serum juga telah dibuktikan dan metode molekuler juga telah dijelaskan (Mwape and Gabriël, 2014). Mengingat ketidakefektifan teknik morfologi dan imunologi untuk diagnosis *Taenia asiatica*, teknik molekuler, yang jarang digunakan dalam prosedur diagnostik konvensional adalah satu-satunya cara untuk menghindari kesalahan diagnosis (Galán-Puchades and Fuentes, 2013).

6. Pengobatan *Taeniasis*

Praziquantel adalah obat yang sering digunakan untuk mengobati infeksi *taeniasis* aktif yang diberikan melalui *oral*. Selain alternatif obat untuk *taeniasis* adalah niklosamida, diberikan secara oral dengan dosis tunggal. Albendazole, diberikan melalui *oral* dan dapat digunakan sebagai pilihan lain untuk pengobatan *taeniasis* (CDC, 2020).

7. Pencegahan *Taeniasis*

Salah satu cara mencegah penyakit cacing pita adalah dengan memastikan daging dimasak pada suhu yang aman. Untuk memastikan suhu internal daging yang telah dimasak, disarankan untuk menggunakan termometer makanan. Jangan

mencicipi daging sebelum matang sepenuhnya. Menurut rekomendasi dari United States Department of Agriculture (USDA), berikut adalah cara menyiapkan daging: untuk daging potong utuh, masak hingga suhu minimal 145°F (63°C) di bagian daging yang paling tebal dengan termometer makanan, dan biarkan daging beristirahat selama 3 menit. Untuk daging giling, masak hingga suhu minimal 71 °C. Daging cincang tidak memerlukan waktu istirahat. (CDC, 2013).

C. Parasit *Taenia asiatica*

1. Taksonomi

Dalam artikel Eom, Rim *and* Jeon, (2020) menyampaikan taksonomi dari parasit *Taenia asiatica* yaitu sebagai berikut :

Domain : *Eukaryota*

Kingdom : *Animalia*

Phylum : *Platyhelminthes*

Class : *Cestoda*

Order : *Cyclophyllidea*

Family : *Taeniidae*

Genus : *Taenia*

Spesies : *Taenia asiatica*

2. Morfologi

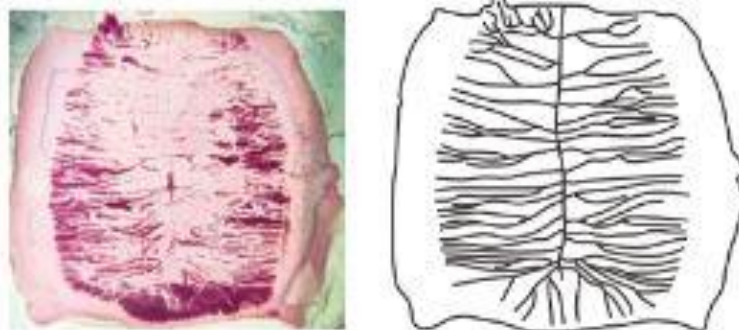
Dalam hal morfologi, telurnya berukuran sekitar 30-40 × 20-30 mikron dan berwarna kecoklatan. Lapisan embrio forenya memiliki garis-garis radial, dan di dalamnya terdapat embrio berbentuk *hexacanth*. Telur dari *Taenia sp* tidak dapat dibedakan satu sama lain, maupun dari anggota *Taeniidae* lainnya. Telurnya

memiliki diameter sekitar 30-35 mikrometer dan memiliki garis-garis radial. Di dalam onkosfer, terdapat enam kait refraktil (CDC, 2017).



Gambar 1. Telur *Taenia* sp.
Sumber : CDC.2017.

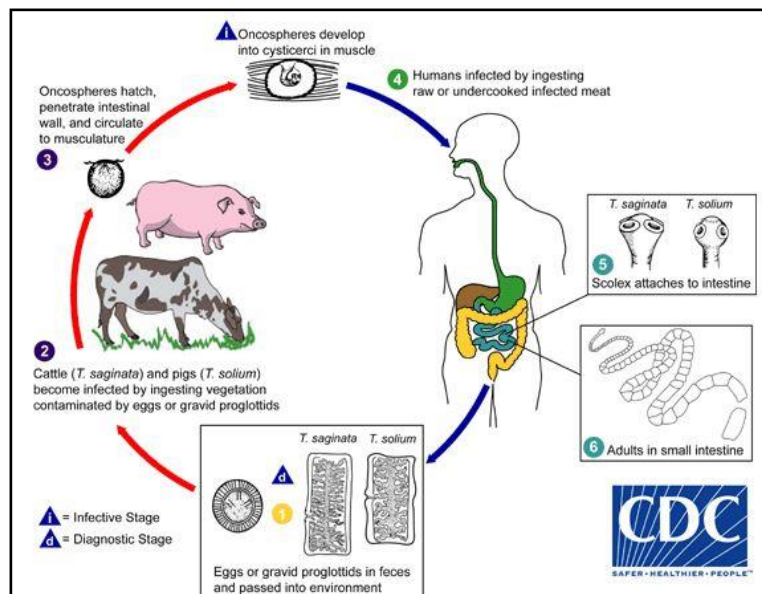
Proglotid gravid, yang merupakan bagian dewasa cacing pita, memiliki ukuran sekitar 16-20 x 5-7 mm. Setiap sisi *proglotid* ini memiliki cabang uterus sebanyak 15-30 buah, namun untuk spesies *T. asiatica* memiliki cabang 16 cabang uterus dan dalam uterus gravid ini terdapat sekitar 80.000-100.000 butir telur. Lubang kelamin atau porus genitalis terletak di bagian samping dan bergantian di sisi kanan dan kiri strobila. Di bagian belakang lubang kelamin, dekat dengan vas deferens, terdapat tabung vagina yang berasal dari otid (Widodo, 2013).



Gambar 2 Proglotid *Taenia asiatica*.
Sumber : Damanik and Zein, 2022

3. Siklus Hidup

Taeniasis adalah infeksi oleh cacing pita dewasa dari tiga spesies, yaitu *Taenia saginata*, *T. solium*, atau *T. asiatica*, pada manusia. Manusia merupakan inang definitif untuk ketiga spesies ini. Telur atau *proglotid gravid* dikeluarkan bersama dengan feses. Siklus hidup dari parasit *Taenia sp.* dijelaskan seperti pada gambar 3.



Gambar 3. Siklus Hidup *Taenia sp.*

Sumber : CDC, 2017.

Siklus hidup *Taenia sp.* dimulai ketika telur dapat bertahan hidup di lingkungan selama sehari-hari hingga berbulan-bulan. Sapi (*T. saginata*) dan babi (*T. solium* dan *T. asiatica*) terinfeksi saat memakan tumbuhan yang terkontaminasi telur atau *proglotid gravid*. Setelah masuk ke dalam usus hewan, onkosfer menetas dan menyerang dinding usus, kemudian bermigrasi ke otot lurik di mana mereka berkembang menjadi *sistiserkus*. *Sistiserkus* dapat bertahan hidup selama beberapa tahun pada hewan tersebut. Manusia terinfeksi saat mengonsumsi daging yang terinfeksi mentah atau setengah matang. Di dalam usus manusia, *cysticercus*

berkembang menjadi cacing pita dewasa dalam waktu 2 bulan dan dapat bertahan hidup selama bertahun-tahun (CDC, 2017).

4. Keterkaitan genetik antara *T. asiatica*, *T. saginata*, *T. solium*

- a. Dengan tersedianya genom mitokondria, hubungan genetik mereka menjadi lebih jelas. Genom mitokondria *T. asiatica*, *T. saginata*, dan *T. solium* masing-masing berukuran 13.703 bp, 13.670 bp, dan 13.709 bp. *Taenia sp* terdiri dari 36 gen: 12 gen penyandi protein, 22 gen tRNA, dan 2 gen rRNA (Ale, *et.al* 2014). Parasit *Taenia asiatica* terdiri dari 12 gen yaitu sebagai berikut : ND1 (NADH *dehydrogenase subunit* 1); ND 3 (NADH *dehydrogenase subunit* 3); ND 2 (NADH *dehydrogenase subunit* 2); ATP 6 (ATP *synthase F0 subunit* 6); ND 6 (NADH *dehydrogenase subunit* 6); ND 4 (NADH *dehydrogenase subunit* 4); COX 2 (*cytochrome c oxidase subunit* II); COX 1 (*cytochrome c oxidase subunit* I); ND4L (NADH *dehydrogenase subunit* 4L).CYTB (*cytochrome b*); ND 5 (NADH *dehydrogenase subunit* 5); COX 3 (*cytochrome c oxidase subunit* III). Gen spesifik dari *Taenia asiatica* yaitu ND 3 yang dimana setelah dilakukan *blast* hasil menunjukan 100% *Taenia asiatica* (NCBI, 2015).
- b. Gen NADH *dehydrogenase subunit* 3 (ND3) merupakan salah satu gen yang dimiliki oleh parasit *Taenia asiatica* dengan kode gene ID: 807590. Gen ND3 merupakan gen dengan tipe protein coding. Gen ND3 ini memiliki persentase identifikasi 100% terhadap mitochondrial dari parasit *Taenia asiatica* NCBI, 2015).

5. Perbedaan Antar Spesies *Taenia*

Untuk memahami perbedaan antara tiga spesies *Taenia* yang umum menginfeksi manusia, yaitu *Taenia solium*, *Taenia asiatica*, dan *Taenia saginata*, dapat dilihat secara rinci karakteristik masing-masing spesies ini pada tabel berikut ini :

Tabel 1.
Perbedaan *Taenia* sp.

No	Keterangan	<i>T. solium</i>	<i>T. saginata</i>	<i>T. asiatica</i>
1	Inang definitif dan habitat	Usus halus manusia	Usus halus manusia	Usus halus manusia
2	Inang	Babi dan manusia	Sapi (utama), kambing, dan domba	Babi (utama) dan sapi
3	Tahap larva	<i>Cysticercus cellulosae</i>	<i>Cysticercus bovis</i>	<i>Cysticercus taiwanensis</i>
4	Ukuran	3-8 x 0,01 m	4-15 x 0,01 m	4-8 meter
5	Jumlah segmen	700-1000	1000-2000	712
6	Jumlah telur	30.000-50.000 di setiap segmen	>100.000 di setiap segmen	-

Sumber : Kurniawan, 2019.

D. Metode Pemeriksaan untuk Deteksi *Taenia* sp.

1. Mikroskopis feses

Pengamatan mikroskopis tetap menjadi metode standar yang umum digunakan dalam proses diagnosis hingga saat ini di banyak laboratorium. Dalam metode ini sampel yang digunakan yaitu feses, dan tujuannya adalah untuk mengidentifikasi keberadaan telur atau *proglotid* dari spesies *Taenia*. Namun,

perlu dicatat bahwa metode ini memiliki kekurangan dalam hal spesifisitas, karena morfologi telur atau *proglotid* dari spesies *Taenia* sangat sulit untuk dibedakan (Symeonidou *et al.*, 2018). Sensitivitas diagnostik teknik ini kurang optimal, dengan laporan berkisar antara 38 hingga 69%. Sensitivitas yang rendah ini terutama disebabkan oleh sifat pelepasan oosit yang bersifat intermiten sehingga menyebabkan perkiraan prevalensi *taeniasis* yang terlalu rendah (Mwape and Gabriël, 2014).

2. Pemeriksaan imunologi

Tes imunologi yang digunakan untuk mendeteksi keberadaan telur atau *proglotid* dari *Taenia sp* dapat melibatkan penggunaan teknik *Imunosorben*, seperti ELISA. Teknik ini bertujuan untuk mendeteksi *copro-antigen* (antigen dalam tinja manusia). Dalam proses deteksi antigen, sampel yang digunakan adalah feses dari penderita, sementara dalam deteksi antibodi, sampel yang digunakan adalah darah dari penderita. Meskipun metode ini memiliki sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan metode mikroskopis, namun dari segi spesifisitasnya, metode ini tidak mendukung diferensiasi antara spesies yang berbeda (Symeonidou *et al.*, 2018).

3. Metode molekuler

Metode molekuler saat ini telah dikembangkan salah satunya dengan metode *polymerase chain reaction* (PCR). Metode ini dapat membedakan antara *Taenia asiatica* dengan jenis *Taenia saginata* maupun *Taenia solium*. PCR ini memiliki keunggulan sebagai skrining dalam kasus *taeniasis* (Parija and Ponnambath, 2013). Pengamatan molekuler ini menggunakan teknik PCR untuk mendeteksi DNA spesifik *Taenia asiatica* dalam sampel feses penderita. PCR memiliki

sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi terkait dengan target molekulnya. Beberapa sekuens DNA penanda ditargetkan pada DNA ribosom, DNA mitokondria, dan antigen, yang dapat digunakan untuk konfirmasi taksonomi genus (Symeonidou *et al.*, 2018).

E. Desain Primer

Desain primer merupakan langkah awal dalam memperoleh urutan primer terbaik untuk amplifikasi DNA agar dapat digunakan dalam analisis sampel secara *in vitro* dengan teknik PCR (Fakih dkk., 2021). Desain primer merupakan langkah awal yang menentukan keberhasilan amplifikasi DNA dengan metode PCR (Saraswati dkk., 2019).

1. Metode perancangan desain primer

Perancangan primer digunakan untuk membatasi amplifikasi segmen DNA. Perancangan primer yang optimal dilakukan secara *in silico* menggunakan ilmu bioinformatika. Primer digunakan dalam teknik Polymerase Chain Reaction (PCR) untuk berhibridisasi dengan DNA template, menentukan daerah amplifikasi, dan menjadi tempat penempelan DNA polimerase. Sepasang primer oligonukleotida, primer forward dan primer reverse, berikatan dengan DNA target selama proses annealing. Urutan basa nukleotida primer harus berkomplementer dengan urutan basa nukleotida pada sekuen target. Studi *in silico* merupakan kombinasi antara biologi dan komputasi yang menggunakan komputer dan perangkat lunak untuk merancang kandidat primer (Fakih dkk., 2021).

2. Syarat-syarat perancangan desain primer

Primer yang efektif memiliki panjang basa 18-28 bp agar dapat mencapai amplifikasi optimal. Jika primer terlalu panjang, spesifisitasnya tidak akan meningkat; sebaliknya, jumlah amplikon dapat berkurang karena pemanjangan yang memerlukan waktu lama. Persentase G dan C (%GC) dalam primer sebaiknya berada pada kisaran 40-60% untuk memastikan penempelan yang selektif pada target. %GC yang rendah dapat mengurangi spesifisitas, sedangkan %GC yang tinggi dapat menghasilkan hasil tidak spesifik. Nilai titik leleh (T_m) yang optimal untuk primer sebaiknya berkisar antara 50-65°C. T_m mempengaruhi suhu annealing pada PCR; nilai yang terlalu tinggi atau rendah dapat menghambat amplifikasi DNA. Hairpin, yaitu interaksi antarmolekul dalam primer, harus dihindari dengan nilai energi hairpin kurang dari -3 kkal/mol untuk memastikan efektivitas primer. Penempelan primer dapat dipengaruhi oleh stabilitasnya, dengan primer yang stabil cenderung menempel pada template. Dimer, yang merupakan hibridisasi antara dua primer identik, harus dihindari. Analisis self-dimer dan heterodimer dilakukan dengan memperhatikan nilai energi bebas (ΔG), dimana nilai ΔG pada self-dimer dan heterodimer harus lebih besar dari -6 kkal/mol. Selain itu, pemilihan primer harus menghindari sekuen berulang (maksimal 4), sekuen run (maksimal 3 nukleotida berurutan), serta self-complementarity dan self 3 complementarity mendekati 0 untuk memastikan keberhasilan amplifikasi pada daerah target. (Melati dkk., 2022).

F. *Polymerase Chain Reaction (PCR)*

1. Definisi PCR

Polymerase chain reaction (PCR) adalah prosedur enzimatik sintetik untuk mendeteksi urutan nukleotida tertentu secara *in vitro*. Kary B. Mullis mengembangkan metode ini pertama kali pada tahun 1985. Saat ini, metode ini banyak digunakan untuk berbagai jenis manipulasi dan analisis genetik. Awalnya, metode ini digunakan untuk melipatgandakan molekul DNA; namun, kemudian diperluas untuk juga melipatgandakan molekul mRNA. Dengan memanfaatkan metode PCR, jumlah ribuan fragmen DNA dapat ditingkatkan hingga jutaan kali dari jumlah aslinya (Irianto, 2017).

2. Komponen PCR

Dalam teknik PCR terdapat empat komponen utama dalam proses PCR yaitu : Fragmen DNA yang akan dianalisis dikenal dengan sebutan DNA cetakan; *Oligonukleotida* primer, atau urutan pendek nukleotida yang terdiri dari 15–25 *nukleotida basa*. digunakan untuk mengukur sintesis DNA; *Deoksiribonukleotida trifosfat* (dNTP) terdiri dari dATP, dCTP, dGTP, dan dTTP; Enzim DNA polimerase, yaitu enzim yang meningkatkan reaksi sintesis PCR DNA, mempunyai beberapa fase berbeda, yang masing-masing memiliki tiga fase berbeda: *denaturasi* cetakan DNA pada suhu 94–100°C, *annealing* (penempelan) primer pada target DNA pada suhu 37–60°C, dan *extension* primer pemanjangan pada suhu 72°C (Irianto, 2017).

3. Prinsip Kerja PCR

Proses PCR terdiri dari tiga langkah: denaturasi, annealing, dan amplifikasi. Pada tahap denaturasi, fragmen DNA (untai ganda) dipanaskan pada suhu 95°C

selama 1-2 menit untuk memecahnya menjadi untai tunggal. Annealing kemudian dilakukan pada suhu 55°C selama 1 hingga 2 menit, di mana oligonukleotida primer berikatan dengan DNA templat yang melengkapi urutan primer. Setelah pemasangan, suhu dinaikkan menjadi 72°C selama 1,5 menit. Pada suhu ini, enzim DNA polimerase melakukan proses polimerisasi, dan untai DNA baru membentuk ikatan hidrogen dengan DNA cetakan. Proses ini disebut amplifikasi, di mana fragmen DNA direplikasi beberapa kali) (Irianto, 2017).

4. Kelebihan dan Kekurangan Teknik PCR

- a. Menurut Irianto (2017), teknik PCR memiliki kelebihan, antara lain: memiliki spesifisitas tinggi; memberikan hasil yang cepat pada hari yang sama; mampu membedakan antara mikroorganisme; serta mudah dalam proses penyiapan (set up).
- b. Menurut Irianto (2017), teknik PCR memiliki kekurangan, antara lain: rentan terkontaminasi dengan mudah; biaya peralatan dan reagen yang mahal; hasil PCR yang positif belum sepenuhnya tervalidasi untuk semua penyakit infeksi; dan teknik prosedur yang kompleks dan memerlukan keahlian khusus untuk dilakukan.

5. Tahapan PCR untuk deteksi *Taenia asiatica*

Dalam beberapa tahun terakhir, pengembangan tes PCR telah dilakukan untuk mengkonfirmasi spesifik *Taenia sp* dengan mendeteksi DNA parasit dalam sampel tinja (*copro*-DNA), atau telur yang terdapat dalam tinja dan *proglotid*. Metode yang dapat digunakan untuk deteksi *Taenia asiatica* yaitu dengan *One-step/single-step* PCR yang dimana metode ini pada Single step PCR hanya membutuhkan satu pasang primer. Setelah proses PCR selesai, hasilnya dapat

dibaca menggunakan elektroforesis. Elektroforesis DNA adalah teknik untuk memisahkan sampel DNA berdasarkan ukuran (berat molekul) dan struktur fisik molekulnya (Suhandi dan Suwandi, 2017). Berikut merupakan tahapan dari PCR untuk deteksi *Taenia asiatica* :

a. Ekstraksi

Untuk memulai pemeriksaan molekuler, dilakukan prosedur ekstraksi untuk mendapatkan DNA dimana DNA yang didapatkan akan digunakan sebagai sampel PCR. Ekstraksi ini dapat mengalami kendala jika dari spesimen feses dari pasien telah menjalani terapi antibiotika yang mengecilkan peluang mendapatkan jumlah DNA optimal (Wardoyo, dkk., 2020).

b. *Polymerase chain reaction*

Menurut Irianto (2017) di bawah ini adalah tiga tahapan pengoperasian PCR dalam satu siklus.

1) *Denaturasi*.

Tahap ini, yang terjadi di suhu yang tinggi (94-96°C), ikatan hidrogen dalam DNA terputus (*denaturasi*) dan DNA menjadi satu file. Langkah ini biasanya dilakukan di awal PCR dalam waktu lama hingga 100°C selama kurang lebih 5 menit untuk memastikan bahwa semua DNA diisolasi. Pemisahan ini mengganggu kestabilan DNA, yang dapat berfungsi sebagai cetakan (*benchmark*) untuk primer. Durasi fase ini 1-2 menit.

2) *Annealing*

Primer berikatan dengan sebagian cetakan DNA yang melengkapi urutan basa. Ini terjadi pada suhu antara 45 dan 60°C. Penempelan ini bersifat spesifik.

Temperatur yang salah akan menyebabkan primer tidak menempel atau menempel pada bagian lain. Durasi tahap ini 1-2 menit.

3) *Elongasi*

Suhu untuk proses ini bervariasi tergantung pada jenis DNA polimerase yang digunakan. Dengan Taq-polimerase, proses ini biasanya dilakukan pada suhu 76°C dengan durasi tahap sekitar 1 menit.

c. *Elektroforesis*

1) Definisi *elektroforesis*

Elektroforesis adalah teknik untuk memisahkan komponen atau molekul yang bermuatan berdasarkan tingkat migrasi yang berbeda dalam medan listrik. Metode ini menggunakan muatan listrik pada makromolekul seperti DNA yang memiliki muatan negatif. Ketika molekul yang bermuatan negatif tersebut ditempatkan dalam medium listrik, mereka akan bergerak dari kutub negatif ke kutub positif, tergantung pada nisbah muatan terhadap massanya dan bentuk molekulnya (Irianto, 2017).

2) Jenis *elektroforesis*

a) *Elektroforesis* kertas

Elektroforesis kertas adalah jenis elektroforesis di mana kertas digunakan sebagai fase diam dan partikel bermuatan yang terlarut digunakan sebagai fase ini bermuatan partikel contoh adalah kompleks Ion-ion. Perubahan konsentrasi yang terjadi sepanjang sistem pemisahan menyebabkan pemisahan ini. Berbagai faktor yang mempengaruhi pergerakan partikel dalam kertas termasuk muatan atau valensi zat terlarut, luas penampang, tegangan yang digunakan, konsentrasi

elektrolit, kekuatan ion, pH, viskositas, dan absorptivitas zat terlarut (Irianto, 2017).

b) *Elektroforesis gel*

Elektroforesis gel menggunakan gel sebagai fase diam untuk memisahkan molekul. Awalnya, biomolekul yang lebih besar, seperti protein, dipisahkan melalui elektroforesis gel dengan medium gel kanji sebagai fase diam. Kemudian, elektroforesis gel berkembang menjadi menggunakan gel media yang terdiri dari agarosa dan poliakrilamida (Irianto, 2017).