

OPTIMASI SUHU DAN SIKLUS REAKSI BERANTAI POLIMERASE
GEN *catP Salmonella typhi*

SKRIPSI

Disusun untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan Mencapai
Gelar Sarjana Terapan Kesehatan



Oleh:
INTAN PRATIWI SUPRABA
N16231150

PROGRAM STUDI D4 ANALIS KESEHATAN
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2024

LEMBAR PERSETUJUAN

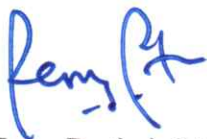
**OPTIMASI SUHU DAN SIKLUS REAKSI BERANTAI POLIMERASE
GEN *catP Salmonella typhi***

Oleh:
INTAN PRATIWI SUPRABA
N16231150

Surakarta, 28 Juni 2024

Menyetujui Untuk Ujian Sidang Skripsi

Pembimbing Utama



Reny Pratiwi, S.Si., M.Si., Ph.D.
NIS. 01201206162161

Pembimbing Pendamping



Dr. Ifandari, S.Si., M.Si.
NIS. 01201211162157





LEMBAR PENGESAHAN

**OPTIMASI SUHU DAN SIKLUS REAKSI BERANTAI POLIMERASE
GEN catP *Salmonella typhi***

Oleh:
INTAN PRATIWI SUPRABA
N16231150

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal

Menyetujui,

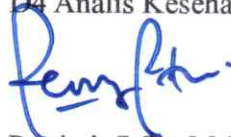
	Tandatangan	Tanggal
Penguji-I : Rahmat Budi Nugroho, S.Si., M.Sc. NIS. 01201403161181		25/7 2024
Penguji II : Dionysius Andang Arif Wibawa, SP., M.Si. NIS. 01199308181036		25/7 2024
Penguji III : Dr. Ifandari, S.Si., M.Si. NIS. 01201211162157		20/8 2024
Penguji IV : Reny Pratiwi, S.Si., M.Si., Ph.D NIS. 01201206162161		



Prof. dr. Marsetyawan HNE Soesatyo,
M.Sc., Ph.D.

Mengetahui,

Ketua Program Studi
D4 Analisis Kesehatan


Reny Pratiwi, S.Si., M.Si., Ph.D.

NIS. 01201206162161

PERNYATAAN KEASLIAN

Saya menyatakan bahwa Skripsi ini yang berjudul “Optimasi Suhu dan Siklus Reaksi Berantai Polimerase Gen *catP Salmonella typhi*” adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila Skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/ karya ilmiah/ Skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 28 Juni 2024



Intan Pratiwi Supraba

NIM. N16231150

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Penelitian

Salmonella typhi merupakan bakteri penyebab demam tifoid (*typhoid fever*) yang menjadi salah satu penyebab kematian termasuk di Indonesia (Imara, 2020). Penyakit tifoid ini banyak dijumpai di negara berkembang beriklim tropis yang memiliki sanitasi lingkungan dan kebersihan diri yang kurang baik, kurangnya ketersediaan air bersih, pemakaian dan pembangunan toilet, serta pengolahan limbah yang kurang baik (Cita, 2011). *Salmonella* adalah bakteri Gram negatif anaerob fakultatif berflagel, aktif bergerak, serta memiliki lebih dari 2.500 serotipe dan yang banyak menyebabkan penyakit pada manusia adalah *Salmonella enterica serovar typhi* (*S. typhi*) dan *Salmonella enterica serovar enteritidis* (*S. enteritidis*) (Hardianto, 2019).

Penyakit infeksi akut usus halus yang disebabkan oleh *S. typhi* disebut sebagai demam tifoid dengan kasus mencapai 22 juta per tahun dan menyebabkan 216.000 – 600.000 kematian di dunia. Komplikasi serius seperti perforasi ileum, bakteremia, dan infeksi endovaskular dapat terjadi hingga 10%, khususnya pada individu yang menderita tifoid lebih dari dua minggu dan tidak mendapatkan pengobatan yang adekuat. *Case Fatality Rate* (CFR) diperkirakan 1 – 4% dan pada kasus yang tidak mendapatkan pengobatan, CFR dapat meningkat hingga 20% (Kasim, 2020). Di Indonesia, penyakit ini merupakan penyakit endemis yang mengancam kesehatan masyarakat dan menjadi masalah kompleks karena meningkatkan kasus – kasus karier dan resistensi terhadap obat sehingga menyulitkan upaya pencegahan dan

pengobatan (Hardianto, 2019). Angka kematian akibat demam tifoid cukup tinggi setiap tahunnya, di Indonesia terdapat lebih dari 20.000 kasus dengan rerata kasus hingga 900.000 kasus per tahun (Apriyani, 2016). Tingginya kasus demam tifoid tersebut diperlukan adanya pengobatan yang adekuat untuk mencegah komplikasi dan bertambahnya jumlah kasus.

Terapi antibiotik merupakan langkah penting yang harus dilakukan untuk mengurangi gejala dan komplikasi lainnya. Antibiotik yang sering digunakan, antara lain kloramfenikol dan ampisilin. Kloramfenikol efektif untuk pengobatan infeksi berat yang disebabkan oleh bakteri Gram positif dan Gram negatif. Beberapa negara menemukan kasus resistensi terhadap antibiotik kloramfenikol di samping keefektifan antibiotik tersebut, seperti Meksiko, Korea, Vietnam, dan India (Jamilah, 2015).

Penyebab resistensi terhadap kloramfenikol diperantarai oleh plasmid yang mengandung gen *chloramphenicol acetyltransferase* (catP). Gen catP adalah gen yang mengkode sintesis enzim asetiltransferase yang dapat mengubah kloramfenikol dengan mengkatalisis pembentukan 3-asetil kloramfenikol sehingga kloramfenikol menjadi inaktif (Pratiwi *et al.*, 2017). Resistensi kloramfenikol melibatkan tiga mekanisme, yaitu penurunan permeabilitas membran, mutasi subunit ribosom 50S, dan degradasi kloramfenikol asetiltransferase. Resistensi yang tinggi biasanya disebabkan oleh gen catP yang mengkode enzim kloramfenikol asetiltransferase, dimana enzim ini menonaktifkan kloramfenikol dengan cara mengikat secara kovalen satu atau dua gugus asetil dari asetil-S-koenzim A ke gugus hidroksil

kloramfenikol. Asetilasi mencegah kloramfenikol berikatan dengan ribosom. (Rasyid *et al.*, 2020)

Keberadaan gen *catP* dapat dideteksi secara molekuler menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Produk PCR yang optimal didapatkan melalui optimasi terlebih dahulu. Optimasi yang dilakukan bisa melalui variasi suhu, waktu, siklus, maupun komposisi PCR (Yuenleni, 2019). Pada penelitian ini optimasi yang akan dilakukan adalah melalui suhu dan siklus amplifikasi menggunakan alat miniPCR yang merupakan alat *portable thermal cycler*.

Menurut hasil penelitian dari Anggeraini dengan menggunakan suhu pra-denaturasi 94°C selama 1 menit, denaturasi 94°C selama 1,5 menit, *annealing* 50°C selama 1 menit, *extension* 72°C selama 1 menit dan *post extension* 72°C selama 5 menit sebanyak 30 kali siklus, didapatkan bahwa 1 (100%) isolat sampel *Salmonella typhi* yang resisten terdapat gen *catP* dan 6 (20%) isolat sampel *Salmonella typhi* yang sensitif terdapat gen *catP*, sementara yang tidak terdapat gen *catP* adalah 24 (70%) (Anggeraini *et al.*, 2013). Penelitian lain yang dilakukan oleh Erviani yang melakukan uji resistensi *S. typhi* terhadap antibiotik kloramfenikol mendeteksi adanya gen *catP* menggunakan teknik Multiplex PCR dengan primer *forward* (5'-CC GTT GAT AT ATC CCAA TGG-3') dan primer *reverse* (5'- CTG GTGA AACT CAC CC AGG G-3') pada posisi 436 *base pairs* (bp) (Erviani, 2013).

Mempertimbangkan bahwa setiap laboratorium yang ingin mengembangkan pemeriksaan molekuler harus dilakukan validasi metode

terlebih dahulu. Validasi metode yang digunakan pada penelitian ini adalah dengan dilakukan optimasi suhu *annealing* dan jumlah siklus serta validasi primer yang digunakan untuk pemeriksaan PCR. Optimasi ini penting untuk dilakukan karena kondisi setiap gen, peralatan serta bahan yang digunakan berbeda di setiap laboratorium. Optimasi ini perlu dilakukan untuk mendapatkan kondisi PCR yang sesuai sehingga didapatkan pita DNA gen *catP Salmonella typhi* yang optimal.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian ini adalah berapakah suhu dan siklus yang optimal untuk proses amplifikasi gen *catP Salmonella typhi* menggunakan primer 1 dan primer 2?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui suhu dan siklus yang optimal untuk amplifikasi gen *catP* bakteri *Salmonella typhi* menggunakan primer 1 dan primer 2 supaya didapatkan pita yang optimal.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Bagi peneliti atau peneliti lain dapat digunakan sebagai referensi untuk meningkatkan atau mengembangkan hasil penelitian ini.

2. Bagi pembaca dapat menambah wawasan mengenai suhu dan siklus yang optimal untuk menghasilkan band yang jelas dalam amplifikasi gen *catP* dalam bakteri *Salmonella typhi*.
3. Bagi masyarakat umum dapat memberikan informasi mengenai resistensi bakteri *Salmonella typhi* terhadap antibiotik kloramfenikol.