

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Landasan Teori

1. *Salmonella typhi*

a. Definisi

Salmonella merupakan bakteri Gram negatif anaerob fakultatif berflagel dan aktif bergerak. *Salmonella* memiliki lebih dari 2500 serotipe dan yang banyak menyebabkan penyakit pada manusia adalah *Salmonella enterica serovar typhi* (*S. typhi*) dan *Salmonella enterica serovar enteritidis* (*S. enteritidis*) (Hardianto, 2019).

Salmonella typhi adalah bakteri penyebab demam tifoid yang menginfeksi saluran usus dan darah. Bakteri *S. typhi* menginfeksi dengan jalur *fecal-oral* melalui konsumsi makanan dan minuman yang terkontaminasi bakteri, kontak dengan kotoran manusia yang terinfeksi yang tidak diikuti dengan pencucian tangan yang benar, konsumsi pangan siap saji yang telah terkontaminasi limbah, seperti buah-buahan yang dipupuk dengan tanah malam, atau kerang-kerangan dari daerah yang terkontaminasi saluran pembuangan limbah. *Salmonella typhi* banyak ditemukan di negara berkembang yang memiliki sistem pengolahan air dan limbah yang buruk. Infeksi bakteri *S. typhi* memiliki gejala antara lain konstipasi, demam tinggi, sakit kepala, kehilangan nafsu makan, dan kelelahan. Gejala berawal antara 1 – 2 minggu setelah terpapar bakteri. Infeksi ini berpotensi mengancam jiwa (*Centre for Disease Control*, 2012).

b. Morfologi

Salmonella typhi merupakan bakteri berbentuk batang Gram negatif, tidak berspora, berflagel, serta memiliki sifat fakultatif anaerob dan intraseluler anaerob. Bakteri ini berukuran antara 0,7 sampai 1,5 x 2 sampai 5 μm (Cita, 2011). Berdasarkan perbedaan formulanya, *Salmonella typhi* memiliki 3 jenis antigen, antara lain:

- a. Antigen O (somatik), sebagai bagian penentu virulensi kuman. Bagian ini mempunyai endotoksin yang merupakan struktur kimia lipopolisakarida dan berada pada lapisan luar dari tubuh kuman. Antibodi yang dibentuk adalah IgM.
- b. Antigen Vi (kapsul) merupakan antigen yang terletak di permukaan dari kuman yang dapat melindungi kuman terhadap fagositosis. Struktur kimia proteinnya dapat digunakan untuk mendeteksi adanya karier dan akan rusak jika dipanaskan pada suhu 60°C selama 1 jam. Adanya antigen Vi menunjukkan bahwa individu tersebut adalah *carrier* (pembawa kuman).
- c. Antigen H (flagel) merupakan antigen yang terletak pada flagella dan fimbria dari kuman. Flagel ini terdiri dari badan basal yang melekat pada sitoplasma dinding sel kuman, struktur kimianya berupa protein yang tahan terhadap formaldehid tetapi tidak tahan panas pada suhu 60°C dan alkohol. Antigen H sangat imunogenik dan antibodi yang dibentuk adalah IgG (Kasim, 2020).

c. Klasifikasi

Salmonella sp. pertama ditemukan (diamati) pada penderita demam tifoid pada tahun 1880 oleh Eberth dan dibenarkan oleh Robert Koch dalam budidaya bakteri pada tahun 1881. Komposisi dasar DNA *Salmonella sp.* adalah 50 - 52 mol% Guanin dan Cytosin, mirip dengan *Escherichia*, *Shigella*, dan *Citrobacter* (Kasim, 2020). Klasifikasi dari bakteri *Salmonella typhi* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gammaprotobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: Salmonella
Spesies	: <i>Salmonella typhi</i> (Imara, 2020)

2. Pemeriksaan Laboratorium untuk Demam Tifoid

Penegakan diagnosis demam tifoid dapat dilakukan dengan beberapa pemeriksaan penunjang yang dilakukan di laboratorium, antara lain pemeriksaan darah tepi, identifikasi kuman melalui kultur/biakan, identifikasi kuman melalui uji serologi, dan pemeriksaan secara molekuler.

a. Pemeriksaan darah tepi

Pemeriksaan darah tepi untuk diagnosis demam tifoid tidak spesifik. Trombositopenia dapat merupakan suatu tanda penyakit yang berat serta terjadinya gangguan koagulasi intravaskuler.

b. Pemeriksaan kultur/biakan

Pemeriksaan kultur/biakan darah memberikan hasil positif pada 40 – 60% kasus. Sensitivitas biakan darah paling baik didapatkan pada satu sampai dua minggu pertama sakit. Kultur/biakan darah ini adalah baku emas dalam penegakan diagnosis demam tifoid.

c. Pemeriksaan serologi

Pemeriksaan serologi yang sering digunakan untuk penegakan diagnosis demam tifoid adalah pemeriksaan widal, yaitu pemeriksaan antibodi terhadap antigen O dan H *S. typhi*. Pemeriksaan widal memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang rendah, selain itu dapat terjadi uji silang dengan enterobakter yang lain atau bisa juga penderita demam tifoid tidak menunjukkan adanya peningkatan titer antibodi.

d. Pemeriksaan molekuler

Pemeriksaan molekuler dengan metode PCR dapat digunakan untuk mengamplifikasi gen spesifik *S. typhi* serta merupakan pemeriksaan yang cepat dan menjanjikan. Pemeriksaan PCR memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi untuk mendeteksi satu bakteri dalam beberapa jam menggunakan sampel darah ataupun urin (Sucipta, 2015).

3. Terapi Antibiotik untuk Demam Tifoid

Antibiotik adalah obat yang digunakan untuk mengatasi infeksi bakteri melalui sifatnya sebagai bakterisid (membunuh bakteri) atau bakteriostatik (menghambat bakteri berkembang biak). Pengelompokan antibiotik

didasarkan pada mekanisme kerja, struktur kimia, dan spektrum aktivitas antibakterinya. Spektrum antibiotik dibedakan atas aktivitas terhadap bakteri Gram positif, Gram negatif, aerob, dan anaerob. Antibiotik disebut berspektrum luas apabila aktivitasnya mencakup dua kelompok bakteri atau lebih (Peraturan Menteri Kesehatan RI, 2021).

Berdasarkan target kerjanya, antibiotik dikelompokkan dalam tiga kategori, antara lain:

- a. Antibiotik dengan target dinding sel bakteri, seperti β -laktam, glikopeptida, lipopeptida (daptomisin), dan polymixin (colistin).
- b. Antibiotik dengan target menghambat sintesis protein baru. Protein baru terus diproduksi dalam proses yang melibatkan sintesis RNA *messenger* (mRNA) dari gen DNA (transkripsi) dan generasi protein selanjutnya dari templat mRNA (translasi) karena proses ini sangat penting untuk pertumbuhan dan multiplikasi bakteri, sehingga proses ini yang ditargetkan oleh antibiotik.
- c. Antibiotik dengan target DNA atau replikasi DNA (Anggita *et al.*, 2022)

Jenis antibiotik yang sering digunakan untuk terapi demam tifoid, antara lain:

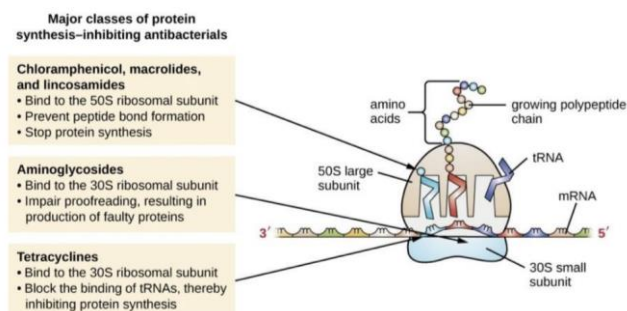
- a. *Amoxicillin*. *Amoxicillin* merupakan antibiotik golongan *Penicillin* yang berasal dari bahan kimia yang diproduksi mikroorganisme dan bersifat bakteriosid. Antibiotik dari golongan *Penicillin* lebih sering

digunakan karena memiliki spektrum yang luas dan toksisitasnya rendah.

- b. *Ampicillin*. *Ampicillin* juga berasal dari golongan *Penicillin*.
- c. *Cepalexin*. Cara kerja antibiotik ini adalah dengan mengganggu pembentukan dinding sel bakteri saat proses reproduksi.
- d. *Chloramphenicol*. *Chloramphenicol* merupakan antibiotik golongan aminoglikosida yang bekerja dengan cara menghambat pembentukan protein bakteri (Indang *et al.*, 2013).

Berdasarkan efektivitasnya, antibiotik jenis kloramfenikol masih sering diberikan kepada penderita demam tifoid selain karena harganya yang murah (Cita, 2011). Kloramfenikol merupakan antibiotik spektrum luas namun memiliki efek samping hematologik yang berat jika diberikan secara sistemik. Oleh karena itu, obat ini sebaiknya dicadangkan untuk penanganan infeksi yang mengancam jiwa terutama pada *Hemophilus influenzae* dan demam tifoid (Badan Pengawas Obat dan Makanan RI, 2014).

Kloramfenikol merupakan antibiotik bersifat bakteriostatik tetapi dapat menjadi bakteriosidal pada konsentrasi tinggi. Kloramfenikol bekerja dengan cara menghambat sintesis protein dari bakteri dengan berikatan dengan subunit 50S pada ribosom bakteri secara reversibel sehingga pembentukan peptid bakteri terhambat (Nabila *et al.*, 2021).

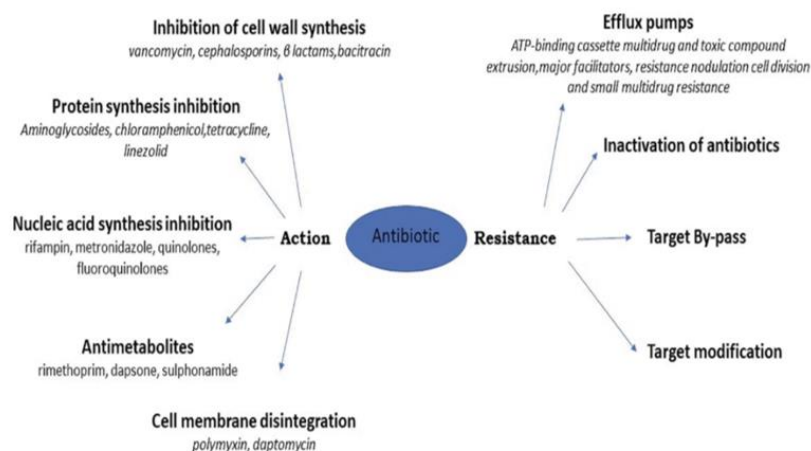


Gambar 1. Aktivitas Antibiotik Kloramfenikol dalam Menghambat Sintesis Protein Bakteri (Anggita *et al.*, 2022)

4. Resistensi Kloramfenikol

Penggunaan antibiotik yang berlebihan dan tidak seksama dapat menyebabkan timbulnya resistensi. Adanya mutasi atau resistensi gen yang didapat juga bisa menjadi penyebab terjadinya resistensi antibiotik (Putra *et al.*, 2020). Resistensi antibiotik terjadi apabila antibiotik kehilangan kemampuan untuk mengurangi atau menghilangkan efektivitas obat, zat kimia, atau agen lainnya yang ditujukan untuk menyembuhkan infeksi.

Permasalahan utama dalam pengobatan demam tifoid adalah adanya resistensi beberapa obat (MDR) yang menyebabkan peningkatan morbiditas dan berujung pada toksisitas demam tifoid, sehingga meningkatkan angka kematian secara signifikan. Resistensi terhadap kloramfenikol pertama kali dilaporkan pada tahun 1970 di Amerika Tengah. Resistensi terhadap kloramfenikol terjadi melalui tiga mekanisme, yang pertama adalah berkurangnya permeabilitas membran. Kedua, mutasi pada subunit 50S ribosom bakteri, dan yang ketiga adalah penguraian oleh enzim kloramfenikol asetil transferase (Anggeraini *et al.*, 2013).



Gambar 2. Mekanisme Kerja dan Mekanisme Resistensi Antibiotik (Pal & Kumar, 2023)

5. *Chloramphenicol Acetyltransferase*

Resistensi terhadap kloramfenikol diperantarai oleh enzim yang terletak pada plasmid, yaitu *chloramphenicol acetyltransferase* (catP). Enzim cat dikodekan oleh famili gen cat yang berada pada bakteri Gram negatif (Rasyid *et al.*, 2020).

Mekanisme resistensi kloramfenikol pada level rendah adalah dengan menurunkan permeabilitas membran terhadap kloramfenikol secara *in vitro*. Mekanisme resistensi tingkat tinggi terjadi akibat keberadaan gen yang mengkode enzim kloramfenikol asetiltransferase (catP). Enzim ini menginaktivasi kloramfenikol melalui ikatan kovalen dengan satu atau dua gugus asetil dari asetil-S-koenzim A pada gugus hidroksil molekul kloramfenikol. Proses asetilasi ini mencegah kloramfenikol berikatan dengan ribosom (Anggeraini *et al.*, 2013).

Protein cat dibagi menjadi tiga jenis, yaitu tipe I, II, dan III. Protein cat tipe I terdapat pada beberapa patogen penting, seperti *Escherichia coli*, *Shigella flexneri*, *Serratia marcescens*, dan *Salmonella enterica* (Biswas *et al.*, 2012).

6. Pemeriksaan Resistensi Antibiotik

Hasil dari uji resistensi bakteri terhadap antibiotik dibagi menjadi tiga kategori, yaitu sensitif, intermediet, dan resisten (Soleha, 2015). Metode yang digunakan untuk uji resistensi bakteri terhadap antibiotik, antara lain:

a. Metode Dilusi

Metode dilusi menggunakan dua cara, yaitu teknik dilusi perbenihan cair dan teknik dilusi agar. Metode ini bertujuan untuk menentukan aktivitas mikroba secara kuantitatif. Metode ini dilakukan dengan melarutkan antibiotik ke dalam media agar atau kaldu lalu ditanami bakteri yang akan diuji dan diinkubasi selama 24 jam (Soleha, 2015).

b. Metode Difusi

Metode difusi dengan teknik Kirby Bauer menggunakan teknik *disc diffusion* atau dengan teknik sumuran. Zona hambat yang terbentuk pada media agar kemudian dihitung diameternya (Khusuma *et al.*, 2019).

7. Pemeriksaan Molekuler Resistensi Antibiotik

a. Teknik Pemeriksaan Molekuler

Reaksi berantai polimerase (PCR) adalah suatu metode dimana DNA *template* diamplifikasi menggunakan primer DNA sintetis, DNA polimerase, dan deoksiribo nukleotida trifosfat (dNTP). Campuran tersebut kemudian diproses pada siklus dengan suhu tinggi untuk denaturasi untai ganda DNA menjadi molekul beruntai tunggal dan pada suhu rendah untuk penempelan primer pada DNA *template* serta memperpanjang primer. Prinsip pemeriksaan PCR adalah untuk menggandakan jumlah urutan target, sehingga beberapa salinan molekul DNA target dapat dengan cepat diperbanyak hingga konsentrasi nanomolar (Khodakov *et al.*, 2016). Teknik PCR dapat digunakan untuk mengamplifikasi segmen DNA dalam jumlah jutaan kali hanya dalam beberapa jam (Setyawati & Zubaidah, 2021).

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah teknik untuk mengamplifikasi fragmen DNA spesifik dari DNA *template*. Prinsip pemeriksaan PCR ada tiga tahap dasar, yaitu:

- 1) Denaturasi. Denaturasi adalah tahap pertama dari proses PCR. Pada tahap ini, panas diterapkan pada DNA *template* untuk memisahkan untai ganda DNA menjadi dua untai tunggal DNA.
- 2) *Annealing*. Pada tahap ini suhu diturunkan sehingga primer dapat menempel dengan rangkaian komplementer pada DNA *template*. Suhu yang digunakan pada tahap *annealing* tergantung pada *melting temperature* (T_m) dari primer. Pemilihan suhu *annealing* sangat penting. Biasanya, suhu *annealing* yang optimal adalah 3-

5°C di bawah *melting temperature* (T_m). Suhu *annealing* yang terlalu tinggi dapat menghambat penempelan primer pada *template*, sementara suhu *annealing* yang terlalu rendah dapat menyebabkan ikatan tidak spesifik sehingga produk yang dihasilkan tidak spesifik.

- 3) *Extension*. Tahapan ini terjadi setelah primer berikatan dengan *template*. Suhu pada tahap ini diatur pada suhu optimum dimana DNA *polymerase* berfungsi paling baik. Pada tahap ini, DNA *polymerase* menambahkan DNA ke ujung 3' dari primer yang menempel pada *template* mengikuti aturan komplementaritas pasangan basa. Lamanya *extension* tergantung pada laju *extension* yang digunakan dan panjang produk yang diinginkan (*Centers for Disease Control Prevention, 2022*).

Beberapa faktor yang menjadi penentu tingkat keberhasilan dalam proses *Polymerase Chain Reaction* (PCR), antara lain:

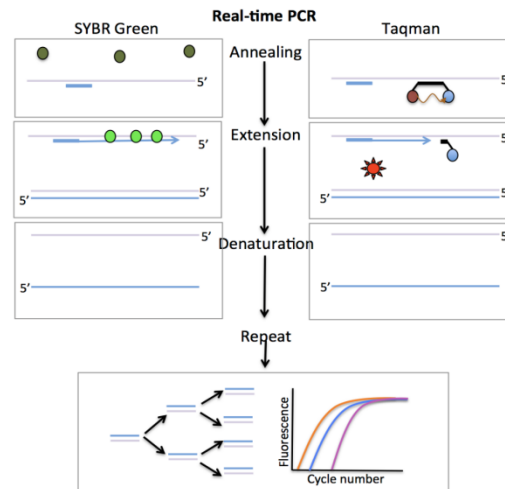
- 1) Deoksiribo nukleotida trifosfat (dNTP)
- 2) Oligonukleotida primer
- 3) *Template* DNA
- 4) Komposisi larutan buffer
- 5) Jumlah siklus reaksi
- 6) Suhu (*annealing*)
- 7) Enzim polimerase DNA (*Taq* polimerase atau *Pfu* polimerase)

8) Faktor lainnya, seperti cara pipet dan kontaminasi (Feranisa, 2016)

Kelebihan dari metode PCR adalah dapat menghasilkan produk amplifikasi yang cepat, akurat, dan spesifik. Metode ini membutuhkan sampel dalam jumlah yang sedikit dan dapat mengatasi kelemahan diagnosis menggunakan kultur bakteri (Ismaun *et al.*, 2021).

Hasil dari amplifikasi atau produk PCR dapat diamati menggunakan metode elektroforesis dengan menambahkan pewarna *Ethidium Bromida* (EtBr) yang akan berfluorosensi ketika dipaparkan pada sinar UV level medium dengan panjang gelombang 300 nm dari alat UV *transilluminator* (Feranisa, 2016). Reagen pewarna DNA lainnya, antara lain SYBR *Green* dan SYBR *Gold* yang merupakan pewarna non mutagenik (Motohashi, 2019). Metode PCR yang umumnya digunakan saat ini adalah:

1) *Real-Time* PCR atau *quantitative* PCR (qPCR). Pada metode ini dapat merekam akumulasi selama siklus berlangsung. Kuantitas qPCR dihitung dengan menerapkan ambang batas siklus atau *cycle threshold* (Ct) berdasarkan intensitas fluoresens.



Gambar 3. Tahapan qPCR (Huerta,L & Burke,M, 2020)

2) PCR konvensional. Berbeda dengan qPCR dimana hasil amplifikasi DNA langsung dapat terekam, pada PCR konvensional hasil amplifikasi DNA harus divisualisasikan melalui elektroforesis terlebih dahulu (Munir & Inayatullah, 2021). Mesin PCR atau disebut juga *thermal cycler* memiliki variasi dalam jumlah sumuran (*well*) dengan bervariasi nama dagang, salah satunya adalah miniPCR yang merupakan mesin *thermal cycler* yang berukuran kecil, tahan lama, dan berfungsi penuh. Desainnya yang kecil dan kuat memungkinkan untuk dibawa kemanapun serta dapat digunakan dimanapun, terutama di laboratorium dengan ruangan kecil (MiniPCR Bio, 2023).



Gambar 4. Mesin miniPCR 16 Sampel (miniPCR Bio, 2023)

b. Pemeriksaan Molekuler Resistensi Antibiotik *Salmonella*

Resistensi bakteri terhadap antibiotik berkaitan dengan susunan materi genetiknya yang menjadi toleran dan kemudahan penyerapan DNA eksogen untuk mengubah susunan genetik bawaannya. Pemeriksaan molekuler untuk mendeteksi resistensi *Salmonella* terhadap antibiotik kloramfenikol adalah dengan mengamplifikasikan gen *catP* menggunakan primer spesifik gen *catP* pada 436 pasang basa (Erviani, 2013).

8. Validasi dan Verifikasi Pemeriksaan Molekuler

Validasi dan verifikasi adalah suatu konfirmasi melalui penyediaan bukti obyektif. Verifikasi dilakukan untuk menunjukkan bahwa pengujian yang dilakukan benar dan telah memenuhi persyaratan, sedangkan validasi dilakukan untuk menunjukkan bahwa metode yang digunakan, dikembangkan, atau dimodifikasi telah memenuhi syarat atau melakukan uji dengan benar. Proses validasi membandingkan metode pengujian yang

digunakan dengan pemeriksaan standar emas atau tes referensi yang mampu memberikan hasil benar (Mattocks *et al.*, 2010).

Saat ini banyak laboratorium yang mengembangkan pemeriksaan molekuler baik untuk pengembangan laboratorium itu sendiri maupun untuk pemeriksaan yang dipasarkan. Validasi pemeriksaan molekuler bertujuan untuk memastikan bahwa pemeriksaan tersebut siap untuk diterapkan di laboratorium klinis (Bankowski *et al.*, 2014). Jika suatu laboratorium memilih metode resmi yang digunakan, maka yang perlu dilakukan adalah verifikasi metode pengujian. Verifikasi pemeriksaan molekuler dengan mengkonfirmasi bahwa alat yang digunakan sesuai dan menunjukkan hasil yang benar. Sebaliknya apabila menggunakan metode tidak resmi maka laboratorium harus melakukan validasi metode pengujian. Validasi metode dapat dilakukan dengan melakukan uji terhadap faktor – faktor yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan, pada pemeriksaan molekuler contohnya adalah melalui optimasi faktor – faktor yang mempengaruhi hasil reaksi berantai polimerase, seperti suhu *annealing* dan jumlah siklus reaksi. (Faridah dkk., 2018).

9. Optimasi *Polymerase Chain Reaction*

Sebelum memeriksa sampel penelitian dengan PCR, optimasi perlu dilakukan terlebih dahulu untuk mendapatkan kondisi dan komposisi PCR yang sesuai, sehingga hasil PCR dapat optimal. Optimasi dapat dilakukan dengan memvariasikan tahapan PCR, baik dari segi waktu maupun suhu, serta komposisi PCR (Yuenleni, 2019).

a. Optimasi Suhu *Annealing*

Variasi suhu *annealing* didapatkan dengan perhitungan rata-rata *melting temperature* (T_m) primer *Forward* dan primer *Reverse* kemudian dikurangi 2 – 5 (Setyawati & Zubaidah, 2021).

Primer adalah molekul oligonukleotida untai tunggal yang terdiri dari sekitar 30 basa. Desain primer yang tepat merupakan salah satu faktor penting penentu keberhasilan dalam amplifikasi DNA. Primer yang baik ditentukan oleh beberapa faktor, antara lain:

1) Panjang primer

Panjang primer biasanya berkisar antara 18 hingga 30 basa, berdasarkan kemungkinan kombinasi acak yang dapat ditemukan dalam satu urutan genom. Primer dengan panjang lebih dari 30 basa tidak disarankan karena tidak meningkatkan spesifisitas dan dapat menyebabkan hibridisasi dengan primer lain, sehingga menghambat pembentukan polimerisasi DNA. Desain primer yang diperlukan untuk PCR terdiri dari sepasang primer yang disebut sebagai primer *forward* dan primer *reverse*.

2) Primer *melting temperature*

Primer *melting temperature* (T_m) atau suhu leleh adalah suhu yang digunakan oleh primer untuk disosiasi atau lepas ikatan. Nilai T_m dapat dihitung secara manual menggunakan rumus $T_m = 2(A + T) + 4(G + C)$ (Yustinadewi *et al.*, 2018).

3) Selisih primer *melting temperature*

Pasangan primer sebaiknya tidak memiliki selisih suhu leleh yang tinggi. Pasangan primer dengan selisih suhu leleh yang lebih dari 5°C menyebabkan penurunan proses amplifikasi, atau bahkan memungkinkan tidak terjadi proses amplifikasi.

4) *Repeats and Runs*

Perulangan yang cukup panjang dengan basa sama (lebih dari tiga basa berurutan sama, misal basa AGCGGGGGATG memiliki 5 basa berurutan G) harus dihindari karena dapat menyebabkan terjadinya *breathing* pada primer dan *misspriming* (penempelan primer pada tempat yang tidak diinginkan). Primer sebaiknya juga tidak memiliki urutan pengulangan dari 2 basa dan maksimum pengulangan 2 basa sebanyak 4 kali masih dapat ditoleransi (Sasmito *et al.*, 2014).

b. Optimasi Jumlah Siklus

Satu siklus PCR terdiri dari tahapan denaturasi, *annealing*, dan *extension* yang berulang untuk menggandakan DNA target. Jumlah siklus biasanya dilakukan 25 – 35 kali. Jumlah siklus lebih dari 45 tidak disarankan karena pita nonspesifik mulai muncul, selain itu akumulasi produk sampingan dan berkurangnya komponen reaksi secara drastis menurunkan efisiensi PCR. Jumlah siklus yang rendah lebih disukai untuk *Next-generation sequencing* dan replikasi DNA target yang akurat seperti pada kloning (Thermo Fischer, 2024).

10. Elektroforesis dan Visualisasi

Elektroforesis adalah suatu teknik pemisahan molekul DNA dan protein di dalam medan listrik berdasarkan bentuk, ukuran, dan besar molekulnya. Elektroforesis menggunakan *gel agarose* dan larutan elektrolit berupa buffer untuk membantu pergerakan molekul – molekul tersebut dalam medan listrik (Rohmana *et al.*, 2016).

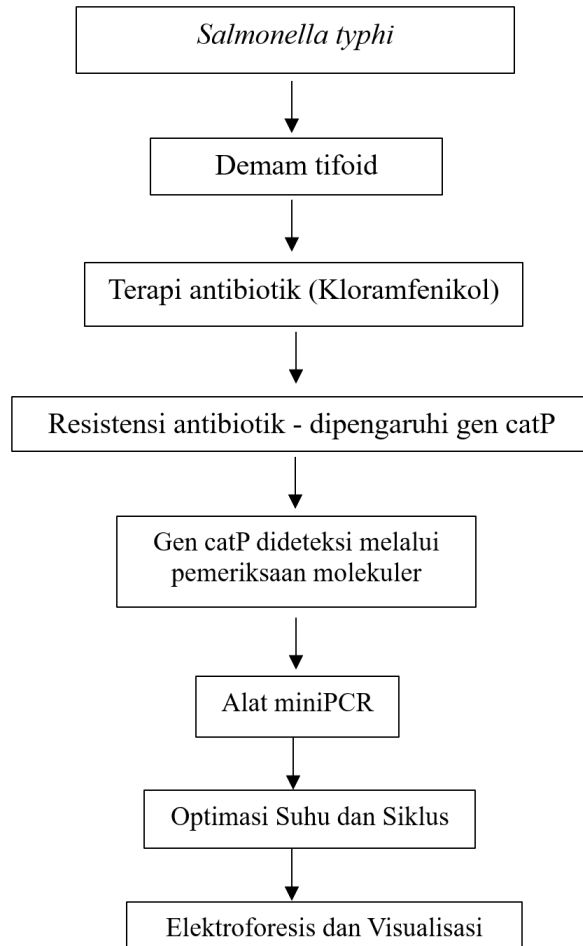
Prinsip kerja elektroforesis adalah memanfaatkan muatan negatif pada DNA yang kemudian dialiri arus listrik menuju kutub dengan muatan berlawanan, sehingga molekul DNA bergerak dari kutub negatif ke kutub positif. Hasil ekstraksi DNA yang baik ditunjukkan oleh pita DNA yang tebal dan minim atau tidak adanya smear saat divisualisasikan menggunakan UV *transilluminator* (Anissa *et al.*, 2023).

Produk PCR yang dihasilkan kemudian dielektroforesis. Hasil elektroforesis ini dianalisa dengan membandingkan ketebalan *band* secara visual. *Band* yang optimal yang dimaksud adalah *band* yang tebal, tunggal/*single* dan sesuai ukuran target (Setyawati & Zubaidah, 2021). Proses interpretasi *band* DNA sendiri secara manual untuk mendapatkan hasil yang akurat sangat susah, membutuhkan waktu, dan kemungkinan *error* cukup besar. Hal ini bisa disebabkan kompleksitas pergerakan molekul DNA itu sendiri. Molekul yang bergerak dalam DNA akan berhenti pada jarak migrasi tertentu tergantung pada muatan, bentuk, dan ukurannya sehingga, kecocokan suatu DNA dapat dianalisis berdasarkan hasil elektroforesis DNA tersebut. Salah satu standar bahan yang digunakan dalam elektroforesis DNA yaitu *gel agarose*. Pada DNA hasil elektroforesis

gel agarose, molekul DNA dianalisis berdasarkan letaknya setelah mengalami migrasi pada proses elektroforesis tersebut. DNA yang akan dianalisis dibandingkan dengan DNA *marker* atau DNA yang telah diketahui (Anam *et al.*, 2021).



Gambar 5. Bluegel Elektroforesis (miniPCR bio, 2020)

B. Kerangka Pikir**Gambar 6. Kerangka Pikir**