

**IDENTIFIKASI MOLEKULER BAKTERI *Staphylococcus aureus* PADA
ULKUS DIABETIKUM DENGAN METODE PCR DAN SEKUENS GEN**

SKRIPSI

Disusun untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan Mencapai
Gelar Sarjana Terapan Kesehatan



**Disusun Oleh :
Ratih Perwitaningsih
14211040N**

**PROGRAM STUDI D4 ANALIS KESEHATAN
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2022**

LEMBAR PERSETUJUAN

Skripsi :

**IDENTIFIKASI MOLEKULER BAKTERI *Staphylococcus aureus* PADA
ULKUS DIABETIKUM DENGAN METODE PCR DAN SEKUENS GEN**

Oleh :

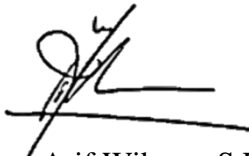
**Ratih Perwitaningsih
14211040N**

Surakarta, 20 Juli 2022

Menyetujui Untuk Ujian Sidang Skripsi :


Menyetujui,

Pembimbing Utama



D. Andang Arif Wibawa S.P, M.Si
NIS : 01199308181036

Pembimbing Pendamping



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

LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi :

IDENTIFIKASI MOLEKULER BAKTERI *Staphylococcus aureus* PADA ULKUS DIABETIKUM DENGAN METODE PCR DAN SEKUENS GEN

Oleh :

Ratih Perwitaningsih

14211040N

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 21 Juli 2022

Menyetujui,

Nama

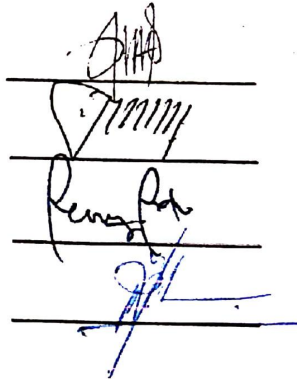
Tanda Tangan

Penguji I : Dr. Ifandari S.Si., M.Si

Penguji II : Rahmat Budi Nugroho S.Si., M.Sc

Penguji III : Reny Pratiwi, Ph.D.

Penguji IV : D. Andang Arif Wibawa S.P, M.Si



Mengetahui,

Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan

Ketua Program Studi

Universitas Setia Budi

DIV Analis Kesehatan



Prof. Dr. Marsetyawan HNE S, M.Sc., Ph.D

Dr. Dian Kresnadipayana, S.Si., M.si

NIDK : 8893090018

NIS : 01201304161170

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

“Allahumma laa sahla illa ma ja’altuhu wa anta taj’alul-hasna idza syita jahlan”

(Ya Allah, tidak ada kemudahan kecuali apa yang engkau jadikan mudah, sedang yang susah bisa engkau jadikan mudah, apabila engkau menghendaknya)

Skripsi ini saya persembahkan kepada :

1. Allah SWT yang telah memberikan penyertaan-Nya yang luar biasa kepada penulis.
2. Orang tua tercinta Bapak Pandi Sanjoyo dan Ibu Tri Wanti atas segala pengorbanan, cinta kasih, dan do’a kepada penulis sehingga bisa sampai pada titik sekarang.
3. Adik tersayang Jimas Samudra atas do’a dan semangat yang diberikan kepada penulis.
4. Keluarga besar penulis yang turut serta mendoakan dan memberi semangat kepada penulis.
5. Teman-teman terdekat penulis atas bantuan, do’a, dan semangat yang diberikan kepada penulis.
6. Seluruh pihak yang turut membantu dalam penyusunan Skripsi ini.

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Ratih Perwitaningsih

Nim : 14211040N

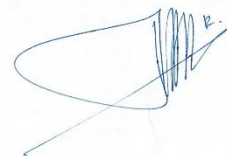
Judul Skripsi : “IDENTIFIKASI MOLEKULER BAKTERI
Staphylococcus aureus PADA ULKUS DIABETIKUM
DENGAN METODE PCR DAN SEKUENS GEN”

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa penulisan Skripsi ini berdasarkan hasil “*literatur review*” pemikiran dan pemaparan asli dari saya sendiri baik untuk naskah laporan maupun kegiatan yang tercantum sebagai bagian dari Skripsi ini. Jika terdapat karya orang lain, saya akan mencantumkan sumber yang jelas.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya, apabila dikemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima, menanggung segala akibat yang timbul.

Surakarta, 23 Juli 2022

Pembuat Pernyataan



Ratih Perwitaningsih

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Puji dan syukur kepada Allah SWT Yang Maha Kuasa atas kasih dan penyertaan-Nya yang memberikan hikmahnya kepada penulis sehingga penulis dapat menyusun dan menyelesaikan Skripsi dengan judul **“IDENTIFIKASI MOLEKULER BAKTERI *Staphylococcus aureus* PADA ULKUS DIABETIKUM DENGAN METODE PCR DAN SEKUENS GEN ”**

Penulisan dan penelitian Skripsi ini dibuat atas inisiatif penulis sebagai bentuk apresiasi dan aplikasi dari ilmu yang diperoleh pada masa perkuliahan. Selain itu, penulisan Skripsi ini juga sebagai kewajiban seorang mahasiswa Program Studi D4 Analis Kesehatan tingkat akhir yang dijadikan salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Terapan Kesehatan.

Skripsi ini bisa diselesaikan tidak terlepas dari bantuan dan kerjasama berbagai pihak baik langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Bapak Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA, selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Bapak Prof. dr. Marsetyawan HNE Soesatyo, M.Sc., Ph.D, selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Bapak Dr. Dian Kresnadipayana, S.Si., M.Si., selaku Ketua Program Studi D4 Analis Kesehatan Universitas Setia Budi.
4. Bapak D. Andang Arif Wibawa S.P, M.Si, selaku Dosen Pembimbing I dan Ibu Reny Pratiwi, Ph.D. selaku dosen pembimbing II yang dengan sabarnya memberikan bimbingan, arahan serta waktu untuk membimbing penulis sehingga terselesaikan Skripsi ini.
5. Ibu Rumeysa Chitra Puspita, S.ST.,MPH, selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing penulis selama menjadi mahasiswa D4 Analis Kesehatan Alih Jenjang.
6. Seluruh Bapak dan Ibu Dosen Fakultas Ilmu Kesehatan serta Bapak dan Ibu Laboran Fakultas Ilmu Kesehatan yang telah dengan sabarnya mendidik dan melatih penulis selama masa kuliah.
7. Kepada orang tua yang sangat penulis sayangi dan hormati Bapak Pandi Sanjoyo, Ibu Tri Wanti, dan adik tercinta Jimas Samudra,

yang selalu memberikan penulis semangat, do'a dan motivasi agar terselesaikannya Pendidikan di Fakultas Ilmu Kesehatan Program Studi D4 Analis Kesehatan.

8. Teman-teman tercinta yang telah membantu dan memberi semangat untuk menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
9. Seluruh Teman-teman D4 Analis Kesehatan Alih Jenjang Angkatan 20221 yang telah berjuang Bersama-sama untuk mengejar cita-cita meraih gelar Sarjana Terapan Kesehatan.
10. Almamater tercinta Universitas Setia Budi Surakarta.

Semoga Allah SWT memberikan balasan atas semua bantuan dan pemikirannya selama perkuliahan ini. Akhir kata, penulis berharap bahwa Karya Tulis Ilmiah ini bisa memberikan manfaat khususnya bagi penulis dan bagi pembaca serta menambah ilmu pengetahuan. Aamiin ya Rabbal alamin.

Wassalamu'alaikum Wr.Wb.

Surakarta, 23 Juli 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
MOTTO DAN PERSEMBAHAN.....	iv
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR SINGKATAN	xi
INTISARI	xii
ABSTRACT	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II METODE PENELITIAN	5
A. Strategi Pencarian Literatur	5
B. Kriteria Jurnal	5
BAB III Hasil dan Pembahasan.....	6
A. Hasil	6
B. Pembahasan.....	13
1. Identifikasi molekuler <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR) dan Ekstraksi DNA.....	15
2. Identifikasi Molekuler dengan Sekuensing Gen	21
3. <i>Gold Standar</i> identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	25
BAB IV	27
A. Kesimpulan	27
B. Saran.....	27
DAFTAR PUSTAKA.....	28

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Ulkus Diabetikum (Fajriyah, 2013).....	14
Gambar 2. <i>Staphylococcus aureus</i> (Garrity et al. 2007).....	15
Gambar 3. Polymerase Chain Reaction (PCR) (Canal, 2014).....	15
Gambar 4. Pengurutan DNA (Projeto genome,2020).....	21

DAFTAR TABEL

Tabel 3. 1. Tabel Jurnal	6
--------------------------------	---

DAFTAR SINGKATAN

ATCC	: <i>American Type Culture Collection</i>
DM	: <i>Diabetes Mellitus</i>
DNA	: <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
ESBLs	: <i>Extended Spectrum β-lactamase</i>
LFNAB	: <i>Biosensor Asam Nukleat Aliran Lateral</i>
NCBI	: <i>National Center for Biotechnology Information</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
POCT	: <i>Point-Of-Care Test</i>
RAPD-PCR	: <i>Random Amplified Polymorphic DNA-PCR</i>
RNA	: <i>Ribo Nucleic Acid</i>
SHV	: <i>Sulphydryl variable</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>

INTISARI

Perwitaningsih, R, 2022. Identifikasi Molekuler Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Ulkus Diabetikum Dengan Metode PCR Dan Sekuensing Gen. Prodi D4 Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Univeristas Setia Budi

Diabetes Melitus telah menjadi penyakit yang semakin meningkat. DM sering menyebabkan komplikasi kronik salah satunya adalah ulkus diabetikum, gangguan pembuluh darah arteri perifer sehingga jaringan sekitar luka akan mati atau nekrotik dan mengalami pembusukan disebabkan adanya bakteri *S. aureus*. Karena tingkat prevalensi penyakit DM yang meningkat maka diperlukan test cepat molekuler yang sudah teruji sensitivitas dan spesifitasnya dalam diagnosa tingkat gen dan menjadi rujukan penanganan antibiotic yang akan diberikan. Literatur review ini bertujuan untuk mendapatkan informasi tentang teknik identifikasi molekuler bakteri *S. aureus* pada ulkus diabetikum dengan metode PCR dan Sekuensing gen.

Pencarian data pada “*literature review*” ini dilakukan dengan mengumpulkan data dari berbagai sumber jurnal penelitian yang dilakukan secara online pada internet melalui situs Google Scholar, Elsevier, PubMed, Plos One, ScienceDirect serta SINTA dengan kata kunci “ulkus diabetikum”, “Identifikasi Molekuler”, “Sekuensing gen”, “(PCR) *Polymerase Chain Reaction*”.

Berdasarkan review jurnal didapatkan Identifikasi molekuler *Staphylococcus aureus* pada ulkus diabetikum dengan metode PCR, dan sekuensing mendapatkan informasi tentang identifikasi gen spesifik seperti gen *nuc*, gen *shv*, gen 16S rRNA. *Gold standar* identifikasi molekuler bakteri *Staphyolococcus aureus* pada ulkus diabetikum adalah menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan Sekuensing yang merupakan pemeriksaan lanjutan yang sudah sering digunakan.

Kata Kunci : Ulkus diabetikum, Identifikasi molekuler, PCR, Sekuensing gen.

ABSTRACT

Perwitaningsih, R, 2022. Molecular Identification of Staphylococcus aureus Bacteria in Diabetic Ulcers Using PCR Methods and Gene Sequencing. Prodi D4 Medical Technology Laboratory, Faculty of Health Sciences, Setia Budi University.

Diabetes Mellitus has become an increasing disease. DM often causes chronic complications, one of which is diabetic ulcers, peripheral arterial vascular disorders so that the tissue around the wound will die or be necrotic and decay due to the presence of *S. aureus* bacteria. Due to the increasing prevalence of DM, a rapid molecular test is needed that has tested its sensitivity and specificity in gene-level diagnostics and becomes a reference for antibiotic treatment to be given. This literature review aims to obtain information about the molecular identification technique of *S. aureus* bacteria in diabetic ulcers using PCR and gene sequencing methods.

The search for data on this "literature review" was carried out by collecting data from various sources of research journals conducted online on the internet through the Google Scholar, Elsevier, PubMed, Plos One, ScienceDirect and SINTA sites with the keywords "diabetic ulcers", "Molecular Identification" ,“ Gene sequencing”,”(PCR) Polymerase Chain Reaction”.

From the results of the journal review, it was found that molecular identification by PCR, and gene sequencing was obtained. It can be concluded that the gold standard for molecular identification of *Staphylococcus aureus* bacteria in diabetic ulcers is to use Polymerase Chain Reaction (PCR) and Sequencing which is a follow-up examination that has often been used.

Keywords: Diabetic ulcers, molecular identification, PCR, gene sequencing.

BAB 1

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Diabetes Melitus (DM) merupakan penyakit yang hingga saat ini telah semakin meningkat. Pada tahun 2005 hingga 2030 dapat diperkirakan jumlah penderita penyakit tersebut berdasarkan urbanisasi dan harapan hidup akan meningkat menjadi dua kali lipat. Penderita DM pada tahun 2008 menurut *Global Survey* yang dilakukan oleh *World Health Organization* (WHO) menunjukkan angka sebesar 347 juta orang dan terus mengalami peningkatan (Wulandari & Sugiri, 2013).

Gangguan metabolisme diabetes melitus adalah masalah global yang pesat dengan konsekuensi sosial, kesehatan, dan ekonomi yang besar. Jumlah tersebut diperkirakan meningkat menjadi 430 juta tanpa adanya pengendalian atau pengobatan yang lebih baik. Lebih lanjut lagi, telah ditunjukkan bahwa hampir 50% dari dugaan diabetes tidak terdiagnosis sampai 10 tahun setelah penyakit diderita, oleh karena itu prevalensi diabetes global yang sebenarnya pasti sangat tinggi (Joanna *et al.*, 2012).

Penderita diabetes melitus menurut WHO (2015) terus meningkat hingga 433 juta. Indonesia sendiri berada pada urutan keempat setelah India, Cina dan Amerika pada kesakitan diabetes melitus. Pada tahun 2018, berdasarkan data RISKESDAS yang dilakukan oleh Departemen Kesehatan mengalami peningkatan sebesar 8,5% yang sebelumnya pada tahun 2013 sebesar 6,9%.

Diabetes Melitus (DM) merupakan sebuah sindrom yang mempunyai sifat kelainan metabolik, hal tersebut ditandai dengan terjadinya defek kerja insulin, defek sekresi insulin ataupun keduanya yang kemudian mengakibatkan hiperglikemia (Detty, *et al.*, 2020). Selanjutnya menurut Sugireng & Rosdarni (2021) diabetes melitus adalah susunan dari gangguan metabolik dalam jangka waktu menengah yang mengakibatkan insulin tidak dapat diproduksi dengan cukup oleh pankreas, sehingga terjadinya kekurangan insulin baik relatif ataupun absolut dan konsentrasi glukosa dalam darah mengalami peningkatan. Diabetes melitus sering menyebabkan komplikasi kronik salah satunya yaitu ulkus diabetikum yang terjadi pada kulit penderita akibat infeksi

superficial. Ulkus diabetikum akan lebih rentan terjadi pada pasien diabetes militus yang memiliki luka terbuka.

Ulkus diabetikum adalah luka terbuka yang terjadi pada lapisan kulit hingga kedalam dermis, infeksi, tukak atau dekstruksi ke jaringan kulit yang paling dalam dikaki pada pasien DM hal ini disebabkan oleh abnormalitas saraf dan gangguan pembuluh darah arteri perifer sehingga jaringan sekitar luka akan mati atau nekrotik dan mengalami pembusukan hal ini disebabkan oleh adanya bakteri (Ronald, 2017).

Bakteri yang menghasilkan biofilm merupakan bakteri yang mengakibatkan infeksi pada ulkus diabetikum. Biofilm sendiri dapat dihasilkan oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. Proses penyembuhan luka yang pada aktivitas fagositosis neutrophil polimorfonuklear menjadi terhambat akibat dasar luka yang dialaminya terdapat biofilm (Anshori *et al.*, 2014). Di Indonesia sendiri permasalahan ulkus diabetikum masih belum dikelola dengan baik, hal tersebut terlihat pada prevalensi terjadinya ulkus diabetikum sebesar 15% dan sering berakhir menjadi kematian ataupun kecacatan.

Karakteristik bakteri pada ulkus diabetikum dengan cara kultur bakteri, uji biokimia tingkat melokuler. Pada bidang molekuler, salah satu peran yang sangat penting yaitu melakukan identifikasi mikroorganisme yang menyebabkan infeksi. Hal tersebut dapat berkaitan dengan pencegahan transmisi, penanganan yang tepat dan mencegah terjadinya resistensi antimikroba. Identifikasi tersebut dapat dilakukan dengan menggunakan metode (PCR) *Polymerase Chain Reaction*. Metode PCR pada umumnya digunakan untuk beberapa tugas diantaranya yaitu pengujian paternitas, diagnosis penyakit menular, indentifikasi sidik jari, komputasi DNA, cloning gen, dan deteksi penyakit keturunan (Dinda *et al.*, 2014).

Berdasarkan Sekuen DNA-nya dapat diduga identifikasi dan direkonstruksi pohon filogenetik yang akan mengelompokkan bakteri berdasarkan jarak kekerabatannya. Penggunaan sekuan 16S rRNA untuk identifikasi dan studi kekerabatan telah banyak dilakukan. Keuntungan lain dari analisis 16S rRNA dalam identifikasi bakteri adalah tingkat akurasi dan keefektifan yang tinggi serta singkatnya waktu dalam proses identifikasi terlebih jika dibandingkan dengan

metode konvensional. Karakteristik ini sangat penting dan praktis untuk mendiagnosis penyakit yang disebabkan oleh bakteri (Noer, 2021).

Skripsi ini mengumpulkan informasi mengenai identifikasi molekuler bakteri *Staphylococcus aureus* pada ulkus diabetikum dengan menggunakan metode PCR dan sekuensing gen, informasi yang ditulis dalam bentuk *literatur review*. *Literatur review* ini dapat menjadi acuan informasi penanganan ulkus diabetikum serta menambah informasi tentang diagnosa laboratorium tingkat molekuler atau gen. Karena tingkat prevalensi penyakit diabetes mellitus yang meningkat maka diperlukan test cepat molekuler yang sudah teruji sensitivitas dan spesifitasnya dalam diagnosa tingkat gen dan menjadi rujukan penanganan antibiotik yang akan diberikan.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan informasi dalam latar belakang yang telah dipaparkan mengenai bakteri pada ulkus diabetikum maka rumusan masalah pada penelitian ini dirumuskan sebagai berikut “Bagaimana teknik identifikasi molekuler bakteri *Staphylococcus aureus* dengan PCR dan sekuensing gen ?”

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah dijelaskan sehingga tujuan pada penelitian ini yang ingin dicapai yaitu “Mendapatkan informasi tentang teknik identifikasi molekuler bakteri *Staphylococcus aureus* pada ulkus diabetikum dengan metode PCR dan Sekuensing gen.”

D. Manfaat Penelitian

Manfaat dalam penelitian ini sebagai berikut :

1. Bagi Masyarakat

Manfaat penelitian bagi masyarakat yaitu untuk sumber informasi bahwa pada luka luar penderita diabetes melitus terdapat bakteri. Setelah mengetahui informasi adanya bakteri diharapkan masyarakat dapat melakukan pengobatan atau terapi lanjutan dengan tujuan meringankan infeksi luka tersebut.

2. Bagi Institusi

Manfaat Penelitian bagi institusi dapat digunakan sebagai informasi, bahan dan data pada kepustakaan institusi. Penelitian ini dapat digunakan sebagai bahan rujukan bagi beberapa

penelitian selanjutnya yang berkaitan dengan penelitian molekuler metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan analisis sekuensing DNA.

3. Bagi Peneliti

Manfaat penelitian bagi peneliti untuk meningkatkan ilmu pengetahuan, wawasan dan kepahaman peneliti tentang identifikasi molekuler dan sekuensing gen dalam bidang biologi molekuler.