

SKRIPSI

DETEKSI *Pseudomonas aeruginosa* BERBASIS *Polymerase Chain Reaction* (PCR) PADA PASIEN ULKUS DIABETIKUM DI RSUD PARIAMAN



Oleh:

FRISKA MARTA NINGSIH
NIM: 2010262016

**PROGRAM STUDI SERJANA TERAPAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
FAKULTAS ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA
PADANG
2024**



a.) Tempat/tgl lahir : Teluk Kasai, 05 Maret 2002; b.) Nama Orang Tua : (Ayah) Agusmal (Ibu) Defriani; c.) Program Studi : DIV Analis Kesehatan/TLM; d.) Fakultas Ilmu Kesehatan ; e.) No Nim : 2010262016; f.) Tgl Lulus : 26 Juli 2024; g.) Predikat Lulus : h.) IPK ;3,74 i) Lama Studi : 4 Tahun; j.) Alamat : Teluk Kasai, Koto Nan Duo IV Koto Hilie, Batang Kapas.

DETEKSI *Pseudomonas aeruginosa* BERBASIS *Polymerase Chain Reaction* (PCR) PADA PASIEN ULKUS DIABETIKUM DI RSUD

PARIAMAN

SKRIPSI

Oleh : Friska Marta Ningsih

Pembimbing : 1. Prof. Dr.Suryani, M.Si., 2. Renowati, M.Biomed

ABSTRAK

Ulkus diabetikum merupakan luka terbuka pada permukaan kulit yang disebabkan karena adanya komplikasi kronis, seperti diabetes melitus. Pada luka kaki diabetes infeksi disebabkan karena bakteri. Infeksi ini dapat mengakibatkan amputasi hingga kematian. Salah satu bakteri penyebab ulkus diabetikum adalah *Pseudomonas aeruginosa*, tujuan penelitian ini adalah mendeteksi *Pseudomonas aeruginosa* berbasis PCR menggunakan gen *OprI* pada pus luka. Penelitian ini dilakukan menggunakan metode observasi analitik. Hasil penelitian yang dilakukan yaitu ditemukan pita DNA pada kode sampel 1,2,3 pada hasil isolasi DNA, sedangkan pada kode sampel 4 tidak ditemukan pita DNA, hal itu bisa disebabkan oleh 2 kemungkinan yaitu proses isolasi DNA gagal atau DNA bakteri yang terlalu sedikit sehingga tidak terdeteksi oleh alat. Bila sudah diketahui bahwa terdeteksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang menyebabkannya, maka dapat ditentukan antibiotik yang dapat membuunuh bakteri tersebut.

Kata Kunci : *Pseudomonas aeruginosa*, PCR, Ulkus diabetikum.

Skripsi ini telah dipertahankan didepan sidang penguji dan dinyatakan LULUS pada 26 Juli 2024.

Abstrak ini telah disetujui oleh penguji :

Tanda Tangan	1.	2.	3.
Friska Marta Ningsih	Prof. Dr. Suryani, M.Si.	Renowati, M.Biommed.	Dr. Rer. Nat. Ikhwan Resmala Sudji, M.Si.

Mengetahui,

Head of Study Program: Dr. Apt. Dewi Yudiana Shinta, M.Si.

Tanda tangan



a.) Place/date of birth: Teluk Kasai, March 05, 2002; b.) Parents' Name: (Father) Agusmal (Mother) Defriani; c.) Study Program: DIV Health Analyst/TLM; d.) Faculty of Health Sciences; e.) No Nim : 2010262016; f.) Graduation Date : July 26, 2024; g.) Predicate of Passing : h.) GPA; 3.74 i) Study Duration: 4 Years; j.) Address : Teluk Kasai, Koto Nan Duo IV Koto Hilie, Batang Kapas.

DETEKSI *Pseudomonas aeruginosa* BERBASIS *Polymerase Chain Reaction* (PCR) PADA PASIEN ULKUS DIABETIKUM DI RSUD PARIAMAN

Oleh : Friska Marta Ningsih

Pembimbing : 1. Prof. Dr.Suryani, M.Si., 2. Renowati, M.Biomed

ABSTRACT

Diabetic ulcers are open wounds on the surface of the skin caused by chronic complications, such as diabetes mellitus. In diabetic foot wounds, infection is caused by bacteria. This infection can result in amputation and death. One of the bacteria that causes diabetic ulcers is *Pseudomonas aeruginosa*, the purpose of this study is to detect *PCR-based Pseudomonas aeruginosa* using the *Oprl gene* in wound pus. This research was conducted using analytical observation methods. The results of the research carried out were found DNA bands in sample codes 1,2,3 in the DNA isolation results, while in sample code 4 no DNA bands were found, it could be caused by 2 possibilities, namely the DNA isolation process failed or the bacterial DNA was too little so that it was not detected by the instrument. If it is known that the bacteria *Pseudomonas aeruginosa* is detected that causes it, then antibiotics that can kill the bacteria can be determined.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, PCR, Diabetic ulcer.

This thesis has been defended in front of the examiner session and was declared PASSED on July 26, 2024.

This abstract has been approved by the examiner:

Signature	1.	2.	3.
Friska Marta Ningsih	Prof. Dr. Suryani, M.Si.	Renowati, M.Biommed.	Dr. Rer. Nat. Ikhwan Resmala Sudji, M.Si.

Know

Head of Study Program: Dr. Apt. Dewi Yudiana Shinta, M.Si.

Signature

BAB I

LATAR BELAKANG

1.1 Latar Belakang

Ulkus diabetikum merupakan luka terbuka pada permukaan kulit karena adanya komplikasi makroangiopati sehingga terjadi vaskuler insufisiensi dan neuropati, serta dapat berkembang menjadi infeksi karena masuknya kuman atau bakteri dan adanya gula darah yang tinggi menjadi tempat yang strategis untuk pertumbuhan bakteri. (Aryzki et al., 2020)

Luka pada kaki diabetik dapat menjadi infeksi sehingga menimbulkan adanya ulkus, dengan adanya sirkulasi darah yang kurang baik adalah penyebab adanya kerusakan pembuluh darah dan saraf. Bakteri mudah tumbuh ketika darah penderita melebihi nilai normal dan menghambat penyembuhan. (Pinem & Roslinda, 2020)

Ulkus diabetikum berkembang karena adanya kombinasi antara faktor ekstrinsik seperti tingginya tekanan plantar atau trauma lokal, dengan faktor intrinsik seperti neuropati perifer, penyakit mikrovaskular dan gangguan respon imun pejamu. Bakteri menyebabkan infeksi pada ulkus. Salah satu bakteri penyebab ulkus pada penderita DM adalah *Pseudomonas aeruginosa* yang terdapat pada flora usus dan kulit manusia. (Shafira et al., 2022)

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri patogen yang menyebabkan oportunistik pada manusia, merupakan Gram negatif bersifat invasif dan toksigenik, menyebabkan infeksi pada tubuh. Biasanya terjadi pada pasien infeksi luka pus. (Wisdom et al., 2021; Gunawan et al., 2019).

Selain identifikasi bakteri *P. aeruginosa* menggunakan kulturisasi dan reaksi biokimia dapat juga di deteksi menggunakan teknik polymerase chain reaction (PCR) melalui amplifikasi gen spesifik. yang merupakan metode enzimatik dengan cara in vitro.. Beberapa Peneliti sudah mendeteksi gen pada *P. aeruginosa* (Al-Draghi dan Saeed, 2020) diketahui bahwa (98%) dari total isolat *P. aeruginosa* ditemukan gen *algD.*, selain itu gen *opr L.* juga dapat digunakan. (Shafira et al., 2022).

PCR dengan gen *oprL* menghasilkan sensitivitas dan spesifisitas yang lebih tinggi, Primer *Oprl* dirancang untuk mengikat urutan spesifik dalam DNA target. meningkatkan akurasi amplifikasi, memastikan bahwa hanya urutan target yang diperbanyak. Desain optimal dari primer membantu mengurangi risiko kontaminasi silang selama proses, menjamin hasil yang lebih akurat dan andal. (Gholami et al., 2020) dan mempunyai kecepatan, dalam mendeteksi suatu mikroorganisme Namun belum ada penelitian yang menggunakan gen *opr L* sebagai data primer untuk deteksi *P. aeruginosa* pada ulkus diabetikus, oleh karena itu saya tertarik untuk melakukan deteksi menggunakan gen *Oprl* dengan metode PCR.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana deteksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan berbasis PCR menggunakan gen *Oprl* pada pasien ulkus diabetikum di RSUD Pariaman?.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mendeteksi ada atau tidaknya *Pseudomonas aeruginosa* berbasis PCR menggunakan gen *Oprl* pada pasien ulkus diabetikum pasien di RSUD Pariaman.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui hasil isolasi elektroforesis DNA pada sampel ulkus diabetikum.
2. Untuk mengetahui hasil elektroforesis PCR bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada sampel ulkus diabetikum.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Menambah wawasan bagi peneliti mengenai identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada ulkus diabetikum pasien.

1.4.2 Bagi Institusi

Dapat memberikan informasi serta masukan bagi mahasiswa di perpustakaan terkhusus di bidang biologi molekuler

1.4.3 Bagi Tenaga Laboratorium

Sebagai referensi terhadap tenaga laboratorium mengenai deteksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* berbasis PCR menggunakan gen *Oprl* pada pasien ulkus diabetikum di RSUD Pariaman.

BAB V

PEMBAHASAN

Identifikasi bakteri hasil sub kultur disimpan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Perintis Indonesia, sampel yang digunakan berasal dari 4 pasien yang mengalami luka pada bagian kaki dan mengeluarkan pus (nanah). Peremajaan bakteri dilakukan agar bakteri dapat memulai metabolisme kembali, dengan mengambil usapan pus pasien dengan cotton swab dan di biakan media Nb dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. (Shafira et al., 2022)

Uji identifikasi molekuler dilakukan dengan tahapan pertama adalah isolasi DNA bakteri. Isolasi DNA bakteri dilakukan pada sampel isolate bakteri menggunakan metode solid base dengan kit Mini gDNA Bacteria Kit. Metode ini bertujuan untuk pemurnian DNA genomik dan virus dari bakteri Gram (-) dan Gram (+), darah dan cairan biologis. Metode ini memiliki banyak keunggulan mudah cepat dalam pengerjaannya serta kualitas DNA yang dihasilkan relatif murni dan banyak digunakan oleh para peneliti dalam memeriksa material genetik (Barung et al., 2017)

Isolasi DNA merupakan tahapan yang penting dalam teknik molekuler untuk mendapatkan isolat DNA. Isolat DNA yang akan diamplifikasi menggunakan PCR dilakukan pengukuran konsentrasi dan kemurnian DNA dapat diukur menggunakan spektrofotometer NanoDrop. Prinsipnya adalah menghitung perbedaan penyerapan

cahaya UV dimana pita ganda DNA dapat menyerap cahaya UV pada 260 nm karena DNA mengandung basa purin dan pirimidin yang mampu menyerap sinar ultraviolet pada panjang gelombang 260 nm, sedangkan kontaminan protein atau fenol dapat menyerap cahaya pada 280 nm. (Shafira et al., 2022)

Hasil isolasi DNA dilakukan amplifikasi fragmen DNA menggunakan mesin PCR konvensional (thermal Cycler) dengan primer *Oprl*. Selanjutnya hasil PCR dilakukan elektroforesis melalui gel agarosa 1 % dan divisualisasikan menggunakan UV transumulator. Teknik ini merupakan teknik pemisahan yang sederhana, cepat dan tepat memisahkan molekul DNA.

Berdasarkan gambar 4.2 elektroforesis hasil isolasi DNA pada sampel 1,2,3 ditemukan pita DNA pada hasil isolasi. Sedangkan pada kode sampel 4 tidak ditemukan pita DNA, hal itu bisa disebabkan oleh 2 kemungkinan yaitu : Proses isolasi DNA gagal atau DNA bakteri yang terlalu sedikit sehingga tidak divisualisasikan oleh alat.

Berdasarkan gambar 4.3 hasil elektroforesis PCR gen *Oprl* diperoleh pita DNA berukuran 500 bp. Ketebalan pita DNA dipengaruhi oleh jumlah DNA yang terisolasi. Semakin banyak DNA yang terisolasi maka semakin tebal pita DNA sedangkan semakin sedikit DNA yang terisolasi maka semakin tipis pita DNA yang divisualisasi pada gel agarose (Wijaya, et al., 2018). Distorsi pita berupa terbentuknya pita yang tidak lurus, melengkung ke luar, melengkung ke dalam dan miring dapat berasal dari suasana gel dan jenis buffer. (Namuq et al., 2019)

Pada tahap isolasi DNA, konsentrasi DNA mungkin sangat rendah sehingga tidak terlihat pita pada gel isolasi. Namun, ketika dilakukan elektroforesis PCR

terlihat pita DNA, hal itu disebabkan teknik elektroforesis PCR lebih sensitive dan mampu mendeteksi pita DNA meskipun dalam jumlah kecil.

Ditemukannya bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sebagai penyebab tersering dari infeksi pasca operasi pada penelitian ini mungkin disebabkan karena bakteri ini merupakan flora normal pada usus dan kulit manusia. Selain itu *Pseudomonas* dapat tumbuh subur pada cairan desinfektan, sehingga bakteri ini sangat mudah menyebar dengan cepat pada pasien maupun lingkungan rumah sakit. (Misvayanty et al., 2021)