

SKRIPSI

IDENTIFIKASI MOLEKULER JAMUR *Trichosporon asahii* PADA ULKUS KAKI PASIEN DIABETES MELITUS



Oleh :
INTAN SUBEKTI
NIM : 211026211

**PROGRAM STUDI SARJANA TERAPAN TEKNOLOGI
LABORATORIUM MEDISFAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA
PADANG
2025**



a). Tempat/Tgl: Padang, 05 Oktober 2001.; b). Nama Orang Tua: Drs. Syafruddin.K dan Nurhayati.; c). Program Studi: Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis; d). Fakultas: Ilmu Kesehatan; e). NIM: 2110262111; f). Tgl Lulus: 24 Juli 2025; g). Predikat Lulus: Pujiwan; h). IPK: 3.88; i). Lama Studi: 4 Tahun; j). Alamat: Kota Padang

IDENTIFIKASI MOLEKULER JAMUR *Trichosporon asahii* PADA ULKUS KAKI PASIEN DIABETES MELITUS SKRIPSI

Oleh : Intan Subekti

Pembimbing : 1. Anggun Sophia, M.Pd. 2. Chairani, S.Si, M.Biomed

Abstrak

Ulkus kaki diabetes melitus (DM) merupakan komplikasi kronis yang rentan terinfeksi oleh patogen oportunistik, termasuk *Trichosporon asahii*. Jamur ini dikenal sebagai ragi basidiomycetes oportunistik yang dapat membentuk biofilm, menembus jaringan dalam, serta menunjukkan resistensi terhadap sejumlah antijamur konvensional. Identifikasi yang tepat sangat penting, mengingat infeksi *T. asahii* berpotensi menjadi sistemik, terutama pada pasien dengan gangguan imun. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keberadaan *T. asahii* pada ulkus kaki pasien DM melalui pendekatan morfologis dan molekuler. Lima pasien dengan ulkus kaki DM berusia 40–70 tahun diperiksa, terdiri dari dua perempuan dan tiga laki-laki, seluruhnya memiliki komplikasi seperti PAD, neuropati, hipertensi, nefropati, dan imunodefisiensi. Identifikasi jamur dilakukan melalui pengamatan kultur makroskopis, mikroskopis dengan pewarnaan LPCB, serta PCR menggunakan primer ITS1 dan ITS4. Analisis sekruensing dilakukan dengan perangkat lunak MEGA 11 dan basis data *GenBank*. Hasil menunjukkan isolat nomor 4 positif *T. asahii*, berdasarkan morfologi koloni yang kasar, serta tampilan mikroskopis berupa artrokonidia dan blastospora. PCR menunjukkan pita ±600 bp dan sekruensing memiliki kesesuaian 99%. Temuan ini menunjukkan bahwa *T. asahii* merupakan patogen signifikan pada ulkus kaki DM dan identifikasi molekuler berbasis ITS sangat dianjurkan.

Kata kunci: *Trichosporon asahii*, ulkus kaki diabetes, PCR, ITS, sekruensing.
Skripsi ini telah dipertahankan di depan sidang penguji dan di nyatakan **LULUS** pada 24 Juli 2025. Abstrak ini tela disetujui oleh penguji :

Tanda tangan	1.	2.	3.

Mengetahui,

Ketua Program Studi : Dr.Apt. Dewi Yudiana Shinta, M.Si





a). Place/Date of Birth: Padang, 05 October 2001.; b). Name of Parents: Drs. Syafruddin.K and Nurhayati.; c). Study Program: Bachelor of Applied Medical Laboratory Technology; d). Faculty of Health Sciences; e). Student ID: 2110262111; f). Date of Passed: july, 24 2025; g). Passing Predicate: Honor; h). GPA: 3.88; i). Length of Study: 4 Years; j). Address: Padang city

**MOLECULAR IDENTIFICATION OF *Trichosporon asahii* FROM
DIABETIC FOOT ULCERS IN PATIENTS WITH DIABETES
MELITUS**

THESIS

By : Intan Subekti

Mentors : 1. Anggun Sophia, M.Pd. 2. Chairani, S.Si, M.Biomed

Abstract

Diabetic foot ulcers (DFUs) represent a chronic complication of diabetes mellitus (DM) that are highly susceptible to opportunistic infections, including those caused by *Trichosporon asahii*. This yeast-like basidiomycetes/. fungus is known for its ability to form biofilms, invade deep tissues, and exhibit resistance to several conventional antifungal agents. Accurate identification is essential, as *T. asahii* infections have the potential to become systemic, particularly in immunocompromised individuals. This study aimed to identify the presence of *T. asahii* in diabetic foot ulcers using both morphological and molecular approaches. A total of five patients aged 40–70 years with diabetic foot ulcers were examined, consisting of two females and three males, all presenting complications such as peripheral artery disease (PAD), neuropathy, hypertension, nephropathy, and immunodeficiency. Fungal identification was performed through macroscopic culture observation, microscopic examination with Lactophenol Cotton Blue (LPCB) staining, and PCR amplification using ITS1 and ITS4 primers. Sequencing analysis was conducted using MEGA 11 software and the GenBank database. Results indicated that isolate number 4 was positive for *T. asahii*, characterized by rough-surfaced colonies and microscopic structures including arthroconidia and blastospores. PCR showed a band of approximately 600 bp, and sequencing revealed 99% similarity with *T. asahii* sequences in GenBank. These findings highlight *T. asahii* as a significant opportunistic pathogen in diabetic foot infections, and support the use of ITS-based molecular identification as a reliable diagnostic tool in non-*Candida* fungal infections.

Keywords: *Trichosporon asahii*, diabetic foot ulcer, PCR, ITS, sequencing.

This thesis has been defended in front of the examiner and declared PASSED on Juli 24, 2025. This abstract has been approved by the examiner :

Signature	1.	2.	3.

Knowing,

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



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes Melitus (DM) merupakan salah satu masalah kesehatan global yang signifikan. Diabetes melitus adalah gangguan metabolisme kronik yang ditandai dengan hiperglikemia persisten yang disebabkan oleh kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau keduanya. Diabetes melitus ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah akibat ketidakmampuan tubuh dalam memproduksi atau menggunakan insulin secara efektif (Sophia, Suraini dan Ariesta, 2024). Diabetes melitus juga merupakan penyakit degeneratif yang menjadi perhatian penting karena merupakan bagian dari empat penyakit tidak menular prioritas yang selalu meningkat setiap tahunnya dan menjadi ancaman bagi kesehatan dunia di era saat ini (Pratiwi dan Purwanti, 2024).

Menurut *Internasional Diabetes Federation* (IDF), pada tahun 2024 terdapat 589 juta orang dewasa berusia 20-79 tahun hidup dengan diabetes melitus di dunia yang berarti 1 dari 9 orang dewasa menderita penyakit ini. Jumlah ini diperkirakan akan meningkat menjadi 853 juta pada tahun 2050. Selain itu, terdapat 3,4 juta kematian akibat diabetes melitus pada tahun 2024, yang setara dengan satu kematian dalam setiap 9 detik (Global, Practice dan Type, 2025). Pada tahun 2021, Indonesia menempati urutan kelima di dunia sebagai negara yang mencapai 19,5 juta orang penderita diabetes melitus, ini diperkirakan akan meningkat menjadi 28,6 juta pada tahun 2045 (Pratiwi dan Purwanti, 2024).

Secara umum, diabetes melitus diklasifikasikan menjadi 2 tipe yaitu diabetes melitus tipe 1 yang merupakan hasil reaksi dari autoimun terhadap protein sel beta

pankreas, kemudian diabetes tipe 2 yang mana disebabkan oleh kombinasi faktor genetik yang berhubungan dengan gangguan sekresi insulin, resistensi insulin dan faktor lingkungan seperti obesitas, makan berlebihan, kurang makan, olahraga dan stres serta penuaan (Lestari, Zulkarnaini dan Sijid, 2021). Diabetes Melitus menyebabkan hiperglikemia yang berdampak pada metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein secara sistemik. Kondisi hiperglikemia yang terjadi secara terus menerus dan dalam jangka waktu lama (kronik) dapat menimbulkan komplikasi sistemik.

Komplikasi sistemik diabetes melitus kronik bisa mengenai makrovaskuler (rusaknya pembuluh darah besar) dan mikrovaskuler (rusaknya pembuluh darah kecil). Komplikasi makrovaskuler meliputi penyakit seperti serangan jantung, stroke, dan insufisiensi aliran darah ke kaki. Sedangkan komplikasi mikrovaskuler meliputi kerusakan pada mata (retinopati) yang menyebabkan kebutaan, kerusakan pada ginjal (nephropati) yang berakhir pada gagal ginjal, dan juga kerusakan pada syaraf (neuropati), serta kulit dan jaringan lunak yang rentan mengalami ulkus diabetikum yang berakibat kemungkinan terjadinya amputasi pada kaki (Indriati dan Riau, 2023).

Ulkus diabetikum merupakan salah satu komplikasi kronis dari diabetes melitus dengan neuropati perifer baik sensori, motorik maupun otonom. Ulkus diabetikum pada kaki menjadi perhatian utama karena kurangnya aliran darah ke kaki akibat kerusakan pembuluh darah yang disebabkan oleh kadar gula darah yang tidak terkontrol. Selain itu, kerusakan saraf (neuropati perifer) membuat penderita kehilangan sensasi nyeri di kaki sehingga luka kecil yang terjadi sering tidak disadari dan berkembang menjadi ulkus yang sulit sembuh (Ayu, Supono

dan Rahmawati, 2022). Terinfeksi jamur sangat beresiko pada Ulkus diabetikum karena kondisi hiperglikemia pada diabetes melitus melemahkan sistem imun, menurunkan kemampuan tubuh dalam melawan infeksi, serta menciptakan lingkungan yang mendukung pertumbuhan mikroorganisme oportunistik termasuk jamur seperti *Trichosporon asahii* (Luthfiani, Sari dan Apridamayanti, 2019).

Trichosporon asahii merupakan jamur oportunistik yang dapat menyebabkan infeksi lokal hingga sistemik, terutama pada individu dengan imunosupresi atau gangguan metabolismik seperti diabetes melitus. Infeksi ini dapat memperburuk kondisi ulkus, memperlambat penyembuhan dan meningkatkan risiko komplikasi serius seperti osteomielitis dan amputasi (Bayuaji *et al.*, 2022). Untuk mengidentifikasi *Trichosporon asahii* pada ulkus diabetikum menggunakan *Internal Transcribed Spacer* (ITS) didasarkan pada kebutuhan metode yang spesifik dan akurat untuk membedakan *Trichosporon asahii* dari jamur lain, terutama karena *Trichosporon asahii* termasuk jamur oportunistik non-candida yang memiliki kemiripan morfologi dan genetik dengan spesies *Trichosporon* lain (Subramanian dan Abraham, 2022).

Metode kultur dan PCR dengan primer umum sering kali kurang spesifik dan memerlukan waktu yang lama, sehingga sulit membedakan *Trichosporon asahii* secara cepat dan tepat. Wilayah ITS pada DNA ribosomal memiliki tingkat variasi genetik yang tinggi antar spesies jamur, sehingga menjadi target ideal untuk identifikasi molekuler menggunakan PCR dan sekruensing. Dengan menggunakan ITS, *Trichosporon asahii* dapat diidentifikasi secara spesifik langsung dari sampel klinis ulkus diabetikum tanpa perlu isolasi kultur yang memakan waktu. Selain itu, ITS mampu membedakan *Trichosporon asahii* dari spesies *Trichosporon* lain

yang sangat mirip secara genetik, sehingga mengurangi kesalahan diagnosis dan membantu menentukan terapi antijamur yang tepat. Hal ini penting karena infeksi *Trichosporon asahii* pada ulkus diabetikum dapat memperburuk kondisi luka dan meningkatkan risiko komplikasi serius.

Berdasarkan hasil pencarian, belum ditemukan penelitian yang secara spesifik mengidentifikasi *Trichosporon asahii* pada ulkus kaki diabetikum. Namun, terdapat penelitian terkait identifikasi jamur dermatofita dan *candida* pada luka kaki penderita diabetes melitus menggunakan metode PCR dan untuk mendeteksi jamur dermatofita pada luka kaki penderita diabetes melitus dengan hasil positif 62,5% pada sampel yang diuji, yang menunjukkan efektivitas metode molekuler dalam identifikasi jamur pada ulkus diabetikum. Selain itu, penelitian lain mengidentifikasi berbagai spesies *candida* pada ulkus diabetikum derajat lanjut dengan metode makroskopik dan kultur (Subramanian dan Abraham, 2022). Dengan teridentifikasi positif berbagai spesies *candida* pada ulkus kaki diabetikum menggunakan metode makroskopik, kultur dan molekuler (PCR), maka dari itu peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang identifikasi molekuler jamur *Trichosporon asahii* pada ulkus pada kaki pasien diabetes melitus.

Untuk mendiagnosis infeksi *Trichosporon asahii* identifikasi molekuler menjadi metode yang sangat penting karena karakteristik morfologi jamur ini seringkali tidak cukup spesifik untuk membedakan antara spesies *Trichosporon* lainnya atau dengan jamur patogen lain. Pengguna sekuens rDNA ITS (*Internal Transcribed Spacer*) merupakan salah satu metode yang handal untuk identifikasi jamur hingga ke tingkat spesies. Melalui analisis sekuens rDNA ITS, isolat

Trichosporon asahii dari pasien diabetes melitus dapat diidentifikasi secara akurat, memungkinkan penentuan diagnosis yang tepat dan pemberian terapi yang sesuai. Identifikasi yang tepat sangat penting untuk pengelolaan infeksi yang efektif, terutama mengingat potensi resistensi jamur terhadap antifungi tertentu. Maka dari itu telah dilakukan penelitian **Identifikasi Molekuler Jamur *Trichosporon asahii* Pada Ulkus Kaki Pasien Diabetes Melitus.**

1.2 Perumusan Masalah

Perumusan masalah pada penelitian ini adalah bagaimana identifikasi molekuler dapat digunakan untuk mendeteksi keberadaan jamur *Trichosporon asahii* pada ulkus kaki pasien diabetes melitus?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengidentifikasi jamur *Trichosporon asahii* pada ulkus kaki pasien diabetes melitus secara molekuler.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengisolasi jamur *Trichosporon asahii* pada ulkus kaki pasien diabetes melitus menggunakan metode kultur.
2. Untuk mengetahui pita DNA jamur *Trichosporon asahii* pada ulkus kaki pasien diabetes melitus dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR).
3. Untuk mengidentifikasi jamur *Trichosporon asahii* pada ulkus kaki pasien diabetes melitus melalui analisis sekruensing.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Peneliti

Untuk meningkatkan pemahaman ilmiah dan mengembangkan keterampilan bidang mikologi dan biologi molekuler dalam penerapan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan sekruensing DNA untuk mengidentifikasi jamur *Trichosporon asahii* pada ulkus kaki pasien diabetes melitus.

1.4.2 Institusi Pendidikan

Sebagai referensi ilmu bagi institusi pendidikan khususnya bidang mikologi dan biologi molekuler.

1.4.3 Teknisi Laboratorium

Dapat memberikan informasi dan memperkuat pemahaman mengenai identifikasi molekuler jamur *Trichosporon asahii* dari ulkus kaki pasien diabetes melitus.

BAB V

PEMBAHASAN

Trichosporon asahii ditemukan pada ulkus kaki pasien diabetes melitus menunjukkan keterkaitan erat antara luka kronis, gangguan metabolismik, dan kondisi imun yang lemah. Ulkus diabetikum merupakan lingkungan yang mendukung pertumbuhan jamur oportunistik karena kelembapan tinggi, tingginya kadar glukosa jaringan, serta perfusi darah yang buruk akibat komplikasi vaskular. Komplikasi seperti penyakit arteri perifer (PAD), neuropati, dan imunodefisiensi menciptakan hambatan pada proses penyembuhan luka serta menurunkan kemampuan tubuh dalam melawan kolonisasi jamur. *T. asahii*, sebagai jamur oportunistik, mampu memanfaatkan kondisi tersebut untuk tumbuh, membentuk biofilm, dan menginvasi jaringan luka. Penelitian oleh Iturrieta-González *et al.* (2014) menunjukkan bahwa *T. asahii* memiliki potensi patogenik tinggi pada luka kronis dengan kondisi imun yang terganggu. Hal ini diperkuat oleh Li *et al.* (2020) yang melaporkan kasus *T. asahii* pada ulkus diabetikum dengan komplikasi PAD dan neuropati, yang berkembang hingga menyebabkan infeksi dalam.

Karakteristik responden lima pasien dalam penelitian ini terdiri dari dua perempuan dan tiga laki-laki dengan rentang usia 40–70 tahun, seluruhnya menderita diabetes melitus dengan komplikasi seperti PAD, neuropati, hipertensi, nefropati, dan imunodefisiensi. Usia lanjut berkontribusi terhadap proses *immunoseneescence*, yaitu penurunan fungsi sel imun seiring usia, yang diperparah oleh hiperglikemia kronik pada penderita DM. Kombinasi antara usia lanjut, kadar glukosa tinggi, dan komplikasi metabolismik menjadikan pasien rentan terhadap infeksi jamur oportunistik. *T. asahii* sering ditemukan pada pasien usia tua dengan

imunitas lemah, dan menunjukkan kemampuan infeksi yang tinggi pada luka terbuka seperti ulkus. Studi oleh Mehta *et al.* (2021) menunjukkan bahwa kelompok usia ≥ 60 tahun dengan diabetes memiliki risiko tinggi infeksi *T.asahii*. Colombo, Padovan dan Chaves (2011) juga menyatakan bahwa pasien dengan DM dan penyakit kronik lainnya merupakan kelompok paling berisiko terhadap infeksi jamur ini.

Identifikasi awal melalui kultur makroskopis menunjukkan bahwa isolat nomor 1 dan 5 tidak menunjukkan pertumbuhan koloni jamur, sedangkan isolat nomor 2 dan 3 menampilkan koloni putih lembut khas *Candida albicans*. Isolat nomor 4 menunjukkan koloni berbentuk bulat, berwarna krem, dengan permukaan kasar seperti berbutir halus tepi licin ciri khas pertumbuhan *T.asahii* pada media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA). Koloni *T.asahii* umumnya tumbuh cepat dan memiliki morfologi yang berbeda dari ragi biasa. Ciri-ciri ini konsisten dengan temuan dari Ichikawa *et al.* (2016) yang melaporkan bahwa koloni *T.asahii* memiliki tepi tidak rata dan tampak berbutir halus. Ichikawa *et al.* (2017) juga menggambarkan bahwa permukaan koloni *T.asahii* biasanya tampak padat dan kasar, berbeda dari koloni *Candida* yang halus dan berkilau.

Pemeriksaan mikroskopis menggunakan pewarnaan *Lactophenol Cotton Blue* (LPCB) memperlihatkan ciri khas masing-masing spesies. Isolat nomor 2 dan 3 yang teridentifikasi sebagai *Candida albicans* menunjukkan bentuk blastospora oval dan pseudohifa. Sementara itu, isolat nomor 4 menunjukkan hifa bersifat hialin dan bercabang dengan artrokonidia serta blastospora, yang merupakan ciri khas dari *T.asahii*. Struktur artrokonidia menjadi penanda penting dalam membedakan *T.asahii* dari genus jamur ragi lain. Ichikawa *et al.* (2017)

menyatakan bahwa keberadaan artrokonidia dan blastospora secara bersamaan merupakan indikator morfologis utama *T.asahii*. Hal ini diperkuat oleh J. dan E. (2024) yang menekankan bahwa *T.asahii* dapat dibedakan dari jamur ragi lain melalui struktur artrokonidia dan hifa sejatinya yang terlihat jelas pada pewarnaan LPCB.

Hasil amplifikasi PCR pada isolat nomor 4 menunjukkan pita DNA berukuran ± 600 bp, sesuai dengan ukuran target dari wilayah *Internal Transcribed Spacer* (ITS) yang umum digunakan untuk identifikasi jamur. Daerah ITS1-5.8S-ITS2 merupakan segmen genetik yang sangat konservatif dalam genus jamur namun memiliki variasi antargenus dan antarspesies, sehingga ideal untuk diferensiasi molekuler. Ukuran ± 600 bp yang muncul mengindikasikan keberhasilan amplifikasi dari wilayah ITS milik *T.asahii*, yang dilaporkan konsisten dalam berbagai studi sebagai penanda spesifik. Weber *et al.* (2021) dan Yang *et al.* (2021) mengonfirmasi bahwa pita PCR untuk *T.asahii* berada pada rentang 590–620 bp. Fragmen ini mewakili urutan yang cukup panjang untuk dilakukan analisis BLAST dan sekruensing dengan akurasi tinggi, sekaligus menghindari nonspecific binding pada PCR. Oleh karena itu, deteksi pita 600 bp menjadi indikator molekuler utama bahwa isolat yang diuji adalah *T.asahii*.

Sekruensing produk PCR pada isolat nomor 4 menghasilkan kemiripan sebesar 99% terhadap sekuen *T.asahii* dalam database GenBank. Analisis dilakukan menggunakan perangkat lunak MEGA 11 (*Molecular Evolutionary Genetics Analysis*) untuk menyusun pohon filogenetik berdasarkan metode *Neighbor-Joining*. Pohon filogenetik memperlihatkan bahwa isolat nomor 4 berkelompok pada satu klaster yang sama dengan strain referensi *T.asahii*, yang

mengindikasikan hubungan filogenetik dekat dan memperkuat validitas identifikasi spesies. GenBank digunakan sebagai sumber data pembanding, di mana pencocokan sekuens dilakukan melalui BLAST. Validasi 99% menunjukkan bahwa isolat sangat homolog dengan *T.asahii* dan mengonfirmasi identifikasi sebelumnya melalui morfologi dan PCR. Iturrieta-González *et al.* (2014) menjelaskan bahwa kombinasi ITS sequencing, BLAST GenBank, dan pohon filogenetik berbasis MEGA memberikan akurasi tinggi dalam identifikasi jamur klinis. Hal ini juga didukung oleh Liu *et al.* (2025) yang menegaskan pentingnya metode filogenetik berbasis ITS untuk klasifikasi *Trichosporon* hingga tingkat spesies