

**IDENTIFIKASI JAMUR *Aspergillus flavus* PADA ULKUS DIABETIKUM
PENDERITA DIABETES MELITUS DENGAN METODE
POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)**

Identification of The Aspergillus flavus Fungus in Diabetic Ulcers of Diabetes Mellitus Sufferers Using the Polymerase Chain Reaction (PCR) Method

Mardiati Suardi¹, Mursalim¹, Syahida Djasang¹, Artati¹

Jurusan Analis Kesehatann Program Studi Teknologi Laboratorium Medis
Poltekkes kemenkes Makassar¹

*Email: mardiatatiek8@gmail.com dan Nomor Telepon : 085331248185

ABSTRACT

Diabetic ulcers are a complication that often occurs in diabetes mellitus sufferers as a result of impaired tissue perfusion and infection with microorganisms, one of which is infection caused by fungi. Poor treatment of diabetic ulcers can cause tissue death. This study aims to identify the fungus Aspergillus flavus in diabetic ulcers of diabetes mellitus patients using the Polymerase Chain Reaction (PCR) method. The sampling technique in this study was Consecutive sampling, where all subjects who came and met the selected criteria were included in the study until the number of subjects was met. The results showed that of the 15 samples examined, 1 sample (6.67%) was found to be positively infected with the fungus Aspergillus flavus. Based on the results above, the researcher suggests that future researchers need to identify the fungi Aspergillus niger and Aspergillus fumigatus in diabetic ulcers and increase the number of samples studied.

Keywords: *Diabetic Ulcer, Diabetes mellitus, Aspergillus flavus, PCR, Polymerase Chain Reaction*

ABSTRAK

Ulkus Diabetikum merupakan komplikasi yang sering terjadi pada penderita diabetes melitus sebagai akibat dari adanya gangguan perfusi pada jaringan serta infeksi mikroorganisme, salah satunya adalah infeksi yang disebabkan oleh jamur. Penanganan yang kurang baik pada ulkus diabetikum dapat menyebabkan kematian jaringan. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi jamur *Aspergillus flavus* pada ulkus diabetikum penderita diabetes melitus dengan metode Polymerase Chain Reaction (PCR). Teknik pengambilan sampel pada penelitian ini adalah *Consecutive sampling*, dimana semua subyek yang datang dan memenuhi kriteria pemilihan dimasukkan dalam penelitian sampai jumlah subyek yang diperlukan terpenuhi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 15 sampel yang diperiksa, ditemukan 1 sampel (6,67%) positif terinfeksi jamur *Aspergillus flavus*. Berdasarkan hasil diatas peneliti menyarankan untuk peneliti selanjutnya perlu dilakukan identifikasi jamur *Aspergillus niger* dan *Aspergillus fumigatus* pada ulkus diabetikum serta penambahan jumlah sampel yang diteliti.

Kata Kunci: *Ulkus Diabetikum, Diabetes melitus, Aspergillus flavus, PCR, Polymerase Chain Reaction*

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) adalah kumpulan gejala yang disebabkan oleh peningkatan kadar gula darah. Gangguan metabolisme glukosa yang disebabkan oleh kekurangan insulin absolut dan relatif merupakan faktor lain yang berkontribusi terhadap penyakit ini. Diabetes tipe I, juga dikenal sebagai diabetes remaja, sering kali muncul pada masa kanak-kanak, sedangkan diabetes tipe II biasanya muncul pada usia dewasa. (Kemenkes RI., 2019)

Diabetes adalah salah satu dari banyak penyakit yang membahayakan banyak nyawa orang. Menurut American Diabetes Association (ADA), prevalensi pada tahun 2019 adalah 37,3 juta orang Amerika (11,3%), dengan sekitar 1,9 juta orang Amerika hidup dengan diabetes tipe 1, termasuk sekitar 244,000 termasuk anak-anak dan remaja. Dari 37,3 juta orang dewasa penderita diabetes, 28,7 juta terdiagnosis diabetes dan 8,5 juta tidak terdiagnosis (ADA., 2020).

Di Indonesia, prevalensi diabetes mengalami peningkatan dari 5,7% pada 2007 menjadi 6,9% atau sekitar 9,1 juta jiwa pada tahun 2013. Data terbaru dari International Diabetes Federation (IDF) Atlas tahun 2022 menunjukkan bahwa Indonesia menduduki peringkat ke-6 dunia dengan jumlah diabetes sebanyak 10,3 juta jiwa. Jika tidak ditangani dengan baik, World Health Organization (WHO) bahkan mengestimasi angka kejadian diabetes di Indonesia akan melonjak drastis menjadi 21,3 juta jiwa pada 2030 (IDF, 2022).

Berdasarkan data Dinas Kesehatan Provinsi Sulawesi Selatan pada tahun 2019 hingga 2022, jumlah kasus diabetes di Kota Makassar akan meningkat, dengan jumlah penderita yang dilaporkan pada tahun 2021 sebanyak 4.530 orang dan pada tahun 2022 dilaporkan jumlah penderita bertambah 11.619 orang (Dinas Kesehatan Provinsi, 2023).

Ulkus diabetikum merupakan komplikasi kronik yang diakibatkan oleh penyakit diabetes melitus (Zhang dkk., 2019).

Berdasarkan Internasioanl Diabetes Federation (IDF), sekitar 40 juta sampai 60 juta orang dengan DM menderita ulkus diabetikum secara global yang menyebabkan peningkatan morbiditas dan mortalitas (IDF,2022). Di Afrika, penderita luka kaki diabetik sekitar 7,2% dan di Ethiopia perkiraan telah bervariasi dari 11,6% hingga 31,1% (Negash et al., 2022). Di Belgia juga memiliki prevalensi yang sangat tinggi yaitu 14,8%, diikuti oleh Amerika Serikat kemudian Kanada sebanyak 13,0% (Ibrahim, 2018). Faktor resiko ulkus diabetikum sekitar 55.4% sedangkan Indonesia bagian Timur mencapai angka 12% (Yusuf et al., 2016). Beberapa jenis jamur yang biasa didapatkan pada ulkus diabetes diantaranya termasuk spesies *Candida*, *Penicillium*, *Acremonium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichophyton* sp, *Trichosporon*, *Dermatopita* dll (Saskia dkk., 2020)

Penelitian tentang uji diagnostik jamur Dermatofita pada luka kaki penderita diabetes mellitus juga dilakukan oleh (Miladiarsi dkk., 2023) membuktikan bahwa keberadaan jamur Dermatofita juga terdeteksi pada ulkus diabetikum, jamur ini merupakan penyebab terjadinya dermatofitosis.

Dermatofitosis merupakan golongan jamur yang juga gemar menginfeksi jaringan yang mengandung zat tanduk (keratin), misalnya stratum korneum pada epidermis, rambut dan kuku, yang disebabkan Dermatofit.

Dermatofitosis sering disebut tinea, ringworm, kurap atau Herpes sirsinata. Dermatofita merupakan kelompok taksonomi jamur kulit superfisial yang terdiri dari 3 genus, yaitu *Microsporum*, *Trichophyton* dan *Epidermophyton*.

Penatalaksanaan yang kurang baik dapat menyebabkan kondisi klinis luka kaki diabetik yang sangat parah dan akhirnya dilakukan amputasi pada tungkai bawah. Infeksi pada ulkus diabetikum paling banyak disebutkan pada kepustakaan disebabkan karena bakteri dan hanya sebagian kecil menyebutkan adanya

keterlibatan infeksi jamur.

Diagnosis keberadaan jamur *Aspergillus flavus* pada penderita ulkus diabetikum dapat membantu dalam proses penanganan dan pengobatan yang lebih spesifik dalam menghambat pertumbuhan dan penyebaran jamur tersebut. Diagnosis jamur *Aspergillus flavus* dalam penelitian ini dilakukan dengan metode PCR (polymerase Chain Reaction) karena memiliki sensitifitas yang tinggi dalam mendeteksi jamur sehingga memungkinkan hasil yang lebih spesifik. Selain itu pada PCR ini kita mendapatkan hasil yang lebih cepat dan akurat.

METODE

Desain, Tempat dan Waktu

Penelitian ini bersifat deskriptif yaitu memberikan gambaran tentang jamur *Aspergillus flavus* dengan variabel yang diperiksa dan diamati yaitu ulkus diabetikum dengan menggunakan metode Polimerase Chain Reaction (PCR). Pengambilan sampel dilakukan di RSUP Tajuddin Chalid Kota Makassar dan Klinik Perawatan Luka ETN Centre Kota Makassar dan pemeriksaan dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Hasanuddin University Medical Research Center (HUMRC) Rumah Sakit Perguruan Tinggi Negeri Universitas Hasanuddin (RSPTN-UH) pada tanggal 18 Maret s/d 03 Mei tahun 2024

Sampel, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel

Sampel pada penelitian yaitu pasien diabetes melitus dengan ulkus diabetikum yang menjalani perawatan di rumah sakit dan klinik perawatan luka Sebanyak 15 sampel.

Teknik pengambilan sampel adalah Consecutive sampling, dimana semua subyek yang datang dan memenuhi kriteria pemilihan dimasukkan dalam penelitian sampai jumlah subyek yang diperlukan terpenuhi.

Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian

ini adalah Mesin PCR (Biorad), Gel DOC, Mesin Elektroforesis, Sentrifuge, Waterbath, Laminar Flow, BSC Tipe II, Mikro pipet (1000 ul, 100ul, 20ul, 10ul), Cetakan Agarosa, Tips (1000 ul, 100 ul, 20 ul, 10 ul), Tabung ependorf, Tabung PCR, Erlenmeyer, Gelas Ukur.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel swab ulkus diabetikum, Primer genus *Aspergillus* sp (ASAP1: 5-CAGCGAGTACATCACCTTGG-3 dan ASAP2: 5-CCATTGTTGAAAGTTTTAACTGATT-3), Primer *Aspergillus flavus* (ASPU : 5-ACTACCGATTGAATGGCTCG-3 dan Fl2r : 5-TTCACTAGATCAGACAGAGT-3, Enzim PCR (Go Taq Green), RNase Free water, Agarosa, Ethidium Bromida, TBE 0,5 Loading Dye, DNA Ladder / Marker (100 bp).

Prosedur Kerja

1. Pengambilan Sampel

Cara pengambilan sampel dilakukan dengan cara apusan. Awalnya, memberi penjelasan kepada pasien mengenai tindakan apa yang akan dilakukan. Kemudian membersihkan luka dengan kain kasa yang telah dibasahi dengan NaCl fisiologis sebanyak 3 kali untuk menghilangkan kotoran dan lapisan eksudat yang mengering. Lalu membuka cotton swab dari pembungkus, usapkan bagian kapasnya pada ulkus tanpa menyentuh bagian tepi ulkus. Setelah itu, memasukkan cotton swab tersebut kedalam tabung. Selanjutnya menutup tabung dengan erat dan memberi kode sampel lalu memasukkan tabung ke dalam cool box yang berisi ice pack kemudian membawa ke laboratorium untuk dilakukan pemeriksaan.

2. Ekstraksi DNA

Tempatkan ujung swab dalam tabung mikrosentrifus 1,5 ml dan keluarkan dengan cara dipotong atau dikeluarkan. Tambahkan 500 µl S1 Buffer dan 20 µl Proteinase K (pastikan ddH₂O telah ditambahkan) kemudian campur dengan vortex selama 10 detik. Inkubasi pada suhu 60°C selama 10

menit. Tempatkan Kolom Filter dalam collection tube 2 ml. Dengan menggunakan pinset, pindahkan swab ke Kolom Filter dan sisihkan tabung mikrosentrifugasi 1,5 ml. Sentrifus dengan kecepatan 14-16.000 x g selama 2 menit untuk mengumpulkan sampel yang tersisa dari usapan. Buang Kolom Filter dan swab, lalu pindahkan aliran (hingga 200 µl) dalam collection tube 2 ml ke tabung mikrosentrifus 1,5 ml yang berisi campuran sampel.

Tambahkan 500 µl S2 Buffer (pastikan sudah ditambahkan larutan Carrier RNA) lalu segera divortex. Inkubasi pada suhu 60°C selama 10 menit. Vortex sebentar setiap 5 menit.

Tambahkan 500 µl etanol absolut ke dalam sampel lisat lalu segera campur dengan cara dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Jika muncul endapan, pecahkan sebanyak mungkin dengan pipet. Tempatkan kolom GD dalam tabung pengumpul 2 ml. Pindahkan 750 µl campuran (termasuk endapan yang tidak larut) ke kolom GD. Centrifuge pada 14-16.000 x g selama 1 menit lalu buang alirannya. Pindahkan sisa campuran lisat ke kolom GD. Centrifuge pada 14-16.000 x g selama 1 menit. Setelah sentrifugasi, jika campuran tidak mengalir melalui membran Kolom GD, tambah waktu sentrifugasi hingga campuran lolos seluruhnya. Buang tabung pengumpul 2 ml yang berisi flow-through lalu pindahkan kolom GD ke tabung pengumpul 2 ml yang baru.

Tambahkan 400 µl Buffer w1 ke kolom GD. Sentrifus pada 14-16.000 xg selama 30 detik kemudian buang alirannya. tempatkan kembali kolom GD ke dalam tabung pengumpul 2 ml. Tambahkan 600 µl wash buffer ke dalam kolom GD. Sentrifus pada 14-16.000 x g selama 30 detik kemudian buang alirannya. Tempatkan kembali GD Column ke dalam tabung koleksi 2 ml. sentrifugasi lagi selama 3 menit pada 14-16.000 x g untuk mengeringkan matriks column.

Setelah didiamkan selama 3 menit, pindahkan kolom GD yang telah dikeringkan ke dalam tabung

mikrosentrifus 1,5 ml yang bersih. Tambahkan 100 µl buffer elution yang telah inkubasi sebelumnya, buffer TE atau air ke dalam matriks kolom. Diamkan untuk buffer elusi. TE buffer atau air agar terserap seluruhnya. Sentrifus pada 14-16.000 x g selama 1 menit untuk mengelusi DNA yang telah dimurnikan.

Cairan yang terdapat pada tabung ependorf merupakan DNA produk yang siap untuk di PCR.

Kedalam tabung PCR dimasukkan reagen yaitu Go Taq Master Mix 12,5 µl, primer forward 10 µM 0,5 µl, primer reverse 10 µM 0,5 µl, nuclease free water 6,5 µl, DNA sampel 5,0 µl, sehingga total 25 µl, Kemudian di vortex.

Pada tahap running PCR terdapat 3 cycle dimana pada cycle 1 sebanyak 1x Suhu 95 °C selama 5 Menit (Pre-Denaturasi). Selanjutnya cycle 2 sebanyak 35X siklus dimana pada cycle 2 ini terdapat step-step dimana step 1 Suhu 95°C selama 30 detik (Proses Denaturasi), step 2 Suhu 57°C selama 30 detik (Proses Aneling), step 3 suhu 72°C selama 2 Menit (Proses extension). Terakhir yaitu cycle 3 sebanyak 1x suhu 72°C selama 10 menit (Final extension).

Untuk membuat larutan agarose 2 %, 2 gram agarose ditimbang dan dilarutkan dalam 100 mililiter buffer TBE 0,5x. Campuran agarose dan buffer TBE 0,5x dipanaskan hingga larut, kemudian ditunggu hingga agak dingin. Selanjutnya, 5 mililiter ethidium bromida ditambahkan ke dalam cetakan dan ditunggu hingga beku.

Sebanyak 25 µl DNA 100 bp ladder dimasukkan kedalam tube berisi 1 ml blue juice loading dye, dan dicampur untuk marker. Laber tube dicopot dan diganti menjadi marker.

Gel yang telah beku dimasukkan kedalam elektroforesis dan direndam dalam larutan TBE 0,5x. Sebanyak 8 µl amplicon hasil PCR (kontrol positif, kontrol negatif, sampel) ditambah dengan 2µl blue juice loading dye (tanpa marker), dicampur dan dimasukkan kedalam sumur-sumur gel

sebanyak 10 µl. Pada lubang pertama tambahkan 10 µl DNA leader 100 bp dimasukkan kedalam sumur di dekat control positif.

Elektroforesis dihidupkan dan dijalankan dari muatan negative (katode) kemuatan positif (anode) pada 100 A dan 60 menit. Setelah elektroforesis dilihat pita yang terbentuk. Apabila pita sejajar dengan control positif berarti hasil positif.

Untuk mengaktifkan gel doc, tekan tombol ON pada bagian belakang sebelah kiri perangkat lunak. Setelah itu, menyalakan komputer dan buka software jumlah satu dengan menekan dua kali pada ikon jumlah satu. Di menu file, pilih gel doc XR.

Setelah membuka pintu doc gel, tekan tombol epi white (ON) jika diperlukan atau optional. Letakkan gel di bagian tengah alat dan tutup pintu. Jika diperlukan, atur iris, zoom, dan fokus dengan melihat layar monitor di software quantity one. Setelah itu, buka kembali pintu alat dan atur kembali posisi gel jika diperlukan.

Setelah pengaturan gel selesai, tekan tombol Trans UV(ON). Pada kondisi ini lampu UV akan mati secara otomatis apabila pintu dibuka kecuali tombol hold ditekan. Selanjutnya pilih auto expose apabila ingin mengambil gambar secara otomatis atau pilih manual expose apabila ingin mengambil gambar manual dengan menaikkan atau menurunkan waktu exposure (Exposure Time), kemudian apabila gambar yang diinginkan sudah terlihat dengan baik dan jelas, klik freeze. Selanjutnya untuk memberikan tulisan pada gambar, pilih Annotate.

Setelah selesai di edit, kemudian gambar dapat di save dan kemudian klik print untuk mendapatkan hasil dalam bentuk foto gel.

Pengolahan Dan Analisis Data

Hasil deteksi PCR dengan elektroforesis dianalisis berdasarkan ada tidaknya potongan pada pita DNA (band DNA) yang terbentuk dan data disajikan secara deskriptif dengan menggunakan tabel dan gambar.

HASIL PENELITIAN

Berdasarkan tabel 4.1, dari 15 pasien, 9 pasien berjenis kelamin laki-laki dan 6 pasien berjenis kelamin perempuan, 8 pasien rawat inap dan 7 orang rawat jalan, untuk penentuan derajat luka dilakukan dengan metode wagner yaitu 10 pasien dengan luka derajat III dan 5 pasien dengan luka derajat IV.

Tabel 4.2 menunjukkan bahwa dari 15 pasien yang diperiksa 2 (13,4%) pasien berumur kurang dari 50 tahun, 5 (33,3%) pasien berumur 50 s/d 60 tahun dan 8 (53,3%) pasien berumur lebih dari 60 tahun.

Tabel 4.3 menunjukkan bahwa dari 15 pasien yang diperiksa, 9 (60%) diantaranya berjenis kelamin laki-laki dan 6 (40%) berjenis kelamin Perempuan.

Tabel 4.4 menunjukkan bahwa dari 15 pasien yang diperiksa 10 (66,7%) pasien dengan luka derajat III dan 5 (33,3%) pasien dengan derajat luka IV.

Tabel 4.5 menunjukkan hasil PCR identifikasi jamur *Aspergillus* sp yaitu 4 (26,7%) pasien positif dan 11 (73,3) pasien Negatif.

Tabel 4.6 menunjukkan hasil PCR identifikasi jamur *Aspergillus flavus* yaitu 1 (7%) pasien positif dan 14 (93%) pasien Negatif.

PEMBAHASAN

Diabetes melitus merupakan suatu kelainan metabolisme kronis dengan berbagai penyebab yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa darah dan gangguan metabolisme karbohidrat, lipid, dan protein akibat fungsi insulin yang tidak mencukupi. Diabetes melitus adalah sekelompok kondisi metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia yang disebabkan oleh kerja insulin, sekresi insulin, atau keduanya. DM juga merupakan suatu penyakit kronis yang ditandai dengan kadar gula darah yang melampaui batas normal (hiperglikemia) dalam jangka waktu yang lama. Suatu kondisi yang disebut hiperglikemia terjadi ketika kadar glukosa darah sewaktu kurang

dari 200 mg/hari dan kadar glukosa darah puasa kurang dari 126 mg/dl (Sulastri, 2022).

Ulkus diabetik merupakan komplikasi kronik yang diakibatkan oleh penyakit diabetes melitus (Zhang dkk., 2019). Penatalaksanaan yang kurang baik dapat menyebabkan kondisi klinis luka kaki diabetik yang sangat parah dan akhirnya dilakukan amputasi pada tungkai bawah (Saskia dkk., 2020).

Beberapa jenis jamur yang biasa didapatkan pada ulkus diabetes diantaranya termasuk spesies *Candida*, *Penicillium*, *Acremonium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichophyton* sp, *Trichosporon*, *Dermatopita* dll (Saskia dkk., 2020).

Diagnosis keberadaan jamur *Aspergillus flavus* pada penderita ulkus diabetikum dapat membantu dalam proses penanganan dan pengobatan yang lebih spesifik dalam menghambat pertumbuhan dan penyebaran jamur tersebut. Diagnosis jamur *Aspergillus flavus* dalam penelitian ini dilakukan dengan metode PCR (Polymerase Chain Reaction).

Berdasarkan hasil penelitian pada table 4.3 menunjukkan bahwa jumlah penderita ulkus diabetikum pada laki-laki lebih banyak yaitu 9 dari 15 orang (60 %) sedangkan pada perempuan sebanyak 6 dari 15 orang (40%). Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Arlina dkk, bahwa subjek penelitian paling banyak berjenis kelamin laki-laki dibandingkan dengan Perempuan (Arlina dkk, 2019).

Pada tabel 4.2, persentase terbesar pasien ulkus diabetikum adalah pasien yang berusia ≥ 60 tahun yaitu sebanyak 8 dari 15 orang (53,3%), kemudian kelompok usia 50-59 tahun sebanyak 5 dari 15 orang (33,3%) dan yang terakhir kelompok usia kurang dari 50 tahun sebanyak 2 dari 15 orang (13,4%). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Waspadji, dkk yang menyatakan bahwa meningkatnya umur menyebabkan peningkatan intoleransi terhadap glukosa (Purnomo, 2020). Pada lansia terjadi penurunan

degeneratif yaitu dikarenakan kepekaan saraf perifer dan kelenturan jaringan menurun sehingga akan memacu timbulnya ulkus diabetik. Selain itu resiko peningkatan kadar glukosa darah juga meningkat akibat menurunnya fungsi fisiologis tubuh, termasuk kerja pankreas dalam memproduksi insulin (Purnomo, 2020).

Pada tabel 4.4, penderita ulkus diabetikum pada derajat III yaitu sebanyak 10 dari 15 orang (66,7%). Penderita ulkus diabetikum lainnya sebanyak 55 dari 15 orang (33,3%) berada pada derajat IV. Berdasarkan hasil penelitian, penderita ulkus diabetikum lebih banyak mengalami luka ulkus diabetikum derajat III, dimana luka sudah sampai ke tulang. Penelitian ini sejalan dengan penelitian Decroli dkk., (2018) yang mengungkapkan sebanyak 5% mengalami ulkus derajat III, dimana infeksi telah mengenai jaringan subkutis, otot dan lebih dalam sampai ke tulang dengan tanda-tanda infeksi lokal yang jelas.

Penelitian ini dilakukan dengan mengidentifikasi jamur *Aspergillus flavus* pada ulkus diabetikum penderita diabetes mellitus dengan metode PCR (*polymerase Chain Reaction*) yang melakukan rawat jalan dan rawat inap di rumah sakit dan klinik perawatan luka. Sampel diambil pada pasien yang sedang menjalani pembersihan luka dengan menggunakan cotton swab steril yang diusapkan di dasar luka kemudian di simpan pada tabung steril dan disimpan pada coolbox yang berisi ice pack gel sebelum dikirim ke laboratorium.

Pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Universitas Hasanuddin dengan metode PCR (*polymerase Chain Reaction*) yang melalui beberapa tahap yaitu : ekstraksi DNA, mix PCR, running PCR, elektroforesis, pembacaan pita DNA pada gel doc.

Berdasarkan Gambar 4.1, hasil dari elektroforesis pada proses PCR dibawah sinar UV (Ultraviolet) menunjukkan adanya pita DNA pada kode sampel (M1, M13, M14, M15) massa molekul DNA

yang terlihat adalah 500-600 bp, sesuai pernyataan (CHISE et al., 2020) menyatakan bahwa sasaran amplikon *Aspergillus* sp sebesar 521 bp. Terbentuknya Pita DNA berdasarkan hasil PCR dengan menggunakan pasangan primer ITS1 dan ITS2 dapat dipastikan bahwa specimen tersebut terinfeksi jamur *Aspergillus* sp.

Mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh (CHISE et al., 2020), pemeriksaan ini menggunakan primer ITS1 (forward: ASAP1:5-CAGCGAGTACATCACCTTGG-3 dan ITS2 (ASAP2:5-CCATTGTTGAAAGTTTAACTGATT-3 pada specimen menunjukkan pita DNA menunjukkan positif adanya jamur *Aspergillus* sp. Penggunaan primer Internal Transcribed Spacer (ITS) merupakan bagian dari nuclear ribosomal gene cluster yang digunakan sebagai penanda DNA spesies pada kingdom cendawan Dermatophyte specific sequence (Endrawati et al., 2021)

Sampel yang positif *Aspergillus* sp, dilakukan pemeriksaan PCR untuk mengetahui *Aspergillus flavus* seperti yang terlihat pada tabel 4.1, setelah dilakukan pemeriksaan, hasil dari elektroforesis pada proses PCR menunjukkan adanya pita DNA pada kode sampel M1 massa molekul DNA yang terlihat adalah 500-600 bp, sesuai pernyataan (CHISE et al., 2020) menyatakan bahwa sasaran amplikon *Aspergillus flavus* sebesar 504 bp. Terbentuknya Pita DNA berdasarkan hasil PCR dengan menggunakan pasangan primer ITS1 (ASPU:5-ACTACCGATTGAATGGCTCG-3 dan ITS2 (Fl2r:5-TTCACTAGATCAGACAGAGT-3) dapat dipastikan bahwa specimen tersebut terinfeksi jamur *Aspergillus flavus* sedangkan pada sampel dengan kode M13, M14, M15 tidak terlihat adanya pita DNA. Hasil penelitian ini berhubungan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh (Lufhiani et al., 2019) yang menjelaskan adanya infeksi jamur *Aspergillus* sp pada

ulkus diabetikum penderita diabetes melitus.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Universitas Hasanuddin Makassar pada 15 sampel ulkus diabetikum penderita diabetes melitus dengan metode *polymerase chain reaction* (PCR) didapatkan hasil positif jamur *Aspergillus flavus* sebanyak 1 (7%) dan 14 (93%) Negatif jamur *Aspergillus flavus*.

SARAN

Setelah melakukan penelitian ini, peneliti dapat menyarankan :

1. Penderita ulkus diabetikum memperhatikan penanganan lukanya agar tidak terjadi infeksi yang lebih parah.
2. Untuk peneliti selanjutnya, perlu dilakukan identifikasi jamur *Aspergillus niger* dan *Aspergillus fumigatus* pada ulkus diabetikum serta penembahan jumlah sampel yang diteliti.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada para dosen pembimbing, dosen penguji serta dosen dan Staff Jurusan Teknologi Laboratorium Medik Poltekkes Kemenkes Makassar atas didikan, ilmu serta bantuan yang diberikan kepada penulis sehingga penulis bisa memperoleh pengetahuan dan gelar yang membanggakan. Serta rekan-rekan seperjuangan Alih Jenjang Angkatan 2022 terimakasih atas kebersamaan, kerjasama, semangat positif selama 2 tahun ini demi meraih gelar S.Tr.Kes.

DAFTAR PUSTAKA

- Azhari, G. A., Sari, R., & Pratiwi, A. (2019). Uji Karakteristik Makroskopik Jamur DDermatopita Yang Terdapat Pada Ulkus Diabetikum Derajat III Dan IV Wagner. *Universitas Tanjungpura Pontianak*.
CHISE, S., KOICHI, M., & KATSUHISA,

- U. (2020). *Sistem identifikasi PCR untuk genus tiga Aspergillus Dan spesies patogen utama*: 433–437. <https://doi.org/10.1080/13693780310001656786>
- Decrili, E. (2019). *Diabetes Mellitus Tipe II*. Konsultan Endokrin Metabolik Diabetes Sub Bagian Endokrin Metabolik, Bagian Ilmu Penyakit Dalam FK Unand/ RS. Dr. M. Djamil Padang Diterbitkan Pertama Kali Oleh : Pusat Penerbitan Bagian Ilmu Penyakit Dalam.
- Deepachandi, B., Weerasinghe, S., Soysa, P., Karunaweera, N., & Siriwardana, Y. (2019). A highly sensitive modified nested PCR to enhance case detection in leishmaniasis. *BMC Infectious Diseases*, 19(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4180-3>
- Haryati, D. L., Sari, R., & Apridamayanti, P. (2018). Isolasi dan Identifikasi Jamur *Penicillium* sp, yang Berasal Dari Swab Pasien Ulkus Diabetikum. *Universitas Tanjungpura Pontianak*.
- Ibrahim, M. A. (2018). Diabetic Foot Ulcer: Synopsis of the Epidemiology and Pathophysiology. *International Journal of Diabetes and Endocrinology*, 3(2), 23. <https://doi.org/10.11648/j.ijde.20180302.11>
- IDF. (2022). *IDF Diabetes Atlas, 9th*.
- Kalma, Herman, Naim, N., & Bakhri, S. (n.d.). *Panduan Penulisan Skripsi*. Politeknik Kesehatan Makassar Jurusan Analis Kesehatan
- Kemenkes RI. (2019). Buku Pintar Kader Posbindu. *Buku Pintar Kader Posbindu*, 1–65. http://p2ptm.kemkes.go.id/uploads/VHcrbkVobjRzUDN3UCs4eUJ0dVBndz09/2019/03/Buku_Pintar_Kader_POSBINDU.pdf
- Lufhiani, D., Sari, R., & Pratiwi, A. (2019). Identifikasi Makroskopik Jamur Yang Terdapat Pada Ulkus Diabetikum Derajat III Dan IV Wagner. *Universitas Tanjungpura Pontianak*.
- Marwati, E. (2020a). *Pemeriksaan Penunjang Untuk Infeksi Jamur Rongga Mulut dan Penatalaksanaannya*.
- Marwati, E. (2020). *Pemeriksaan Penunjang Untuk Infeksi Jamur Rongga Mulut Dan Penatalaksanaannya*. *Universitas Trisakti*.
- Miladiarsi, Rahman, W. I., Santi, & Nurfadila. (2023). Uji Diagnostik Jamur Dermatofita Pada Luka Kaki Penderita Diabetes Melitus dengan Metode PCR (Polymerase Chain Reaction). *Universitas Megarezky, Indonesia*, 1827, 112–122.
- Negash, W., Assefa, T., Sahiledengle, B., Tahir, A., Regassa, Z., Feleke, Z., Regasa, T., Tekalegn, Y., Mamo, A., Teferu, Z., Solomon, D., Gezahegn, H., Bekele, K., Zenbaba, D., Tasew, A., Desta, F., Atlaw, D., & Wilfong, T. (2022). Prevalences of diabetic foot ulcer and foot self-care practice, and associated factors in adult patients with diabetes in south-east Ethiopia. *The Journal of International Medical Research*, 50(10). <https://doi.org/10.1177/03000605221129028>
- Nelwan, J. E. (2022). *Epidemiologi Penyakit Tidak Menular Penerbit Cv.Eureka Media Aksara*.
- Sarvestani, H. K., Ahmadi, B., Shoar, M. G., & Getso, M. (2022). *Mycetoma karena Aspergillus flavus pada pasien diabetes : Laporan kasus dan tinjauan literatur*. 29, 1–6.
- Saskia, T., Mutiara, H., & Lampung, U. (2020). *Infeksi Jamur pada Penderita Diabetes Mellitus Fungal Infections in Diabetes Mellitus*. 4(November), 69–74.
- Setiorini, H., Pahria, T., & Sutini, T. (2018). *Gambaran Harga Diri Pasien Diabetes Mellitus Yang Mengalami Ulkus Di Rumah Perawatan Luka Bandung. Fakultas Keperawatan Universitas Padjadjaran*.
- Sulastri. (2022). *Buku Pintar Perawatan*

- Diabetes Mellitus* (1st ed.). <http://repository.akperyaspen.ac.id/id/eprint/60>
- Suryani, Y., & Cahyanto, T. (2022). *Pengantar Jamur Makroskopik*.
- Suryani, Y., Taupikurrahman, O., & Kulsum, Y. (2020). *Mikologi*.
- Tahir, Y. M., & Hapid, E. A. H. (2020). Hubungan Derajat Ulkus Diabetik Dengan Perubahan Citra Tubuh Pasien Diabetes Mellitus Di Rumah Perawatan ETN Centre Makassar. *Journal of Physics A: Mathematical and Theoretical*, 44(8). <https://doi.org/10.1088/1751-8113/44/8/085201>
- Yulyastuti, D. A., Maretnawati, E., & Amiruddin, F. (2021). Pencegahan dan Perawatan Ulkus Diabetikum. In *Angewandte Chemie International Edition*, 6(11), 951–952. (1st ed.).
- Yusuf, S., Okuwa, M., Irwan, M., Rassa, S., Laitung, B., Thalib, A., Kasim, S., Sanada, H., Nakatani, T., & Sugama, J. (2016). Prevalence and Risk Factor of Diabetic Foot Ulcers in a Regional Hospital, Eastern Indonesia. *Open Journal of Nursing*, 06(01), 1–10. <https://doi.org/10.4236/ojn.2016.61001>
- Zhang, P., Lu, J., Jing, Y., Tang, S., Zhu, D., & Bi, Y. (2019). Global epidemiology of diabetic foot ulceration: a systematic review and meta-analysis†. *Annals of Medicine*, 49(2), 106–116. <https://doi.org/10.1080/07853890.2016.1231932>

Tabel 4.1 Hasil identifikasi jamur *Aspergillus flavus* pada ulkus diabetikum di HUMRC

Kode Sampel	Umur (tahun)	Jenis Kelamin	Derajat Luka	Hasil Pemeriksaan	
				<i>Aspergillus Sp</i>	<i>Aspergillus Flavus</i>
M1	53	Laki-laki	Derajat IV	Positif	Positif
M2	59	Laki-laki	Derajat III	Negatif	Negatif
M3	62	Perempuan	Derajat III	Negatif	Negatif
M4	66	Laki-laki	Derajat IV	Negatif	Negatif
M5	67	Perempuan	Derajat IV	Negatif	Negatif
M6	45	Laki-laki	Derajat III	Negatif	Negatif
M7	61	Perempuan	Derajat III	Negatif	Negatif
M8	55	Perempuan	Derajat III	Negatif	Negatif
M9	49	Laki-laki	Derajat IV	Negatif	Negatif
M10	62	Perempuan	Derajat III	Negatif	Negatif
M11	54	Laki-laki	Derajat III	Negatif	Negatif
M12	65	Perempuan	Derajat III	Negatif	Negatif
M13	72	Perempuan	Derajat IV	Positif	Negatif
M14	68	Laki-laki	Derajat III	Positif	Negatif
M15	56	Laki-laki	Derajat III	Positif	Negatif

(Sumber : Data Primer, 2024)

Tabel 4.2 Distribusi pasien ulkus diabetikum berdasarkan umur

Umur (Tahun)	Frekuensi	Persentase (%)
<50	2	13,4
50 s/d 60	5	33,3
>60	8	53,3
Jumlah	15	100

Tabel 4.3 Distribusi pasien ulkus diabetikum berdasarkan jenis kelamin

Jenis Kelamin	Frekuensi	Persentase (%)
Laki-laki	9	60
Perempuan	6	40
Jumlah	15	100

Tabel 4.4 Distribusi pasien ulkus diabetikum berdasarkan derajat luka

Derajat Luka	Frekuensi	Persentase (%)
Derajat III	10	66,7
Derajat IV	5	33,3
Jumlah	15	100

Tabel 4.5 Distribusi pasien ulkus diabetikum berdasarkan hasil PCR identifikasi *Aspergillus sp*

Hasil Pemeriksaan	Frekuensi	Persentase (%)
Positif	4	26,7
Negatif	11	73,3
Jumlah	15	100

Tabel 4.6 Distribusi pasien ulkus diabetikum berdasarkan hasil PCR identifikasi *Aspergillus flavus*

Hasil Pemeriksaan	Frekuensi	Persentase (%)
Positif	1	7
Negatif	14	93
Jumlah	15	100

