

Turnitin 14

SKRIPSI SYAHRUNI PO.71.4.203.2.32.045.pdf

 Herat University - no repository 3

 Library A

 Herat University

Document Details

Submission ID**trn:oid::1:3295696300****Submission Date****Jul 14, 2025, 7:32 PM GMT+4:30****Download Date****Jul 14, 2025, 7:46 PM GMT+4:30****File Name****SKRIPSI_SYAHRUNI_PO.71.4.203.2.32.045.pdf****File Size****1.8 MB****132 Pages****18,553 Words****121,379 Characters**

21% Overall Similarity

The combined total of all matches, including overlapping sources, for each database.

Filtered from the Report

- Bibliography
- Quoted Text

Top Sources

- 20%  Internet sources
 - 5%  Publications
 - 10%  Submitted works (Student Papers)
-

Top Sources

- 20% Internet sources
- 5% Publications
- 10% Submitted works (Student Papers)

Top Sources

The sources with the highest number of matches within the submission. Overlapping sources will not be displayed.

1	Student papers	Konsorsium Perguruan Tinggi Swasta Indonesia	2%
2	Student papers	Badan PPSPDM Kesehatan Kementerian Kesehatan	2%
3	Internet	jurnalmedikahutama.com	2%
4	Student papers	Universitas Andalas	<1%
5	Internet	docplayer.info	<1%
6	Internet	www.scribd.com	<1%
7	Internet	repo.stikesicme-jbg.ac.id	<1%
8	Internet	repository.ub.ac.id	<1%
9	Internet	123dok.com	<1%
10	Internet	digilib.unila.ac.id	<1%
11	Internet	etheses.uin-malang.ac.id	<1%

12	Internet	repo.upertis.ac.id	<1%
13	Internet	idoc.pub	<1%
14	Internet	positori.uin-alaudidin.ac.id	<1%
15	Internet	digilib.unhas.ac.id	<1%
16	Internet	id.scribd.com	<1%
17	Student papers	Universiti Teknologi Petronas	<1%
18	Internet	www.researchgate.net	<1%
19	Internet	jurnal.stikeskesdam4dip.ac.id	<1%
20	Internet	jurnal.fkip.unram.ac.id	<1%
21	Internet	repository.uksw.edu	<1%
22	Internet	librepo.stikesnas.ac.id	<1%
23	Internet	core.ac.uk	<1%
24	Internet	repository.unair.ac.id	<1%
25	Internet	repository.unibos.ac.id	<1%

26	Internet	digilib.uinkhas.ac.id	<1%
27	Internet	repository.ar-raniry.ac.id	<1%
28	Internet	www.slideshare.net	<1%
29	Internet	pdfcoffee.com	<1%
30	Internet	repo.stikesperintis.ac.id	<1%
31	Internet	bmcinfectdis.biomedcentral.com	<1%
32	Internet	digilib.unisayogya.ac.id	<1%
33	Internet	repository.poltekkes-denpasar.ac.id	<1%
34	Internet	repository.uhamka.ac.id	<1%
35	Publication	Rahmat Budi Nugroho, D. Andang Arif Wibawa, Muhammad Evy Prasetyanto. "P...	<1%
36	Student papers	Universitas Nahdlatul Ulama Surabaya	<1%
37	Internet	eprints.uns.ac.id	<1%
38	Internet	repo.stikes-isfi.ac.id	<1%
39	Internet	1library.net	<1%

40	Internet	docobook.com	<1%
41	Internet	edoc.site	<1%
42	Internet	lib.ui.ac.id	<1%
43	Internet	repository.unhas.ac.id	<1%
44	Internet	eprints.poltekkesjogja.ac.id	<1%
45	Internet	repository.pip-semarang.ac.id	<1%
46	Internet	repository.uima.ac.id	<1%
47	Internet	repository.usd.ac.id	<1%
48	Student papers	Forum Perpustakaan Perguruan Tinggi Indonesia Jawa Timur	<1%
49	Internet	jurnal.publikasi-untagcirebon.ac.id	<1%
50	Internet	repository.ipb.ac.id	<1%
51	Internet	repository.uinjkt.ac.id	<1%
52	Internet	repository.um-surabaya.ac.id	<1%
53	Student papers	Universitas Islam Indonesia	<1%

54	Internet	ejurnal.setiabudi.ac.id	<1%
55	Internet	repo.poltekkesbandung.ac.id	<1%
56	Student papers	UIN Sunan Ampel Surabaya	<1%
57	Internet	erepository.uwks.ac.id	<1%
58	Internet	repository.umy.ac.id	<1%
59	Student papers	UIN Maulana Malik Ibrahim Malang	<1%
60	Student papers	UIN Sultan Syarif Kasim Riau	<1%
61	Student papers	Walters State Community College	<1%
62	Internet	edoc.pub	<1%
63	Internet	repository.unj.ac.id	<1%
64	Internet	repository.upnvj.ac.id	<1%
65	Student papers	Universitas Negeri Jakarta	<1%
66	Internet	eprintslib.ummgl.ac.id	<1%
67	Internet	id.differencevs.com	<1%

68	Internet	nanopdf.com	<1%
69	Internet	repository.unimus.ac.id	<1%
70	Internet	sulaiman-analis.blogspot.com	<1%
71	Student papers	UIN Syarif Hidayatullah Jakarta	<1%
72	Student papers	Universitas Brawijaya	<1%
73	Internet	hisham.id	<1%
74	Internet	journal.unesa.ac.id	<1%
75	Internet	jurnal.unissula.ac.id	<1%
76	Internet	repository.radenintan.ac.id	<1%
77	Internet	adalah.co.id	<1%
78	Internet	digilib.iain-jember.ac.id	<1%
79	Internet	doi.org	<1%
80	Internet	e-journal.sari-mutiara.ac.id	<1%
81	Internet	rama.unimal.ac.id	<1%

82	Internet	repository.poltekkes-kdi.ac.id	<1%
83	Internet	vdocument.in	<1%
84	Internet	www.wwjournal.ir	<1%
85	Internet	app.trdizin.gov.tr	<1%
86	Internet	digilib.uinsby.ac.id	<1%
87	Internet	ejournal.unsrat.ac.id	<1%
88	Internet	ejournal2.undip.ac.id	<1%
89	Internet	pasca-umi.ac.id	<1%
90	Internet	pt.scribd.com	<1%
91	Internet	simdos.unud.ac.id	<1%
92	Internet	text-id.123dok.com	<1%
93	Internet	vdocuments.net	<1%
94	Internet	vibdoc.com	<1%
95	Publication	Ade Irma, Nurul Fathoana, Ka'bah Ka'bah, Nurul Fathoana. "DETEKSI GEN TEM DA...	<1%

96	Publication	Deng-Wei Chou, Chao-Tai Lee. "Primary lung abscess caused by Staphylococcus lu...	<1%
97	Publication	Orryani Lambui, Magfirahtul Jannah. "Isolasi dan Identifikasi Bakteri Tanah di Hu...	<1%
98	Publication	Rie Shibuya, Yuki Uehara, Tadashi Baba, Kuniko Teruya, Kazuhito Satou, Takashi ...	<1%
99	Student papers	Universitas Pelita Harapan	<1%
100	Internet	anayulia95.tumblr.com	<1%
101	Internet	apikdewefppundip2011.wordpress.com	<1%
102	Internet	eprints.umm.ac.id	<1%
103	Internet	eprints.uny.ac.id	<1%
104	Internet	etheses.iainpekalongan.ac.id	<1%
105	Internet	perbedaan.budisma.net	<1%
106	Internet	perpustakaan.fk.ui.ac.id	<1%
107	Internet	prosidingseminakel.hangtuah.ac.id	<1%
108	Internet	repositorio.utad.pt	<1%
109	Internet	repository.pnj.ac.id	<1%

110	Internet	repository.unusa.ac.id	<1%
111	Internet	www.stuvia.com	<1%
112	Internet	zh.scribd.com	<1%
113	Publication	Abdul Fiddin, Mimi Sutrawati, Hendri Bustamam, Dwi Wahyuni Ganefianti, Sipriya...	<1%
114	Student papers	LL DIKTI IX Turnitin Consortium Part V	<1%
115	Student papers	Southville International School and Colleges	<1%
116	Internet	biotech-spain.com	<1%
117	Internet	digilibadmin.unismuh.ac.id	<1%
118	Internet	ejournal-balitbang.kkp.go.id	<1%
119	Internet	eprints.umsb.ac.id	<1%
120	Internet	issuu.com	<1%
121	Internet	klinikkecantikan.co.id	<1%
122	Internet	rhaizealghifari.blogspot.com	<1%
123	Internet	tanamanhutan.blogspot.com	<1%

124	Internet	we-didview.com	<1%
125	Internet	www.coursehero.com	<1%
126	Internet	www.dosenpendidikan.co.id	<1%
127	Internet	www.e-journal.umc.ac.id	<1%
128	Internet	www.jisikworld.com	<1%
129	Internet	cindradoankymailcom.blogspot.com	<1%
130	Internet	doku.pub	<1%
131	Internet	mydokterhewan.blogspot.com	<1%
132	Publication	Dongyou Liu. "Molecular Detection of Human Viral Pathogens", CRC Press, 2019	<1%
133	Publication	Makkulau Sultan, Stenly Wullur, Reiny A Tumbol. "IDENTIFIKASI KOI HERVES VIRU..."	<1%
134	Publication	Silvi Eka Putri, Kurniawan Sinaga, Alfath Rusdhi. "Uji Cemarkan Bakteri E. coli dan ..."	<1%
135	Internet	eprints.undip.ac.id	<1%
136	Internet	urfianasara.blogspot.com	<1%

SKRIPSI

STUDI HASIL PEMERIKSAAN *Staphylococcus aureus* PADA PASIE PASCA OPERASI METODE KULTUR DAN PCR DI RSUP dr. WAHIDIN SUDIROHUSODO MAKASSAR



SYAHRUNI

**KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MAKASSAR
JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
PROGRAM SARJANA TERAPAN
2025**

SKRIPSI

STUDI HASIL PEMERIKSAAN *Staphylococcus aureus* PADA PASIEN PASCA OPERASI METODE KULTUR DAN PCR DI RSUP dr. WAHIDIN SUDIROHUSODO MAKASSAR

SYAHRUNI

PO.71.4.203.2.32.045

**KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MAKASSAR
JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
PROGRAM SARJANA TERAPAN
2025**

**STUDI HASIL PEMERIKSAAN *Staphylococcus aureus* PADA
PASIENT PASCA OPERASI METODE KULTUR DAN PCR
DI RSUP dr. WAHIDIN SUDIROHUSODO MAKASSAR**

SKIRPSI

Untuk Memperoleh Gelar Teknologi Laboratorium Medis
Sarjana Terapan Kesehatan (S.Tr.Kes)
Dalam Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis
Pada Jurusan Teknologi Laboratorium Medis
Poltekkes Kemenkes Makassar

Oleh

SYAHRUNI
PO.71.4.203.2.32.045

**KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MAKASSAR
JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
PROGRAM SARJANA TERAPAN
2025**

LEMBAR PERSETUJUAN

Persetujuan Ujian Skripsi dengan Judul

**STUDI HASIL PEMERIKSAAN *Staphylococcus aureus* PADA
PASIE PASCA OPERASI METODE KULTUR DAN PCR
DI RSUP dr. WAHIDIN SUDIROHUSODO MAKASSAR**

Telah Disetujui untuk Diseminarkan/Diujikan oleh Tim Penguji pada Hari
Selasa, 17 Juni 2025

Pembimbing I


Mursalim, S.Pd., M.Kes
NIP. 198809161988031001

Pembimbing II


Dr. H. Herman S.Pd., M.Kes
NIP. 196105261983031002

Mengetahui
Ketua Jurusan Teknologi Laboratorium Medis
Politeknik Kesehatan Kemenkes Makassar


Rahman, S.Si., M.Si
NIP. 19641231 198603 1 032

LEMBAR PENGESAHAN

SKRIPSI INI TELAH DIUJI DAN DINILAI OLEH PENGUJI DIJURUSAN
TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS PROGRAM STUDI SARJANA
TERAPA POLTEKKES KEMENKES MAKASSAR
PADA HARI RABU, 19 JUNI 2025

Pembimbing I



Marsalim, S.Pd., M.Kes
NIP. 196809161988031001

Pembimbing II



Dr. H. Herman S.Pd., M.Kes
NIP. 196105261983031002

Penguji



Sitti Hadijah, S.Si., M.Kes
NIP. 197501292007012018

Mengetahui
Ketua Jurusan Teknologi Laboratorium Medis
Politeknik Kesehatan Kemenkes Makassar



Rahman, S.Si., M.Si
NIP. 19641231 198603 1 032

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Syahruni

NIM : PO.71.4.203.2.32.045

Jurusan : Teknologi Laboratorium Medis

Program Studi : Sarjana Terapan

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis benar – benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilan alihan tulisan atau pemikiran orang lain dan semua sumber baik yang diikuti maupun yang dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian maupun seluruh skripsi ini merupakan hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut

Makassar, 19 Juni 2025

Yang Membuat Pernyataan,

Syahruni

KATA PENGANTAR

Sebuah eksistensi kesempurnaan manusia untuk menghaturkan puji dan syukur kehadirat Allah SWT sang pemilik kekuatan dan kekuasaan atas segala Rahmat Hidayah serta petunjuk-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi ini dengan judul “Studi Hasil Pemeriksaan *Staphylococcus aureus* Pada Pasien Pasca Operasi Metode Kultur dan PCR di RSUP dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar” sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan Pendidikan Program Studi Sarjana Terapan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Makassar. Salawat serta salam semoga senantiasa selalu tercurahkan kepada Nabiullah Muhammad SAW serta keluarga dan para sahabat.

Dalam penyusunan Skripsi ini, penulis menyadari bahwa begitu banyak tantangan, hambatan dan kesulitan yang dihadapi baik keterbatasan literatur, materi maupun dari keterbatasan kemampuan berfikir. Oleh karena itu dengan selesainya tugas akhir ini, maka pada kesempatan ini penulis dengan segala kerendahan hati menyampaikan rasa hormat, terima kasih serta kasih sayang yang tak terhingga kepada orang tua tercinta yaitu Ayahanda **Ambo Rappe** dan Ibunda **Syarifah** serta suami tercinta **Awaluddin Zawawi, S.Pd** dan ketiga ananda **Muh Nurhidayat, Muh Izzuddin Al Qassam** dan **Jafar Shadiq** yang telah memberikan dukungan, semangat, serta kekuatan untuk menyelesaikan Skripsi ini dan terima kasih kepada ayahanda dan ibunda yang telah melahirkan dan membesarkanku dengan penuh kasih sayang, semoga

mereka diberi rezeki, kekuatan, dan kesehatan yang berlimpah dari Allah SWT, Amin.

45 Dalam kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan rasa
63 hormat dan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada **Bapak Mursalim, S. Pd., M.Kes** selaku dosen penasehat akademik sekaligus
63 dosen pembimbing I dan Bapak **Dr. H. Herman, S.Pd., M.Kes** sebagai
16 dosen pembimbing II, yang telah dengan penuh kesabaran, ketelitian, dan
14 dedikasi telah memberikan bimbingan, arahan serta masukan yang sangat
57 berharga dalam penyusunan skripsi ini. Penulis juga mengucapkan terima
60 kasih yang mendalam kepada **Ibu Sitti Hadijah, S.Si., M.Kes** selaku
penguji, yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pemikirannya dalam
memberikan kritik serta saran yang membangun demi kesempurnaan
skripsi ini. Semoga ilmu dan dedikasi yang telah diberikan menjadi amal
jariah dan mendapatkan balasan yang berlimpah dari Allah SWT.

78 Dalam penulisan Skripsi ini, tentunya banyak rintangan dan
halangan yang menghadang namun penulis dapat menghadapi dan
menyelesaikan semuanya dengan penuh kesabaran dan keikhlasan.
Oleh sebab itu, ucapan terima kasih yang tak terhingga penulis ucapkan
kepada:

- 40 1. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia dan Pemerintah
Kabupaten Maros yang telah memberikan kesempatan kepada
penulis untuk melaksanakan Tugas Belajar selama empat semester

44 pada Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis
Poltekkes Kemenkes Makassar

- 17 2. Bapak Dr. Drs. Rusli, Sp.FRS., Apt sebagai Direktur Poltekkes
Kemenkes Makassar
3. Bapak Rahman, S.Si., M.Si., sebagai Ketua Jurusan Teknologi
Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Makassar
4. Ibu Hj. Syahida Djasang, SKM., M.Kes selaku Ketua Program Studi
Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes
Makassar
- 33 5. Segenap Dosen dan Staff Jurusan Teknologi Laboratorium Medis
Poltekkes Kemenkes Makassar yang telah memberikan ilmu dan
pengalaman berharga selama masa perkuliahan
6. Ibu dr. Rahma Fitria, M.Kes., Sp.PK selaku penanggung jawab instalasi
laboratorium RSUD dr.La Palaloi Maros yang telah memberikan izin
kepada penulis dalam mengembangkan ilmu pengetahuan sesuai
profesi penulis
- 28 7. Ibu Hasmah, S.ST selaku kepala ruangan instalasi laboratorium RSUD
dr.La Palaloi Maros ,yang telah banyak memberikan bimbingan, arahan
dan sangat membantu penulis dalam menempuh pendidikan s
- 92 8. Keluarga tercinta, yang senantiasa memberikan doa, dukungan dan
motivasi tanpa henti dalam setiap langkah yang penulis tempuh.
- 125 Semoga mereka selalu sehat dan selalu dalam lindungan Allah SWT

109 9. Buat teman – teman seperjuangan Ajeng 2023, terima kasih atas dukungan, semnagat, dan kebersamaan selama masa perkuliahan hingga penyusunan skripsi ini. Semoga hubungan yang telah terjalin ini tetap erat dan menjadi bagian dari perjalanan hidup yang penuh makna.

2 Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan dikarena keterbatasan dan kekurangan yang dimiliki. Maka dari itu, kritik dan saran yang sifatnya membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan penulisan skripsi pada masa yang akan datang dan semoga Allah SWT senantiasa memberikan nikmat, rahmat, dan pertolongannya di dunia dan di akhirat, serta meridhoi segala aktivitas yang kita lakukan. Aamiin

Makassar, 19 Juni 2025

Penulis

Syahruni

ABSTRAK

SYAHRUNI : Studi Hasil Pemeriksaan *Staphylococcus aureus* Pada Pasien Pasca Operasi Metode Kultur dan PCR di RSUP dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar (Dibimbing oleh **Mursalim** dan **Herman**)

Infeksi luka pasca operasi merupakan salah satu komplikasi serius yang dapat memperlambat proses penyembuhan dan meningkatkan risiko morbiditas. *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu patogen utama penyebab infeksi tersebut. Deteksi dini terhadap keberadaan *Staphylococcus aureus* penting dilakukan guna mendukung penatalaksanaan yang tepat. Metode kultur dan Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan dua teknik diagnostik yang umum digunakan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gambaran hasil pemeriksaan *Staphylococcus aureus* menggunakan metode kultur dan metode PCR pada pasien pasca operasi, serta menganalisis perbedaan hasil kedua metode secara statistik. Penelitian ini menggunakan desain studi laboratorik dengan pendekatan *cross sectional*. Sampel terdiri dari 7 pasien pasca operasi yang diperiksa menggunakan metode kultur dan PCR. Data dianalisis secara deskriptif dan uji tanda (sign test) digunakan untuk mengetahui signifikansi perbedaan hasil antara kedua metode. Hasil analisis statistik dengan uji tanda menunjukkan nilai signifikansi sebesar 1.000 ($p > 0,05$), yang berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kedua metode. Meskipun PCR dikenal memiliki sensitivitas yang lebih tinggi, dalam penelitian ini tidak ditemukan perbedaan signifikan antara metode kultur dan PCR dalam mendeteksi *Staphylococcus aureus* pada pasien pasca operasi. Oleh karena itu, disarankan kepada peneliti selanjutnya agar menggunakan jumlah sampel yang lebih banyak dan spesies bakteri yang berbeda.

Kata Kunci : Infeksi luka operasi, kultur, Metode diagnostik, PCR, *Staphylococcus aureus*

Daftar Pustaka : 2013 - 2025

ABSTRACT

SYAHRUNI : Study of *Staphylococcus aureus* Examination Results in Postoperative Patients Using Culture and PCR Methods at dr. Wahidin Sudirohusodo General Hospital, Makassar (Supervised by Mursalim and Herman).

Postoperative wound infections are one of the serious complications that can delay the healing process and increase the risk of morbidity. *Staphylococcus aureus* is one of the primary pathogens causing such infections. Early detection of *Staphylococcus aureus* is crucial to support appropriate management. Culture and Polymerase Chain Reaction (PCR) are two commonly used diagnostic techniques. This study aims to determine the results of *Staphylococcus aureus* testing using culture and PCR methods in post-operative patients, as well as to analyze the statistical differences between the two methods. This study employs a laboratory-based cross-sectional design. The sample consisted of 7 post-operative patients who were examined using culture and PCR methods. Data were analyzed descriptively, and the sign test was used to determine the significance of differences between the two methods. Statistical analysis using the sign test showed a significance value of 1.000 ($p > 0.05$), indicating no significant difference between the two methods. Although PCR is known to have higher sensitivity, this study found no significant difference between the culture and PCR methods in detecting *Staphylococcus aureus* in postoperative patients. Therefore, it is recommended that future researchers use a larger sample size and different bacterial species.

Keywords : Culture, Diagnostic methods, PCR, *Staphylococcus aureus*, Surgical wound infection

References : 2013 - 2025

DAFTAR ISI

	Halaman
SAMPUL DALAM	i
LEMBAR PERSYARATAN GELAR	ii
LEMBAR PERSETUJUAN	iii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
SURAT PERNYATAAN	v
KATA PENGANTAR	vi
ABSTRAK	x
ABSTRACT	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR SINGKATAN	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Tinjauan Tentang <i>Staphylococcus Aureus</i>	5
B. Tinjauan Tentang Media Kultur	27
C. <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	54
D. Kerangka Teori	58
BAB III METODE PENELITIAN	61
A. Desain Penelitian	61
B. Lokasi dan Waktu Penelitian	61
C. Populasi, Sampel dan Besaran Sampel	61
D. Teknik Pengambilan dan Kriteria Sampel Penelitian	62
E. Variabel Penelitian	62
F. Definisi Operasional	63
G. Alat dan Bahan	63
H. Prosedur Penelitian	64
I. Analisis Data	68
J. Kerangka Operasional	68
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	69
A. Hasil	69
B. Pembahasan	74

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	91
A. Kesimpulan	91
B. Saran	91
DAFTAR PUSTAKA.....	92
LAMPIRAN	100

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	5
Gambar 2.2 Struktur dinding Sel Bakteri.....	7
Gambar 2.3 Struktur NAG dan NAM.....	8
Gambar 2.4 Struktur dinding sel asam teikoat <i>Staphylococcus Aureus</i>	10
Gambar 2.5 Stuktur Lipid Membran Bakteri.....	11
Gambar 2.6 Jalur Sintesis Lipid Membran Sel.....	13
Gambar 2.7 Anatomi Respon Imun Kulit.....	24
Gambar 2.8 Media Padat (<i>Nutrient Agar</i>)	36
Gambar 2.9 Media tegak, media miring, dan media lempeng.....	36
Gambar 2.10 Media cair, semi solid, dan media padat	38
Gambar 2.11 Media Sintesis.....	40
Gambar 2.12 Media basal (<i>Nutrient Agar</i>)	40
Gambar 2.13 Thayer Martin Agar Positif <i>N.gonorrhoea</i>	41
Gambar 2.14 Lowenstein Jensen agar positif <i>M tuberculosis</i>	42
Gambar 2.15 Media diferensial (Mannitol Salt Agar)	43
Gambar 2.16 Alkali Pepton Water.....	43
Gambar 2.17 Prosedur Pewarnaan Gram	45
Gambar 2.18 Perbedaan Struktur Dinding Sel Bakteri.....	47
Gambar 2.19 Alur Metode PCR-MRSA.....	58
Gambar 2.20 Kerangka Teori.....	60
Gambar 3.1 Kerangka Operasional	68
Gambar 4.1 Hasil Elektroforesis <i>Staphylococcus aureus</i>	73

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1. Hasil Pemeriksaan <i>Staphylococcus aureus</i> Metode Kultur	70
Tabel 4.2. Hasil Uji Kepekaan Metode Kultur.....	71
Tabel 4.3. Hasil Pemeriksaan <i>Staphylococcus aureus</i> metode PCR..	72
Tabel 4.4. Hasil Analisis Uji Tanda Metode Kultur dan PCR.....	74

DAFTAR SINGKATAN

AST	: <i>Antibiotic Susceptibility Testing</i>
ATP	: <i>Adenosine Triphosphate</i>
BAP	: <i>Blood Agar Plate</i>
CDC	: <i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
dNTP	: <i>Deoksiribonukleotida Trifosfat</i>
ILO	: <i>Infeksi Luka Operasi</i>
IDO	: <i>Infeksi Daerah Operasi</i>
MRSA	: <i>Methycillin Resistance Staphylococcus aureus</i>
MSSA	: <i>Methycillin Sensitive Staphylococcus aureus</i>
NAM	: <i>N-asetilmuramat</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
PVL	: <i>Panton-Valentine Leukocidin</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>

112

DAFTAR LAMPIRAN

26

	Halaman
Lampiran 1 Rekomendasi Persetujuan Etik	101
Lampiran 2 Surat Permohonan Izin Penelitian	102
Lampiran 3 Surat Izin Penelitian	103
Lampiran 4 Dokumentasi Penelitian	104
Lampiran 5 Hasil Penelitian	107
Lampiran 6 Surat Keterangan Selesai Penelitian.....	110
Lampiran 7 Data SPSS	111
Lampiran 8 Master Data Penelitian.....	113

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit infeksi masih menjadi tantangan besar dalam dunia kesehatan, baik di Indonesia maupun secara global. Infeksi juga tercatat sebagai salah satu penyebab utama kematian di seluruh dunia. Salah satu mikroorganisme yang berperan dalam terjadinya infeksi luka adalah *Staphylococcus aureus* (Indas et al., 2023).

Menurut World Health Organization (WHO), angka kejadian infeksi luka operasi (ILO) di seluruh dunia berkisar antara 3 hingga 15%. Selain itu, berdasarkan data dari World Alliance for Patient Safety, sekitar 27 juta pasien menjalani prosedur pembedahan setiap tahunnya, dan dari jumlah tersebut, sekitar 2–5% mengalami infeksi luka operasi (Kartikakasari & Apriningrum, 2020).

Infeksi luka terjadi akibat masuknya bakteri ke dalam area luka, yang kemudian memicu terbentuknya nanah (pus) pada lokasi tersebut. Pus merupakan cairan berwarna kekuningan, keputihan, atau kemerahan yang terbentuk dari sisa-sisa sel darah putih (leukosit) yang telah mati dan mengalami pembusukan (Yanto et al., 2021).

Terdapat dua kelompok faktor yang memengaruhi terjadinya infeksi luka, yaitu faktor yang berkaitan dengan tindakan operasi dan faktor dari kondisi pasien. Faktor operatif mencakup kurang

optimalnya sterilisasi alat bedah, durasi tindakan operasi yang terlalu lama, serta sistem ventilasi ruang operasi yang tidak memadai. Sementara itu, faktor dari pasien meliputi kebersihan diri yang kurang terjaga, usia lanjut yang menyebabkan penurunan sistem imun, serta keberadaan penyakit penyerta lainnya (Aziz et al., 2020).

Menurut data laporan tahun 2022 -2023 di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar yaitu pada tindakan operasi sebanyak 10.344-12.057 pasien dan pada tahun 2024 telah dilakukan pemeriksaan kultur sebanyak 77 sampel.

Hasil penelitian oleh Kalayu et al. (2019) menunjukkan bahwa bakteri penyebab infeksi pada luka pasca operasi didominasi oleh *Staphylococcus aureus* dengan angka kejadian tertinggi mencapai 37%, disusul oleh *Staphylococcus koagulase negatif* sebesar 24,7%, *Escherichia coli* sebanyak 15,1%, dan berbagai jenis bakteri lainnya sebesar 13,7%. Sementara itu, studi yang dilakukan oleh Lubega et al. (2017) terhadap 114 pasien dengan infeksi luka operasi menemukan bahwa *Klebsiella pneumoniae* merupakan penyebab terbanyak, terdeteksi pada 50% kasus, diikuti oleh *Staphylococcus aureus* sebesar 27,8%, serta *Escherichia coli* dan *Pseudomonas*, yang masing-masing menyumbang 11,1% dari keseluruhan kasus.

PCR (Polymerase Chain Reaction) merupakan metode sintesis dan perbanyakan DNA yang dilakukan secara *in vitro*. Teknik ini

memungkinkan amplifikasi segmen DNA tertentu dalam jumlah besar hanya dalam waktu beberapa jam.

Berdasarkan penjelasan di atas, peneliti tertarik untuk melakukan studi mengenai *Staphylococcus aureus* pada pasien pasca operasi dengan menggunakan metode kultur dan PCR, yang dilaksanakan di RSUP dr. Wahidin Sudirohusodo.

B. Rumusan Masalah

Merujuk pada latar belakang yang telah dijelaskan, maka perumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Apakah terdapat *Staphylococcus aureus* pada pasien pasca operasi metode kultur?
2. Apakah terdapat *Staphylococcus aureus* pada pasien pasca operasi metode PCR?
3. Apakah terdapat perbedaan hasil pemeriksaan *Staphylococcus aureus* metode kultur dan metode PCR pada pasien pasca operasi metode PCR?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui gambaran hasil pemeriksaan *Staphylococcus aureus* metode kultur dan PCR pada pasien pasca operasi

2. Tujuan Khusus

- a. Untuk mengidentifikasi *Staphylococcus aureus* menggunakan metode kultur pada pasien pasca operasi
- b. Untuk mengidentifikasi *Staphylococcus aureus* menggunakan metode PCR pada pasien pasca operasi
- c. Untuk mengetahui perbedaan metode kultur dan metode PCR

D. Manfaat Penelitian

1. Bagi Peneliti

Meningkatkan pengetahuan dan pengalaman dalam melaksanakan penelitian, serta mengasah kemampuan dalam mengaplikasikan ilmu yang telah diperoleh selama proses perkuliahan.

2. Bagi Institusi

Sebagai bahan pustaka dan menambah referensi hasil penelitian serta menjadi sumber bacaan bagi peneliti selanjutnya.

3. Bagi Masyarakat/Klinis

Memberikan informasi terbaru mengenai dampak bakteri *Staphylococcus aureus* yang dikarenakan tindakan operasi serta menjadi referensi bagi klinisi dalam menangani pasien pasca operasi.

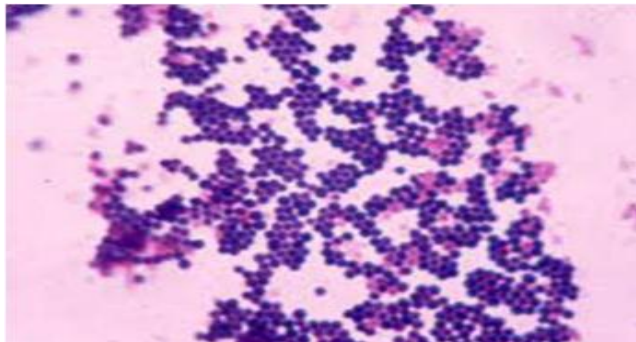
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Tentang *Staphylococcus Aureus*

1. Pengertian *Staphylococcus Aureus*

Staphylococcus aureus adalah jenis bakteri patogen yang tergolong dalam kelompok bakteri gram positif. Nama “*Staphylococcus*” sendiri berasal dari kata “*staphyle*” yang berarti “anggur” dan “*coccus*” yang berarti “bundar”, merujuk pada bentuk sel-selnya yang menyerupai kelompok anggur. Bakteri ini termasuk dalam kategori patogen yang umum ditemukan dilingkungan manusia, serta dapat mempengaruhi indra peraba dan proses fotosintesis dalam tubuh manusia (Kemalaputri, dkk., 2017).



Gambar 2.1 *Staphylococcus aureus* (Kemalaputri, dkk.,2017).

2. Morfologi dan Klasifikasi *Staphylococcus Aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif yang tidak mampu menghasilkan spora serta tidak memiliki kemampuan motilitas. Bakteri ini membentuk kelompok yang menyerupai struktur

kawanan anggur dengan ukuran berkisar antara 0,8 hingga 1 mikron.

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* dapat diuraikan sebagai berikut (Lisnawato & Prayoga, 2020) :

Divisi : *Protophytai*

Kelas : *Schizomycetesi*

Ordo : *eubaterialesi*

Famili : *Micrococceaeo*

Genus : *Staphylococcus*

Spesies : *Staphylococcus aureus*

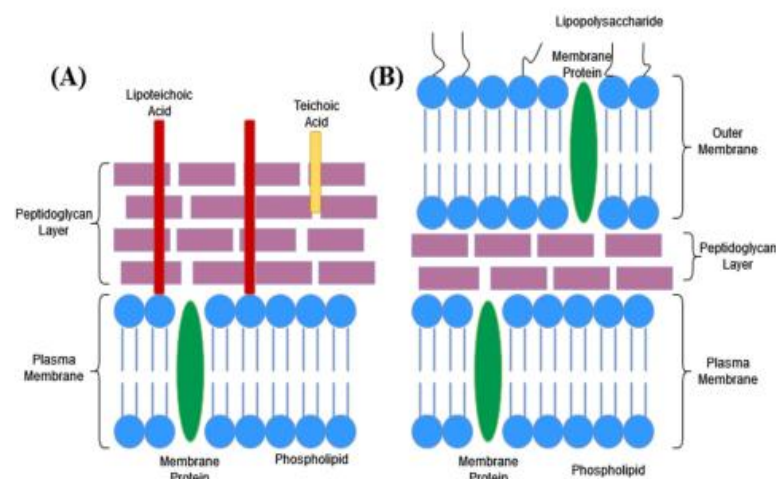
3. Struktur Sel Bakteri *Staphylococcus aureus*

a. Dinding Sel

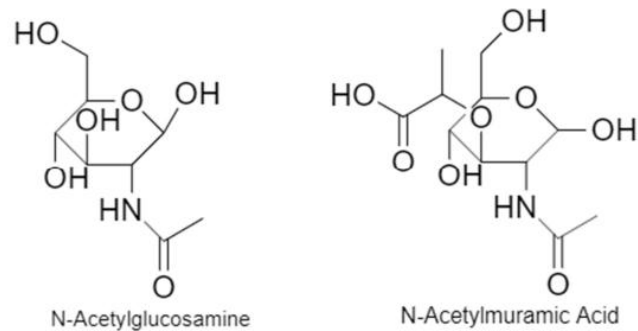
Dinding sel merupakan komponen penting dalam struktur bakteri. Fungsinya untuk mempertahankan bentuk sel dan melindungi sel dari tekanan osmotik. Perbedaan struktur dinding sel terlihat jelas antara bakteri Gram-positif dan Gram-negatif. Bakteri Gram-positif memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tebal serta mengandung asam teikoat, sementara bakteri Gram-negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tipis dan dilengkapi dengan membran luar yang mengandung lipopolisakarida (Egan, et al., 2017).

Pada bakteri gram-positif, lapisan peptidoglikan mendominasi dinding sel dan memberikan stabilitas structural

yang penting. Struktur ini tersusun dari untaian glikanan yang dipolimerasi dan dihubungkan oleh lebih dari 10 jenis protein yang berperan dalam proses tersebut. Untaian glikana ini terdiri dari residu N-acetylglucosamine (NAG) dan N-acetylmuramic acid (NAM) yang teratur secara bergantian. Selain NAG dan NAM, struktur glikana juga melibatkan segmen batang serta komponen jembatan. Sebagai contoh pada *Staphylococcus aureus*, komponen batangnya berupa pentapeptida, yaitu L-Ala-D-iso-Gln-L-Lys-D-Ala-D-Ala. Sedangkan komponen jembatannya terdiri atas segmen pentaglisil. Disakarida NAG dan NAM terhubung melalui ikatan glikosidik β (1-4) untuk membentuk rantai glikana yang kemudian diikat silang oleh rantai lainnya, menggunakan glisin terminal dari segmen pentaglisil yang terikat dengan D-Ala dari batang pentapeptida diseberangnya (Nikocil, et al., 2022).



Gambar 2.2 Struktur dinding Sel Bakteri a) Bakteri Gram-positif. b) Bakteri Gram-negatif (Nikocil, et al., 2022).



Gambar 2.3 Struktur NAG dan NAM (Nikocil, *et al.*, 2022).

Setelah sintesis, rantai glikana mengalami modifikasi yang bervariasi antar spesies bakteri. Pada *Staphylococcus aureus*, salah satu modifikasi yang teramati adalah O-asetilasi, yang terjadi pada residu NAM, tetapi tidak pada residu NAG, Gena OatA, yang pertama kali diidentifikasi pada *Staphylococcus aureus*, berperan dalam sintesis O-asetiltransferase yang mengkatalisis reaksi O-asetilasi peptidoglikan. Modifikasi ini mempengaruhi resistensi bakteri Gram-positif patogen terhadap lisozim. Selain itu, keberadaan asam teikoat dan ikatan silang dalam lapisan peptidoglikan juga berkontribusi pada ketahanan terhadap lisozim (Malanovic, *et al.*, 2016)

Jumlah ikatan silang dalam rantai peptidoglikan bervariasi tergantung pada jenis bakteri. Untuk *Staphylococcus*, proporsi ikatan silang dapat mencapai 80-90. Ketebalan lapisan peptidoglikannya berkisar antara 20 nm hingga 40 nm, yang dapat berbeda secara signifikan di antara berbagai strain *Staphylococcus aureus*. Meskipun untaian glikana memiliki variasi panjang rantai antara spesies yang berbeda, variasi ini tidak

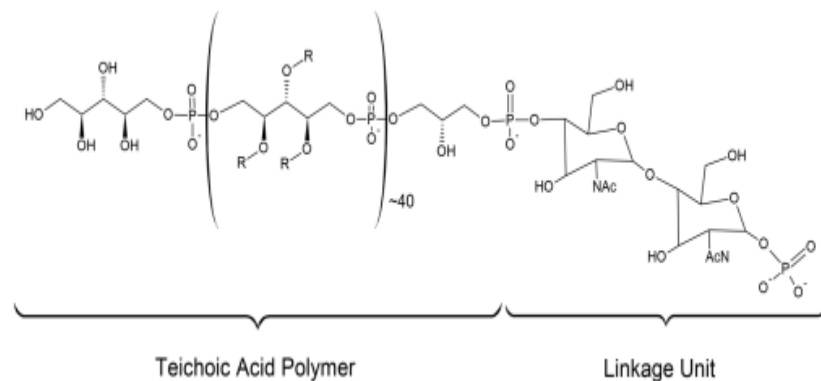
mempengaruhi ketebalan dinding sel. Pada *Staphylococcus aureus* panjang rata-rata untaian glikana ada 18 unit disakarida dengan kebanyakan memiliki antara 3 hingga 10 unit disakarida dan sekitar 10-15% terdiri dari lebih 26 unit disakarida (Strahl, et al., 2017).

Asam teikoat ditemukan pada dinding bakteri sel bakteri Gram-positif, termasuk pada *Staphylococcus aureus*, dimana diperkirakan bahwa setiap residu N-asetilmuramat (NAM) dalam peptidoglikan memiliki asam teikoat yang melekat. Asam teikoat adalah glikopolimer anionic yang melampaui lapisan peptidoglikan. Struktur asam teikoat dinding terbagi menjadi dua komponen utama. Komponen pertama adalah unit penghubung disakrida yang terdiri dari N-asetilmanosamin dan N-asetilglukosamin-1-fosfat (disakarida) yang terhubung melalui ikatan β 1-4. Unit penghubung ini dilengkapi dengan satu hingga tiga unit gilslerol-3-fosfat (G3P) yang terikat pada hidroksil C4 dari residu N-asetilmanosamin. Fosfat dari unit penghubung tersebut terikat secara kovalen pada hidroksil C6 dari peptidoglikan NAM melalui ikatan fosfodiester (Strahl, et al., 2017).

Komponen kedua adalah polimer rantai utama yang tersusun dari pengulangan poliol yang terikat melalui ikatan fosfodiester. Pengulangan ini berasal dari ujung G3P unit

penghubung disakarida. Pada *Staphylococcus aureus*, unit poliol yang berulang adalah poli (ribitol-fosfat).

Asam teikoat memiliki berbagai peran penting dalam bakteri Gram-positif. Fungsi-fungsinya meliputi, membantu interaksi dengan inang, menentukan bentuk sel, memberikan resistensi terhadap antibiotic, serta melindungi sel dari tekanan turgor. Selain asam teikoat, dinding sel juga mengandung protein permukaan yang dapat terikat secara kovalen dengan peptidoglikan atau terhubung secara non-kovalen dengan polimer dinding sel (Romaniuk, et al.,2015).



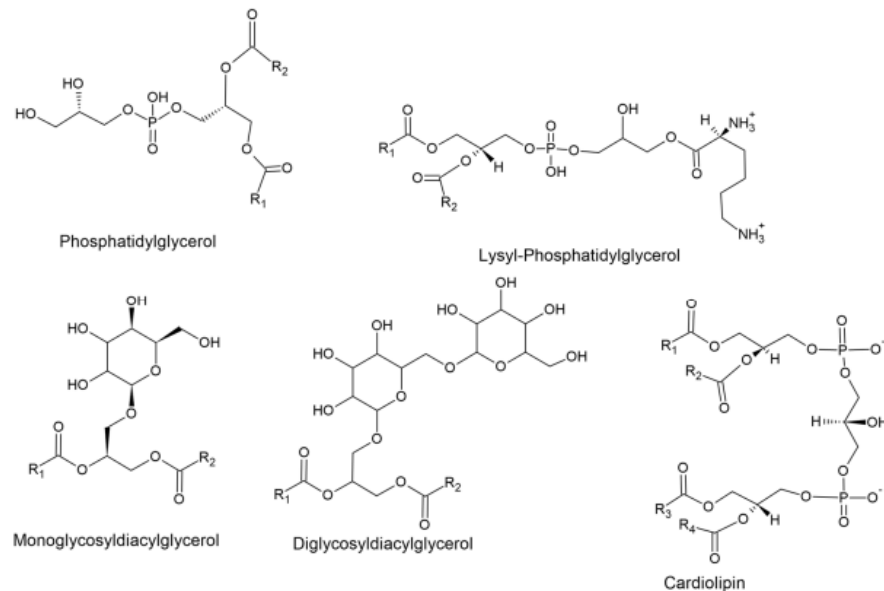
Gambar 2.4 Struktur dinding sel asam teikoat *Staphylococcus aureus* (Romaniuk, et al., 2015)

b. Membran Sel

Membran sel bakteri adalah lapisan bilayer fosfolipid yang merupakan komppnen sensual dari sel. Membran berfungsi sebagai penghalang yang permeable selektif untuk menjaga konsentrasi nutrisi dan limbah yang tepat di dalam sel. Selain itu, membran ini juga berperan penting dalam menciptakan gaya gerak proton, pembangkitan ATP, perlindungan terhadap

masuknya zat-zat berbahaya, serta komunikasi antar sel, karena semua proses terjadi disini. Disamping fosfolipid, membran sel juga mengandung protein yang terasosiasi dengan membran yang membantu dalam menjalankan fungsi-fungsi tersebut (Strahl, et al., 2017).

Membran sel bakteri terdiri dari beragam spesies lipid, termasuk fosfolipid dan glikolipid. Beberapa lipid yang ditemukan dalam membran *Staphylococcus aureus* mencakup fosfatidilgliserol (PG), lisil-fosfatidilgliserol (Lys-PG), monoglikosyldiacilgliserol (MGDG), diglikosyldiacilgliserol (DGGC) serta kardioplin (CL) (Strahl, et al., 2017).



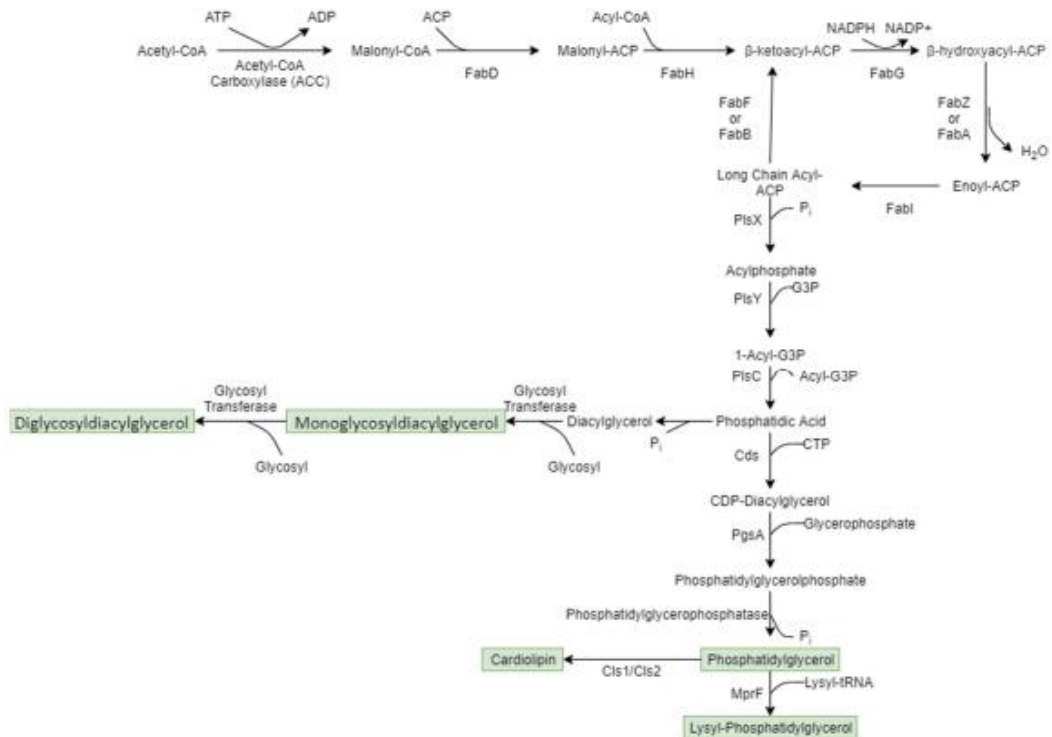
Gambar 2.5 Stuktur Lipid Membran Bakteri (Strahl, et al., 2017).

c. Sintesis Lipid Membran

Proses sintesis lipid membran pada bakteri dimulai dengan jalur biosintesis asam lemak tipe II yang berlangsung di

sitoplasma. Langkah pertama dalam jalur ini melibatkan aksi asetil-KoA karboksilase (ACC), yang berperan mengubah asetil-KoA menjadi malonil-KoA dengan bantuan biotin sebagai kofaktor. Selanjutnya, gugus malonil dipindahkan ke protein pembawa asil (ACP) oleh enzim FabD (translokase malonil), sehingga terbentuk malonil-ACP. Setelah itu, enzim FabH mengkondensasi asil-KoA lainnya dengan malonil-ACP, menghasilkan perantara β -ketoasil-ACP pertama dalam jalur sintesis asam lemak tipe II. Dalam langkah-langkah ini asam lemak rantai lurus dan bercabang dihasilkan, dimana pengenalan rantai bercabang terjadi pada fase inisiasi melalui enzim FabH yang lebih memilih substrat rantai bercabang yang lebih besar pada *Staphylococcus aureus* (Kuhn, et al., 2015).

Pemanjangan rantai asam lemak dilakukan melalui empat reaksi enzimatik. Setelah keempat reaksi tersebut, rantai asli yang terbentuk akan bertambah dua karbon. Proses ini dimulai dengan reduksi β -hidroksiasil-ACP. Selanjutnya, β -hidroksiasil-ACP akan mengalami dehidrasi oleh FabH atau FabZ menjadi enoil-ACP. Untuk menyelesaikan setiap putaran. Siklus pemanjangan kemudian kembali oleh enzim kondensasi pemanjangan, seperti FabF atau FabB, dan terus berlanjut (Kuhn, et al., 2015).



Gambar 2.6 Jalur Sintesis Lipid Membran Sel (Kuhn, et al., 2015).

Setelah sintesis asam lemak, proses sintesis fosfolipid pada *Staphylococcus* dimulai melalui asilasi gliserol-3-fosfat (G3P) dengan asam lemak. Enzim PlsX mentransfer gugus asil dari asil-ACP rantai panjang ke fosfat anorganik, membentuk zat antara asilfosfat. Kemudian, PlsY menggunakan asil-fosfat sebagai substrat untuk mengasilasi G3P menjadi 1-asil-G3P. asam lemak kedua dipindahkan dari asil-ACP ke 1-asil-G3P melalui aksi PlsC, menghasilkan asam fosfatidat, yang merupakan precursor universal untuk fosfolipid bakteri. Proses selanjutnya melibatkan fosfatidat sitidililtransferase Cds yang mengkatalisis sintesis CDP-diasilgliserol dari asam fosfatidat dan

sitidina trifosfat. Selanjutnya, enzim PgsA menggantikan sitidin monofosfat dengan gliserolfosfat, membentuk fosfatidilgliserolfosfat, yang kemudian akan didefosforilasi oleh fosfatidilgliserofosfatase menjadi fosfatidilgliserol. Fosfatidilgliserol yang dihasilkan dapat dimodifikasi lebih lanjut untuk menghasilkan fosfolipid membran lainnya. Salah satu modifikasi yang mungkin dilakukan adalah diaminasilasi dengan gugus L-lisin dari lisil-tRNA oleh faktor resistensi multipeptida (MprF), membentuk lisil-fosfatidilgliserol. Selain itu, fosfatidilgliserol juga dapat diubah menjadi kardiolipoin melalui sintesis yang dilakukan oleh enzim CIs1 dan CIs2, dimana kedua enzim ini memadatkan dua molekul PG menjadi satu CL dan gliserol (Kuhn, et al., 2015).

Alternatif lain, asam fosfatidat dapat didefosforilasi untuk membentuk diacylglycerol (DAG) dalam konteks sintesis MGDG dan DGDG. Proses ini dimulai dengan transfer residu glikosil ke DAG oleh glikosil transferase, membentuk MGDG. Selanjutnya, MGDG dapat digunakan sebagai substrat untuk penambahan residu glikosil kedua, menghasilkan DGDG. Dalam *Staphylococcus aureus*, aktivitas glikosil transferase terbatas pada sisi sitoplasma membran, sedangkan produk akhir DGDG ditranslokasi ke sisi ekstraseluler. Senzim yang terlibat dalam pembentukan MGDG dan DGDG di *Staphylococcus aureus* termasuk dalam keluarga GT28 (Yeagle, P. 2016).

d. Peran Lipid Membran

Lipid yang membentuk membran sel bakteri memiliki peran yang krusial dalam resistensi terhadap antibiotik dan berbagai kelas lipid ini memainkan peran yang berbeda. Fosfatidilgliserol adalah salah satu jenis fosfolipid yang terdiri dari dua rantai asam lemak yang diesterifikasi dengan gliserol, dan dihubungkan dengan gugus kepala yang mengandung fosfat. Karena fosfat bersifat negatif dan tidak ada muatan positif yang mengimbangi, PG memberikan muatan negatif secara keseluruhan pada membran bakteri. Selain itu, PG berfungsi sebagai stabilator dan destabilizer melalui interaksi elektrostatik yang kuat antara peptide membran dan protein (Yeagle, P. 2016).

Lysyl-phosphatidylglycerol adalah bentuk PG yang telah mengalami modifikasi dengan gugus L-lisin dari lysyl-tRNA oleh protein MprF. Protein MprF memiliki dua domain: domain C-terminal yang bersifat hidrofilik dan domain N-terminal yang hidrofobik. Domain C-terminal bertanggung jawab untuk lisinilasi PG dilapisan dalam membran bakteri, sedangkan domain N-terminal mendukung translokasi Lys-PG melintasi membran. Produksi Lys-PG terbukti mengurangi kerentanan *Staphylococcus aureus* terhadap peptide antimikroba kationik (CAMP) dengan mengingatkan muatan permukaan sel. Selain itu, Lys-PG memainkan peran dalam regulasi siklus sel dengan

mempengaruhi inisiasi replikasi DNA. Hal ini terjadi ketika protein inisiator replikasi DNA, dihambat oleh PG dan CI, sehingga mendorong pelepasan ATP. Namun, Lys-PG dapat mengatasi interaksi ini, mungkin karena penurunan muatan negatif membran atau pergeseran dalam struktur gugus fosfolipid asam (Yeagle, P. 2016).

Kardiolipin, di sisi lain terdiri dari empat rantai asam lemak dan memiliki banyak variasi spesies. Setelah *Staphylococcus aureus* mencapai fase stasioner, sebagian besar PG yang terdapat dalam membran diubah menjadi kardiolipin. Proses ini terjadi melalui sintesis kardiolipin oleh enzim Cls1 dan Cls2 yang mengondensasi dua molekul PG menjadi satu kardiolipin dan gliserol. Cls2 berfungsi terutama dalam kondisi normal, sementara Cls1 beroperasi saat ada tekanan asam. Kardiolipin dapat menstabilkan liposom dalam menghadapi tekanan osmotik dan meskipun tidak diperlukan untuk pertumbuhan di lingkungan yang kaya garam, ia sangat penting untuk kelangsungan hidup jangka panjang dalam kondisi tersebut. Selain itu, kardiolipin terbukti berkontribusi pada resistensi terhadap daptomycin dengan mencegah permeabilitas membran (Yeagle, P. 2016).

Monoglikosildiasilgliserol (MGDG) dan diglikosildiasilglisero (DGDG) telah terbukti berkontribusi terhadap stabilitas dan fluiditas membran sel berdasarkan

proporsi relatifnya. Hal ini disebabkan oleh fakta bahwa MGDG tidak membentuk dua lapisan, sementara DGDG dapat membentuk dua lapisan. Organisme hidup perlu memiliki kemampuan untuk mensintesis lipid yang membentuk dua lapisan maupun yang tidak membentuk dua lapisan, serta menyesuaikan rasio relatifnya sebagai respons terhadap peristiwa pemicu eksternal. MGDG dan DGDG menyediakan fungsi tersebut. Selain itu, $\beta\text{Glc}(1-6)\beta\text{Glc-DAG}$ berfungsi sebagai jangkar membran untuk asam lipoteikoat pada bakteri Gram-positif, termasuk *Staphylococcus aureus* (Yeagle, P. 2016).

Secara umum, pada pH netral, membran *Staphylococcus aureus* terdiri dari sekitar 55% fosfatidilgliserol (PG), 40% lisolipid fosfatidilgliserol (Lys-PG), dan 5% kardiopipin (CL). Namun, komposisi fosfolipid dalam membran dapat diubah sebagai respons terhadap perubahan fase pertumbuhan serta stimulus eksternal seperti osmolaritas, pH dan suhu. Perubahan ini dilakukan untuk memodifikasi sifat-sifat membran guna membantu kelangsungan hidup sel. Salah satu perubahan tersebut melibatkan kelimpahan relatif antara PG dan Lys-PG. fosfatidilgliserol bersifat bermuatan negatif, sedangkan Lys-PG bersifat bermuatan positif. perubahan ini dapat dilakukan melalui aksi enzim MprF, di mana satu lipid dapat berkonversi menjadi yang lain. Proses ini akan menghasilkan peningkatan

salah satu jenis lipid, sehingga memengaruhi muatan membran secara keseluruhan. Hal tersebut berkontribusi pada kemampuan bakteri dalam melawan aksi antibiotik seperti CAMP. Mengingat CAMP bersifat bermuatan positif, peningkatan Lys-PG dan penurunan PG akan mengarah pada peningkatan muatan negatif pada membran, yang membantu menolak CAMP (Rezanka, *et al.*, 2018).

Bakteri yang resisten terhadap CAMP umumnya menunjukkan proporsi Lys-PG yang lebih tinggi di dalam membrannya, sementara mutan yang kekurangan MprF akan sangat sensitif terhadap CAMP. Metode peningkatan regulasi Lys-PG pertama kali dipicu oleh CAMP yang mengaktifasi sensor histidin kinase dari regulon ApsSR. Proses ini kemudian menyebabkan peningkatan regulasi ekspresi MprF, yang berkontribusi pada peningkatan produksi protein MprF, yang berperan dalam katalisis produksi Lys-PG dari PG (Rezanka, *et al.*, 2018).

Perubahan dalam spesies lipid membran antara strain MRSA dan MSSA telah diidentifikasi dalam penelitian sebelumnya. Tiga spesies lipid menunjukkan perbedaan signifikan antara strain MSSA dan MRSA yang diuji, yaitu DGDG dan dua jenis Lys-PG. lipid-lipid ini terdapat dalam kelimpahan yang lebih tinggi pada strain MSSA yang menunjukkan adanya

perbedaan pada sel di luar mekanisme resistensi methicillin yang telah dicirikan dengan baik (Rezanka, *et al.*, 2018).

4. Faktor Virulensi *Staphylococcus Aureus*

Staphylococcus aureus memiliki keunggulan dibandingkan mikroorganisme lain karena menghasilkan berbagai enzim yang berperan penting dalam virulensinya, termasuk hemolisin dan komponen seluler lainnya. Sebagian besar enzim ini, selain menjalankan fungsi internal, juga terlibat dalam melemahkan sistem pertahanan tubuh inang. Beragam faktor virulensi yang berkaitan dengan protein dari kelompok ini tersimpan dan dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus*.

Beberapa faktor virulensi *Staphylococcus aureus* dapat diilustrasikan sebagai berikut (Husna, 2018):

- a. Pembentukan kuman yang dapat difagosit melibatkan beberapa komponen yang berkaitan dengan protein A.
- b. Leukosidase, hialuridase dan kinase merupakan contoh protein yang berperan dalam indoktrinasi kuman di dalam tubuh.
- c. Unsur-unsur lain yang memperkuat pertahanan kuman, seperti katalase dan karotenoid, turut berkontribusi dalam proses fagositosis.
- d. Faktor koagulasi dan enzim koagulase yang mempengaruhi fungsi immunoglobulin tertentu.

- e. Beberapa eksotoksin yang terdapat dalam tubuh berfungsi menyaring faktor-faktor berbahaya yang tidak sehat.
- f. Beberapa protein yang menyerupai leukotoksin, hemolisin dan leukosida memiliki fungsi lisis di dalam tubuh ketika inang sedang terbatas kemampuannya).

5. Patogenesis *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan mikroorganisme yang memiliki kemampuan untuk menginfeksi dan merusak berbagai elemen dalam tubuh manusia (Mashita, 2017). Bakteri ini dapat menyebabkan luka yang ditandai dengan timbulnya gejala fisik yang meliputi peningkatan pembengkakan serta munculnya infeksi. Sifat infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* termasuk pemusnahan neutrophil melalui mekanisme leukocidin yang dihasilkan, yang berkontribusi pada peningkatan pembengkakan (Ekawati dkk, 2018).

Apabila *Staphylococcus aureus* menginfeksi jaringan yang terangkat, individu yang terinfeksi dapat menularkan infeksi tersebut ke organ lain melalui sirkulasi sistemik. *Staphylococcus aureus* mengandung pathogen yang berperan sebagai kuman invasive (Mashita, 2017).

Bakteri ini memiliki kemampuan untuk mengubah fibrin melalui proses pembusukan fibrinogen yang dikatalisis, sehingga memungkinkan pathogen ini untuk memberikan perlindungan

48 terhadap dirinya sendiri. Dalam konteks interaksi dengan sel-sel normal, *Staphylococcus aureus* berikatan dengan reseptor yang ditemukan pada permukaan sel, yang juga dimediasi oleh protein matriks. Selama proses invasi dan kerusakan jaringan, *Staphylococcus aureus* mengeluarkan enzim litik ekstraseluler yang berfungsi untuk mempercepat infeksi (Husna, 2018).

6. Kekebalan terhadap Infeksi kulit *Staphylococcus aureus*

8 *Staphylococcus aureus* adalah penyebab utama dari berbagai infeksi pada kulit dan jaringan lunak manusia, seperti impetigo, folikulitis, selulitis, serta luka dan ulkus yang terinfeksi. Infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* juga dapat berlanjut menjadi kondisi invasive yang mengancam jiwa termasuk bacteremia, abses, pneumonia, osteomyelitis, meningitis, endokarditis dan sepsis (Bitschar, et al., 2017).

Pengobatan infeksi ini semakin sulit akibat munculnya *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap methicillin (MRSA), yang telah menunjukkan peningkatan resisten terhadap berbagai jenis antibiotic. Setiap tahunnya, infeksi MRSA invasive mengakibatkan sekitar 18.500 kematian di Amerika Serikat, menjadikannya penyebab kematian tertinggi akibat infeksi tunggal, bahkan lebih daripada HIV/AIDS, hepatitis virus, dan influenza yang digabungkan.

91 Kehadiran MRSA di rumah sakit telah menjadi masalah global, MRSA yang terkait dengan komunitas (CA-MRSA) juga dapat menginfeksi individu yang sehat. Di Amerika Serikat, lebih dari 50% infeksi kulit dan jaringan lunak disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* berasal dari strain ini. Di beberapa Negara Asia, prevalensinya mencapai sekitar 17%, sementara di Eropa angka tersebut bervariasi (Bitschar, *et al.*, 2017).

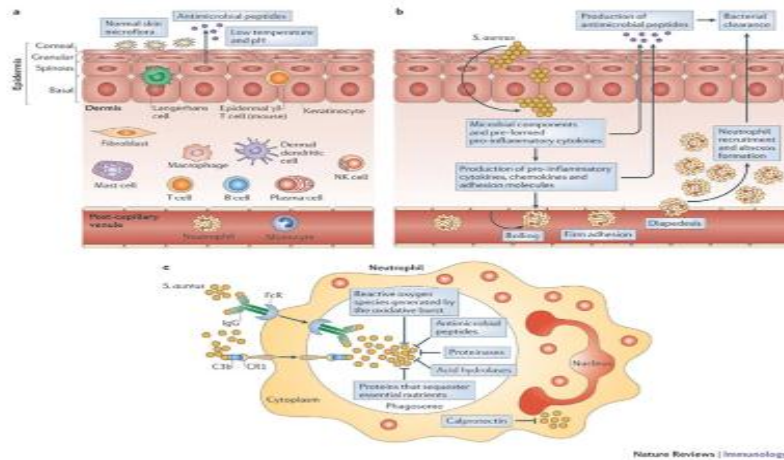
7. Anatomi Sistem Kekebalan Kulit

Kulit merupakan organ yang memiliki mekanisme imun bawaan yang berfungsi sebagai pelindung terhadap berbagai patogen. Pada permukaan kulit, keberadaan mikroorganisme komensal yang menempati habitat yang sesuai untuk pertumbuhan bakteri, dikombinasikan dengan suhu dan pH yang relative rendah, menciptakan lingkungan yang efektif dalam menekan pertumbuhan patogen. Secara khusus, mikroorganisme komensal yang membentuk mikrobioma kulit saat ini menjadi focus penelitian yang aktif, dan komponen-komponen mikrobioma tersebut dapat memengaruhi kolonisasi *Staphylococcus aureus* (Brindle, *et al.*, 2020).

Lapisan paling atas epidermidis, yaitu lapisan kornea, merupakan lapisan yang unik karena tidak ditemukan pada epitel lain yang terpapar lingkungan, seperti pada usus dan paru-paru. Lapisan ini terdiri dari keratinosit yang sudah mati dan tidak memiliki

organel, berfungsi sebagai penghalang fisik bagi kulit. Selain itu, lapisan kornea juga mengandung peptide antimikroba yang dihasilkan oleh keratinosit, yang dapat diproduksi sebagai respons terhadap infeksi. Peptida tersebut masuk human β -defensi 2, human β -defensin 3, cathelicidin dan RNase 7, yang memiliki aktivitas bakteriostatik atau bakterisida terhadap *Staphylococcus aureus* (Brindle, et al., 2020).

Dibawah lapisan kornea terdapat beberapa lapisan, yaitu lapisan granula, spinosus dan basal. Lapisan-lapisan ini terdiri dari keratinosit yang mengekspresikan reseptor pengenalan pola (RPP) seperti TLR dan protein domain oligomerisasi pengikat nukleotida (NOD). PRR ini berfungsi mendeteksi pola molekuler terkait patogen (PAMP) dari mikroorganisme yang menyerang, sehingga dapat berbagai jenis sel lain di kulit manusia yang juga mengekspresikan PRR dan berkontribusi terhadap respons imun kulit. Sel-sel ini meliputi sel Langerhans dan sel T $\gamma\delta$ (yang hanya terdapat pada tikus) di epidermidis, serta makrofag, sel dendritic, sel mast, sel B dan T, sel plasma, sel pembunuh alami (NK), dan fibroblas di dermis (Brindle, et al., 2020).



Gambar 2.7 Anatomi Respon Imun Kulit (Brindle, et al., 2020).

8. Kekebalan Spesifik Epitop terhadap *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus terkait dengan beban penyakit yang signifikan yang dapat menyebabkan kondisi mengancam jiwa seperti infeksi luka, bacteremia, endocarditis, pneumonia, osteomyelitis, dan syok yang dimediasi enterotoksin. Resistensi antibiotic, khususnya *Staphylococcus aureus* yang resistensi terhadap methicillin (MRSA), telah menyebar luas dan menjadi perhatian yang serius. Meskipun strategi vaksinasi terhadap telah mendapatkan perhatian besar, saat ini belum ada vaksin *Staphylococcus aureus* yang tersedia. Tantangan khusus didalam pengembangan vaksin untuk *Staphylococcus aureus* meliputi rendahnya imunogenisitas antigen yang berasal dari patogen, kurangnya kekebalan alami terhadap *Staphylococcus aureus* serta keberadaan beberapa faktor virulensi dan mekanisme penghindaran kekebalan, serta jalur perolehan nutrisi yang berlebihan. Semua tantangan ini mengancam

strategi langsung untuk menjelaskan korelasi perlindungan yang diharapkan (Tong, *et al.*, 2015).

Secara umum, antibodi penetral yang menghambat interaksi patogen dengan sel inang atau mendetofikasi faktor virulensi merupakan prinsip dominan dari perlindungan yang diberikan oleh vaksin. Misalnya, karena kolonisasi nasal, sebagian besar manusia dewasa memiliki tingkat antibodi yang tinggi terhadap berbagai antigen *Staphylococcus*, yang tampaknya memberikan perlindungan terhadap infeksi invasif oleh *Staphylococcus aureus*. Pendekatan vaksin klasik, yang menargetkan toksin *Staphylococcus aureus* untuk dinetralkan atau antigen permukaan untuk menghasilkan antibody opsonisasi, belum memberikan hasil yang memuaskan dalam uji klinis. Demikian pula, penargetan protein *Staphylococcus aureus* yang memiliki peran penting dalam interaksi inang-patogen, termasuk adhesi ke sel inang, pengikatan dan degradasi protein matriks ekstraseluler, penyerapan zat besi atau intervensi terhadap sistem fibrinolitik inang, tetap tidak berhasil. Yang dimana menunjukkan secara konsisten bahwa meskipun imunisasi dengan antigen *Staphylococcus aureus* umumnya menghasilkan titer antibodi yang tinggi, hal ini tidak memberikan perlindungan terhadap infeksi *Staphylococcus aureus* (Bennett & Thomsen, 2020).

Induksi respons antibodi bertiter tinggi oleh vaksin tidak selalu sejalan dengan perlindungan, bahkan dapat berakibat merugikan dengan menyebabkan peningkatan kekebalan penyakit, fenomena yang dikenal pada vaksin untuk patogen virus. Epitop sel-B linear pada protein prM virus dengue sebagai epitope sel-B imunodominan utama yang terlibat dalam peningkatan infeksi virus dengue yang bergantung pada antibodi. Meskipun peningkatan kekebalan yang diinduksi oleh vaksi belum menjadi masalah keamanan yang jelas dalam pengembangan vaksin *Staphylococcus aureus*, pemahaman tentang epito sel-B yang bersifat protektif, non-protektif, dan dapat meningkatkan penyakit menjadi strategi penting untuk pengembangan vaksin yang lebih baik. Penggunaan antibodi monoklonalk (mAb) untuk merancang vaksin yang baru. Antibodi monoclonal digunakan untuk membedakan antara epitope protektif dan non-protektif serta untuk mendukung desain yang imunofokus, vaksin yang berfokus pada epitope diharapkan dapat meningkatkan tingkat presisi imunogeniknya, sehingga menghasilkan vaksin dengan profil efikasi dan keamanan yang lebih baik. Epitope telah berhasil diterapkan dalam pengembangan vaksin untuk RSV, yang sebelumnya mengalami kesulitan dalam pengembangan vaskin (Ward & Wilson, 2020).

Staphylococcus aureus menargetkan dua protein, yaitu koproporfirinogen III dan oksidase (CgiX) dan triosa fosfat

isomerase (TPI), yang masing-masing memainkan peran penting dalam sintesis heme dan glikolisis. CgoX (EC:1. 3. 3. 15, juga dikenal sebagai HemY) mengkatalisis oksidasi koproporfinogen III menjadi koproporfin IX. Urutan asam amino yang identik terjaga untuk CgoX *Staphylococcus aureus* dan protoporphinogen oksidase yang terdaftar dalam data. Proses generasi protoporphin IX yang dimediasi oleh CgoX, tetapi bukan koproporfin III, distimulasi oleh HemQ yang terikat heme, yang dimediasi oleh superoksidasi. TPI berfungsi dalam mengkatalisis interkonversi reversible antara isomer trifosfat, dihidroksiaseton dan D-gliseraldehid 3-fosfat dan memiliki peran penting dalam glikolisis serta berkontribusi pada produksi energy yang efisien (Foster, J.T, 2019).

CgoX dan TPI sebelumnya telah teridentifikasi dalam kelompok protein dinding sel *Staphylococcus aureus* yang tidak memiliki jangkar. Lokasi permukaan CgoX dan TPI menunjukkan kemungkinan adanya fungsi tambahan di luar peran mereka dalam homeostatis seluler, sejalan dengan kelompok protein yang terikat secara kovalen pada dinding sel (CWA), yang beberapa diantaranya memiliki sifat multifungsi dan terlibat dalam pathogenesis *Staphylococcus aureus*. TPI khususnya telah memiliki aktivitas pengikatan plasminogen, yang mungkin terkait dengan invasi oleh *Staphylococcus*. Meskipun peran intraseluler CgoX dalam sintesis heme telah baik. Tindakan intraseluler CgoX dan TPI yang esensial

dan tidak melebihi dari yang diperlukan dalam homeostatis *Staphylococcus aureus* tidak dapat diakses oleh antibodi. Oleh karena itu, penargetan vaksin terhadap dugaan tindakan ekstraseluler tidak diharapkan dapat langsung memicu perkembangan muatan (Wilder, *et al.*, 2019).

B. Tinjauan Umum Media Kultur

3 Semua bentuk kehidupan, mulai dari mikroba hingga mikroorganisme, membutuhkan lingkungan yang sesuai untuk tumbuh dan berkembang secara optimal. Di laboratorium mikrobiologi, pertumbuhan mikroorganisme dilakukan dalam media yang mengandung nutrisi yang diperlukan oleh organisme tersebut (Cappuccino & Welsh, 2017; Madigan *et al.*, 2018).

Media kultur berfungsi sebagai standar emas (gold standard) dalam penegakan diagnosis pasti penyakit infeksi karena mampu mengisolasi patogen penyebab. Keterlambatan diagnosis dapat meningkatkan morbiditas dan mortalitas. Selain itu, kultur digunakan untuk menguji sifat fisiologis dan kuantifikasi mikroorganisme (Forbes *et al.*, 2016)

1
4 Mikroorganisme memanfaatkan nutrisi dalam media yang terdiri dari molekul-molekul kecil untuk membentuk struktur selnya. Setiap jenis mikroorganisme memiliki kebutuhan nutrisi yang berbeda, sehingga media kultur disesuaikan dalam bentuk dan komposisinya tergantung pada spesies yang akan ditumbuhkan. Melalui media kultur

ini, mikroorganisme dapat dikenali atau diidentifikasi. Identifikasi tersebut dapat dilakukan melalui pemeriksaan mikroskopis, baik dengan pewarnaan maupun tanpa pewarnaan setelah dilakukan teknik pulasan bakteri (Ayu Yasmini, 2023).

Media kultur yang ideal adalah media yang mudah diracik, ekonomis, praktis dalam proses pembuatannya, serta fleksibel untuk digunakan dalam berbagai prosedur mikrobiologi. Media ini tersedia dalam bentuk cair, semi-padat, maupun padat, tergantung pada keperluan laboratorium (Madigan et al., 2018).

1. Pengertian

Kultur adalah suatu metode yang dilakukan secara *in vitro* untuk menumbuhkan mikroorganisme atau sel dengan menggunakan media nutrisi yang sesuai dalam kondisi laboratorium. Media kultur ini mengandung kombinasi zat gizi yang diperlukan untuk menunjang pertumbuhan dan reproduksi mikroorganisme. Nutrisi yang tersedia di dalam media akan dimanfaatkan oleh mikroorganisme dalam bentuk molekul-molekul kecil, yang selanjutnya digunakan untuk membentuk struktur dan komponen seluler (Ayu Yasmini, 2023).

Media kultur memungkinkan dilakukannya isolasi dan identifikasi mikroorganisme guna mendapatkan kultur yang murni. Karena setiap spesies bakteri memiliki kebutuhan nutrisi yang berbeda, maka komposisi media dapat disesuaikan secara spesifik.

Oleh sebab itu, berbagai variasi media telah dikembangkan dan secara luas dimanfaatkan dalam praktik diagnostik mikrobiologi klinis (Forbes et al., 2016; Madigan et al., 2018).

2. Manfaat

Pembuatan media kultur mikroorganisme bertujuan untuk menyediakan campuran nutrisi yang seimbang agar mikroorganisme dapat tumbuh secara optimal. Media ini berfungsi sebagai lingkungan buatan yang meniru kondisi alami yang diperlukan untuk mendukung aktivitas metabolisme dan reproduksi mikroorganisme. Selain sebagai tempat tumbuh, media kultur juga dianggap sebagai standar emas dalam menegakkan diagnosis pasti penyakit infeksi. Media ini dapat digunakan untuk mengisolasi mikroorganisme, menguji karakteristik fisiologisnya, serta menghitung jumlah mikroorganisme dalam sampel laboratorium (Forbes et al., 2016; Madigan et al., 2018).

3. Ciri-Ciri dan Kriteria Media Kultur yang Efektif

Media kultur yang baik harus memiliki sejumlah karakteristik penting. Pertama, media tersebut harus mampu mendukung pertumbuhan mikroorganisme meskipun hanya diinokulasikan dalam jumlah sangat kecil, bahkan dari satu sel tunggal. Selain itu, media kultur ideal perlu mendukung pertumbuhan mikroorganisme dengan cepat, mudah disiapkan, dan ekonomis. Media ini juga harus

mampu menampilkan ciri-ciri spesifik yang diharapkan selama proses pertumbuhan mikroorganisme (Prescott et al., 2021).

Media kultur harus memenuhi syarat utama, yaitu mengandung komponen yang diperlukan oleh mikroorganisme dalam takaran yang tepat. Media sebaiknya menyediakan sumber energi, makronutrien, mikronutrien, vitamin, serta memiliki tingkat pH yang sesuai untuk mendukung pertumbuhan. Selain itu, sterilitas media juga menjadi hal yang penting guna memastikan bahwa mikroorganisme yang ditumbuhkan dapat berkembang menjadi kultur murni tanpa kontaminasi.

Berikut adalah beberapa persyaratan media kultur (Ayu Yasmini, 2023):

a. Menyediakan Energi

1 Energi sangat penting untuk mendukung pertumbuhan bakteri, dan umumnya diperoleh melalui proses oksidasi senyawa organik yang terkandung dalam media, seperti karbohidrat dan protein.

b. Menyediakan Sumber Karbon (C)

1 Karbon merupakan unsur esensial yang biasanya diperoleh dari senyawa organik seperti protein dan karbohidrat. Sumber protein dalam media dapat berupa pepton atau ekstrak daging, sedangkan karbohidrat bisa berupa glukosa, laktosa, maupun sukrosa.

c. Menyediakan Sumber Nitrogen (N)

Nitrogen dibutuhkan untuk sintesis komponen sel, dan dapat disuplai melalui dua jenis sumber: anorganik seperti amonium nitrat (NH_4NO_3) atau amonium sulfat ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), serta sumber organik seperti pepton, protein, atau asam amino

d. Menyediakan garam

e. Memiliki pH yang sesuai

Derajat keasaman atau pH biasanya bersifat netral, meskipun ada juga yang bersifat alkali.

f. Memiliki oksidasi yang cukup

g. Memiliki suhu yang sesuai

h. Memiliki tekanan osmose yang sesuai media (harus isotonic).

i. Mengandung faktor pertumbuhan.

Dengan memenuhi semua persyaratan tersebut, media kultur dapat berfungsi secara optimal dalam menumbuhkan mikroorganisme yang diinginkan.

4. Bahan - Bahan Media Kultur

a. Bahan Dasar (Ayu Yasmini, 2023) :

1) Air (H_2O)

Air merupakan komponen penting dalam media kultur karena berfungsi mempertahankan kelembapan, memfasilitasi proses metabolisme dan pertukaran zat, serta bertindak

3 sebagai pelarut bagi nutrisi yang diperlukan oleh mikroorganisme untuk tumbuh dan berkembang.

2) Agar – agar yang berasal dari rumput laut

Agar digunakan sebagai agen pematat dalam media kultur. Zat ini umumnya tidak mudah diuraikan oleh sebagian besar mikroorganisme dan memiliki titik leleh sekitar 45°C

3) Gelatin

131 Gelatin berperan sebagai pematat media seperti halnya agar. Zat ini merupakan polimer yang tersusun dari asam amino dan berasal dari kolagen. Namun, kelemahan gelatin dibandingkan agar adalah lebih banyak jenis mikroorganisme yang mampu menguraikannya.

4) Silika Gel

3 Silika gel merupakan bahan yang mengandung senyawa natrium silikat dan digunakan sebagai agen pematat dalam media kultur. Bahan ini umumnya dimanfaatkan untuk memadatkan media yang ditujukan bagi pertumbuhan mikroorganisme autotrof obligat.

a. Unsur Hara atau Bahan Zat Makanan

8 Media kultur harus mengandung berbagai elemen penting yang diperlukan untuk mendukung aktivitas metabolisme dan pertumbuhan sel mikroorganisme. Elemen-elemen tersebut meliputi makronutrien seperti karbon (C), hidrogen (H), oksigen

(O), nitrogen (N), dan fosfor (P), serta mikronutrien seperti besi (Fe), magnesium (Mg), dan sejumlah unsur jejak lainnya (Madigan et al., 2018).

1) Sumber Karbon dan Energi

Mikroorganisme memperoleh karbon dan energi dari senyawa organik atau anorganik, tergantung pada sifat fisiologisnya. Mikroba heterotrof memanfaatkan senyawa organik sebagai sumber karbon, yang dapat berasal dari karbohidrat, lemak, protein, maupun asam organik.

2) Penyedia Nitrogen

Nitrogen dapat diperoleh dari berbagai senyawa organik seperti asam amino, protein, maupun senyawa lain yang mengandung nitrogen. Selain itu, beberapa jenis mikroorganisme juga mampu menggunakan nitrogen dari sumber anorganik, seperti urea.

3) Kebutuhan Vitamin

Vitamin berperan dalam mengaktifkan kerja enzim dalam sel mikroorganisme. Sebagian besar spesies mikroba mampu memproduksi vitamin yang dibutuhkannya sendiri. Namun, beberapa jenis vitamin yang umum digunakan dalam media kultur meliputi vitamin B, vitamin B6, vitamin C, serta kelompok vitamin B kompleks.

b. Komponen Tambahan

Komponen tambahan dalam media kultur merupakan zat yang ditambahkan dengan tujuan tertentu. Misalnya, indikator pH seperti phenol red digunakan untuk mendeteksi perubahan tingkat keasaman akibat pembentukan asam organik selama aktivitas metabolik mikroorganisme. Selain itu, penambahan antibiotik dapat berfungsi untuk menekan pertumbuhan mikroba yang tidak diinginkan atau mencegah kontaminasi, sehingga membantu proses isolasi mikroorganisme target secara lebih selektif (Cappuccino & Welsh, 2017).

5. Pengelompokan Media Kultur

Media kultur dapat dibedakan berdasarkan bentuk fisiknya, kandungan atau komposisi kimianya, serta tujuan atau fungsi penggunaannya (Ayu Yasmini, 2023).

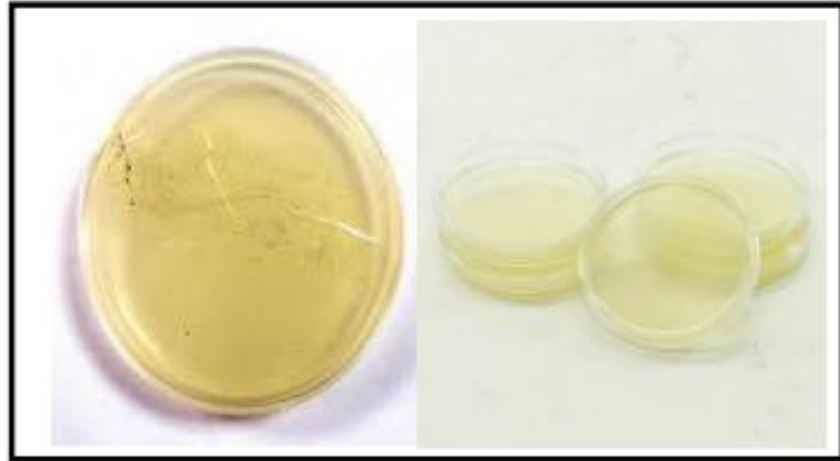
a. Berdasarkan Bentuk

Berdasarkan bentuk fisiknya, media kultur dibagi menjadi tiga jenis yang diklasifikasikan berdasarkan ada atau tidaknya bahan pematat, seperti agar atau gelatin. Adapun jenis-jenis media tersebut adalah sebagai berikut:

1) Media Padat

Media padat adalah media yang mengandung agar sebanyak 15%, sehingga setelah didinginkan, media tersebut akan mengeras. Contoh media padat adalah Nutrient Agar.

Media padat umumnya digunakan untuk pertumbuhan bakteri, ragi, jamur, dan kadang-kadang mikroalga.

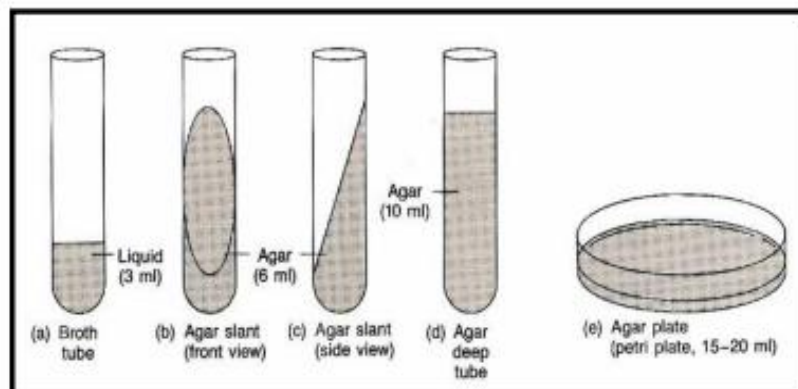


Gambar 2.8 Media Padat (*Nutrient Agar*)
(Ayu Yasmini, 2023)

Media padat dapat dibedakan menjadi tiga jenis berdasarkan bentuk dan wadah penggunaannya, yaitu :

a) Media Tegak

Media tegak menggunakan tabung reaksi yang diletakkan secara tegak sebagai wadah.



Gambar 2.9 Media tegak, media miring, dan media lempeng (Ayu Yasmini, 2023)

b) Media Miring

Media miring menggunakan tabung reaksi yang diletakkan dengan posisi miring.

c) Media Lempeng

Media lempeng menggunakan petridish (piring), sebagai wadahnya.

2) Media Semi Padat

Media semi padat mengandung agar 0,3–0,4% sehingga bertekstur kenyal namun tidak sepenuhnya padat. Media ini dirancang untuk mendukung penyebaran mikroorganisme tanpa pencampuran sempurna saat terguncang, membatasi difusi oksigen, serta menciptakan kondisi anaerob. Cocok untuk mikroba yang memerlukan kelembapan tinggi, hidup tanpa oksigen, dan untuk mengamati pergerakannya. Sebagai contoh, bakteri yang ditanam pada media semi padat NfB (*Nitrogen-free Bromthymol Blue*) akan membentuk cincin hijau kebiruan di bawah permukaan, yang akan mudah rusak jika media berbentuk cair.

3) Media Cair

Media cair merupakan jenis media yang tidak mengandung zat pemat, dan biasanya dimanfaatkan untuk mendukung pertumbuhan mikroba. Beberapa contoh media

1 cair yang umum digunakan antara lain *Nutrient Broth* (NB) dan *Lactose Broth* (LB).

Keunggulan media cair:

- a) Memfasilitasi pertumbuhan bakteri yang berasal dari sampel seperti darah atau air, terutama ketika diperlukan volume besar untuk analisis.
- b) Digunakan sebagai media awal dalam pembuatan kultur yang akan dimanfaatkan untuk produksi antigen atau vaksin.
- c) Bermanfaat dalam pengamatan kecepatan pertumbuhan serta proses pengendapan sel bakteri.

Kelemahan media cair:

- a) Sulit untuk mengisolasi jenis bakteri yang berbeda dari populasi campuran.
- b) Menyulitkan studi mengenai karakteristik koloni.



Gambar 2.10 Media cair, semi solid, dan media padat (Ayu Yasmini, 2023).

b. Berdasarkan Kandungan

Berdasarkan kandungannya, media kultur dapat dikategorikan ke dalam tiga jenis, yaitu (Ayu Yasmini, 2023):

1) Media Alami/Non Sintetis

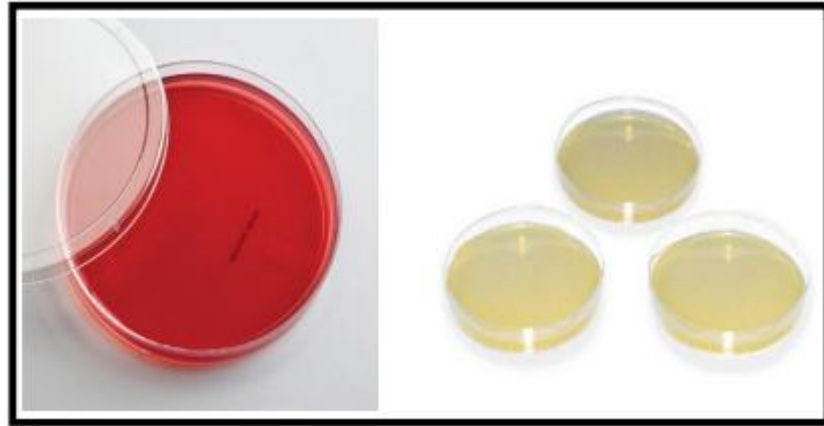
Media ini dibuat dari bahan-bahan alami dengan komposisi yang tidak dapat ditentukan secara pasti karena berasal langsung dari ekstrak sumber alami seperti kentang, daging, telur, ikan, tepung, atau sayuran. Contoh media yang termasuk dalam kategori ini antara lain *Tomato Juice Agar*, *Brain Heart Infusion Agar*, dan *Pancreatic Extract*.

2) Media Semi Sintesis

Media ini tersusun dari campuran bahan alami dan bahan kimia sintetis. Salah satu contohnya adalah *Potato Dextrose Agar* (PDA), yang mengandung agar, dekstrosa, dan ekstrak kentang. Meskipun demikian, kandungan kimiawi dalam ekstrak kentang tidak dapat diketahui secara rinci.

3) Media Sintesis

Media ini dirancang menggunakan senyawa kimia dengan komposisi serta konsentrasi yang telah diketahui secara tepat. Beberapa contoh dari media sintetik ini antara lain *Mac Conkey Agar* dan *Glucose Agar*.



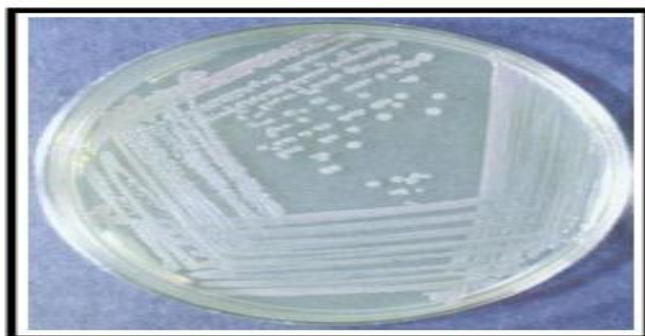
Gambar 2.11 Media Sintesis (A=Mac Conkey Agar, B= Glucose Agar) (Ayu Yasmini, 2023)

c. Berdasarkan Fungsi.

Media kultur dapat dikelompokkan menurut fungsinya dan lazim digunakan dalam berbagai prosedur mikrobiologi di laboratorium, yang mencakup beberapa jenis berikut (Ayu Yasmini, 2023):

1) Media Basal (Media Dasar)

Media basal berfungsi sebagai media dasar untuk meracik media yang lebih kompleks dan mampu mendukung pertumbuhan berbagai jenis mikroorganisme. Contohnya adalah *nutrient broth* dan *peptone broth*.



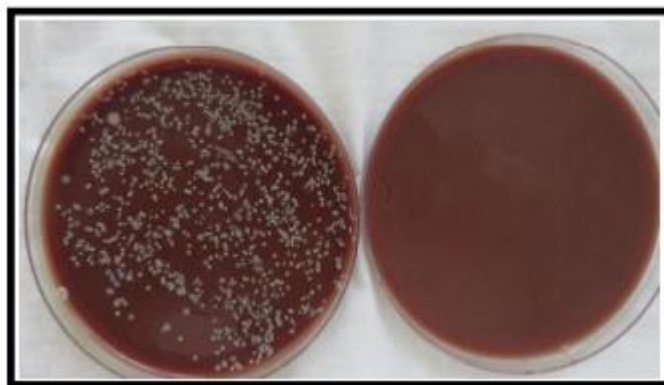
Gambar 2.12 Media basal (*Nutrient Agar*) (Ayu Yasmini, 2023).

2) Media Non Selektif

Media non-selektif berfungsi mendukung pertumbuhan berbagai jenis mikroorganisme dengan laju pertumbuhan yang relatif cepat. Contohnya adalah *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) dan *Nutrient Agar*, yang digunakan untuk memperbanyak mikroba sebelum proses identifikasi dilakukan.

3) Media Selektif

Media selektif diformulasikan untuk mendukung pertumbuhan mikroorganisme tertentu sekaligus menghambat mikroba lain. Selektivitas ini diperoleh melalui penambahan bahan seperti gula tunggal sebagai sumber karbon, pewarna, antibiotik, garam, atau senyawa penghambat spesifik yang memengaruhi metabolisme atau enzim mikroba. Contoh media selektif meliputi *Thayer Martin agar* dan *Lowenstein Jensen agar* (Ayu Yasmini, 2023).



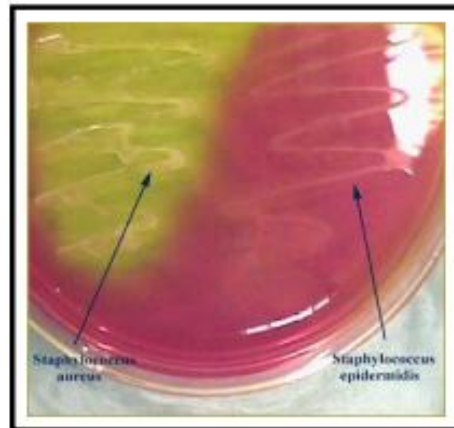
Gambar 2.13 Thayer Martin Agar Positif *N.gonorrhoea* (Ayu Yasmini, 2023).



Gambar 2.14 Lowenstein Jensen agar positif *Mycobacterium tuberculosis* (Ayu Yasmini, 2023).

4) Media Diferensial

Media diferensial digunakan untuk membedakan organisme yang memiliki kekerabatan erat. Kandungan zat pewarna atau bahan kimia tertentu dalam media dapat menyebabkan perubahan pada sifat atau pola pertumbuhan mikroorganisme, seperti perbedaan warna atau bentuk koloni. Perubahan ini menjadi indikator penting dalam proses identifikasi. Contoh media diferensial meliputi *Mannitol Salt Agar* (MSA), *MacConkey Agar*, *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA), *Hektoen Enteric* (HE) agar, *Xylose-Lysine-Desoxycholate* (XLD) agar, dan *Blood Agar* (Ayu Yasmini, 2023).



Gambar 2.15 Media diferensial (Mannitol Salt Agar)
(Ayu Yasmini, 2023)

5) Media Diperkaya

Media diperkaya merupakan jenis media yang diformulasikan dengan menambahkan zat gizi tertentu guna meningkatkan pertumbuhan mikroorganisme fastidious, yaitu mikroba yang memerlukan nutrisi khusus. Media ini membantu mikroorganisme yang sulit tumbuh pada media biasa untuk berkembang dengan optimal. Umumnya digunakan dalam isolasi mikroba patogen dari sampel klinis. Contoh media diperkaya antara lain *Blood Agar* dan *Chocolate Agar* (Ayu Yasmini, 2023).



Gambar 2.16 Alkali Pepton Water (Ayu Yasmini, 2023).

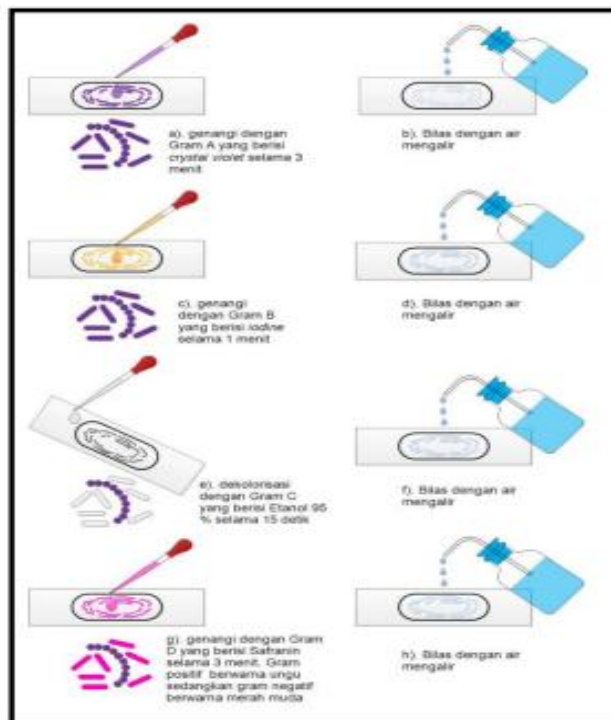
6. Pewarnaan Pulasan Bakteri

Isolat yang telah dikultur dapat diidentifikasi melalui mikroskop cahaya, baik dengan atau tanpa teknik pewarnaan. Namun, tanpa pewarnaan, pengamatan menjadi lebih menantang karena sebagian besar sel bakteri bersifat transparan atau setengah tembus cahaya, sehingga struktur sel sulit dikenali. Sebaliknya, pewarnaan mempermudah visualisasi dan memungkinkan struktur mikroba diamati dengan lebih jelas dan detail. Pewarnaan ini memiliki berbagai fungsi penting dalam proses identifikasi (Ayu Yasmini, 2023):

- a. Memberikan pewarnaan pada sel atau komponen tertentu di dalamnya untuk meningkatkan kontras dan mempermudah pengamatan mikroskopis.
- b. Memperlihatkan struktur internal sel secara lebih rinci.
- c. Membantu membedakan jenis mikroorganisme yang berbeda.
- d. Digunakan untuk mengidentifikasi pH serta potensi redoks di dalam dan di luar sel. Salah satu teknik pewarnaan yang paling umum digunakan dalam bakteriologi adalah pewarnaan Gram.

Pewarnaan Gram merupakan metode pewarnaan diferensial yang berfungsi untuk membedakan bakteri menjadi dua kelompok utama, yakni Gram positif dan Gram negatif. Teknik ini melibatkan lebih dari satu jenis pewarna untuk membedakan karakteristik dinding sel bakteri. Prosedurnya terdiri dari tiga tahap utama. Tahap

pertama adalah pewarnaan seluruh sel dengan pewarna utama (primary stain). Selanjutnya, dilakukan proses dekolorisasi untuk menghilangkan warna dari sebagian jenis sel. Tahap terakhir adalah penambahan pewarna pembanding (counterstain) yang akan mewarnai sel yang telah kehilangan warna sebelumnya, sementara tidak memengaruhi sel yang masih mempertahankan warna dari pewarna utama. Hasilnya, dua kelompok bakteri akan tampak dengan warna yang berbeda: satu berwarna sesuai pewarna utama, dan yang lainnya sesuai pewarna pembanding (Ayu Yasmini, 2023).



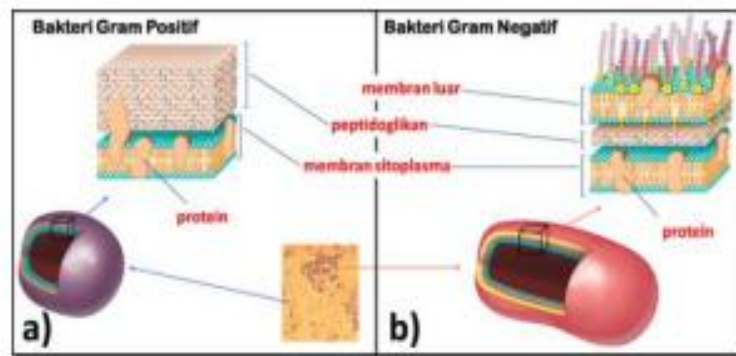
Gambar 2.17 Prosedur Pewarnaan Gram (Ayu Yasmini, 2023).

Prosedur pengecatan Gram dijelaskan pada Gambar 2.17. Langkah pertama melibatkan pemberian kristal violet dari larutan Gram A sebagai pewarna utama, yang akan mewarnai seluruh sel

bakteri menjadi ungu. Langkah kedua yaitu penambahan larutan Gram B yang mengandung iodine, berfungsi sebagai mordant untuk memperkuat ikatan antara kristal violet dan dinding sel bakteri, sehingga warna lebih melekat dan tidak mudah hilang. Tahap selanjutnya adalah dekolorisasi menggunakan etanol 95% (Gram D). Pada tahap ini, bakteri Gram positif tetap mempertahankan warna ungu karena kompleks kristal violet-iodine tetap terikat kuat pada dinding selnya yang tebal. Sebaliknya, bakteri Gram negatif kehilangan warna karena struktur dinding selnya yang lebih tipis tidak mampu mempertahankan pewarna. Terakhir, diberikan pewarna pembanding berupa safranin (juga dalam larutan Gram D), yang akan mewarnai bakteri Gram negatif menjadi merah muda, sementara bakteri Gram positif tetap berwarna ungu. Dengan cara ini, hasil pewarnaan Gram memperlihatkan dua kelompok bakteri yang dapat dibedakan berdasarkan warna: Gram positif berwarna ungu dan Gram negatif berwarna merah muda (Ayu Yasmini, 2023).

Variasi warna yang tampak setelah proses pewarnaan Gram sangat dipengaruhi oleh struktur dinding sel yang berbeda antara bakteri Gram positif dan Gram negatif (lihat Gambar 2.18). Bakteri Gram positif memiliki dinding sel dengan lapisan peptidoglikan yang tebal serta mengandung asam teikoat (teichoic acids) yang tertanam di dalamnya. Sebaliknya, dinding sel bakteri Gram negatif hanya memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis, tanpa kandungan asam

teikoat, tetapi dilengkapi dengan membran luar yang tersusun atas lipopolisakarida. Ketebalan lapisan peptidoglikan dan adanya asam teikoat pada Gram positif membuat ikatan antara kristal violet dan iodine menjadi sangat kuat, sehingga tidak mudah larut saat dilakukan dekolorisasi menggunakan etanol. Sementara itu, pada Gram negatif, membran luarnya tidak mampu mempertahankan kompleks pewarna tersebut, sehingga warna utama mudah hilang selama tahap pencucian (Ayu Yasmini, 2023).



Gambar 2.18 Perbedaan Struktur Dinding Sel Bakteri (Ayu Yasmini, 2023).

Ketika larutan dekolorisasi diaplikasikan, lapisan luar pada sel bakteri Gram negatif akan mengalami pelarutan, menyebabkan kristal violet sebagai pewarna utama ikut terangkat. Akibatnya, sel Gram negatif kehilangan warna ungu yang sebelumnya terbentuk dan akan menyerap pewarna kedua pada tahap selanjutnya. Sementara itu, sel Gram positif tetap mempertahankan warna ungu karena pewarna utama tetap melekat pada dinding selnya. Dengan demikian, hasil akhir dari proses pewarnaan Gram menunjukkan bahwa bakteri Gram positif berwarna ungu, sedangkan Gram negatif

tampil dengan warna merah muda karena terwarnai oleh safranin sebagai counterstain (Ayu Yasmini, 2023).

7. Pengendalian Mutu Media Pertumbuhan Mikroorganisme

Quality control merupakan serangkaian langkah yang dilakukan oleh laboratorium untuk memastikan bahwa hasil pemeriksaan yang dihasilkan memiliki mutu yang dapat dipercaya. Proses penjaminan mutu mencakup semua tahap pemeriksaan, mulai dari fase pra-analitik, analitik, hingga pasca-analitik.

Banyak laboratorium biasanya menyusun sendiri media kultur yang digunakan, baik untuk kegiatan diagnostik rutin maupun keperluan penelitian, dengan tujuan menjamin kualitas media yang digunakan serta memperoleh hasil yang valid. Oleh karena itu, penerapan sistem manajemen mutu yang tepat sangat penting. Media yang telah diracik harus dievaluasi terlebih dahulu berdasarkan sejumlah parameter penting sebelum dipakai, guna memastikan bahwa media tersebut memenuhi syarat kelayakan (Ayu Yasmini, 2023):

a. Parameter Sterilisasi

Sterilisasi adalah parameter krusial dalam kontrol mutu media kultur, biasanya dilakukan dengan autoklaf. Waktu sterilisasi harus dikendalikan dengan tepat karena pemanasan berlebihan dapat merusak nutrisi media akibat reaksi antar komponen atau degradasi zat penting bagi mikroorganisme.

b. Parameter Bentuk Fisik

Parameter bentuk dinilai dari kondisi tampilan media, yang harus bersih dan bebas kotoran. Media juga harus memiliki permukaan rata tanpa gelembung atau lubang berlebih, pengisian plat seragam, serta tidak menunjukkan retak saat membeku atau mengalami kristalisasi.

c. Parameter Mikrobiologi

Parameter mikrobiologi berfokus pada kemampuan media mendukung pertumbuhan mikroba dengan karakteristik spesifik. Untuk itu, prosedur inokulasi standar harus diterapkan. Evaluasi dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif, dengan membandingkan hasil pertumbuhan dari batch media baru dan batch sebelumnya secara bersamaan.

d. Parameter Cemar

Parameter ini krusial dalam menjamin mutu media, karena bertujuan mendeteksi potensi kontaminasi pada setiap batch sebelum digunakan. Setiap batch harus disimpan pada suhu ruang minimal tiga hari, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, media diperiksa untuk memastikan tidak ada pertumbuhan mikroba. Jika ditemukan kontaminasi, uji harus diulang. Apabila kontaminasi tetap terjadi, batch tersebut dianggap tidak layak pakai.

8. Tahapan Pemeriksaan Kultur Bakteri *Staphylococcus aureus*

47 Terdapat beberapa metode untuk mengidentifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*. Bakteri ini dapat tumbuh pada suhu 35°C, dengan rentang pertumbuhan antara 15°C hingga 40°C, di mana suhu optimal untuk pertumbuhannya adalah 35°C. *Staphylococcus aureus* dapat berkembang biak di lingkungan yang hanya mengandung hidrogen, dan dengan pH yang ideal sebesar 7,4, bakteri ini juga dapat tumbuh secara anaerob. Koloni yang terbentuk pada media agar umumnya berwarna kuning keemasan, berbentuk bulat dengan diameter 1-2 mikron, serta memiliki ciri cembung, buram, mengkilat, dan tekstur yang lembut. Untuk mengidentifikasi *Staphylococcus aureus*, bakteri tersebut dapat ditanam pada media MSA (Manitol Salt Agar) dan diuji menggunakan katalase (Ayu Yasmini, 2023).

8 a. Pengujian MSA

52 Mikroorganisme tersebar luas di lingkungan, termasuk di tanah, air, makanan, serta di dalam tubuh makhluk hidup. Salah satu jalur penularannya adalah melalui kontaminasi terhadap media yang sebelumnya steril, yang bisa terjadi akibat kontak dengan udara, air, tangan, atau pernapasan. Mikroorganisme yang masuk ke media akan tumbuh dan berkembang, dan dapat diamati dalam bentuk koloni.

Patogen *Staphylococcus aureus* dapat diidentifikasi melalui media selektif MSA (Mannitol Salt Agar). Bakteri tertentu, seperti *Staphylococcus epidermidis* yang bersifat gram positif, hanya dapat tumbuh di media ini. Hal ini disebabkan oleh kandungan mannitol, indikator fenol merah, dan 7,5-10% garam natrium klorida dengan konsentrasi tinggi pada media MSA. Proses fermentasi mannitol yang dilakukan oleh *Staphylococcus aureus* menyebabkan perubahan warna media dari merah menjadi kuning (Ayu Yasmini, 2023).

b. Uji Katalase

Uji ini digunakan untuk membedakan antara *Staphylococcus sp.* dan *Streptococcus sp.* Hasil positif dari uji ini menunjukkan bahwa *Staphylococcus* menghasilkan gelembung gas (O_2). Bakteri yang dikultur dalam larutan H_2O_2 digunakan untuk menguji keberadaan enzim katalase. Bakteri dengan hasil katalase positif akan menunjukkan pembentukan gelembung pada preparat (Ayu Yasmini, 2023).

c. Teknik Streak Plate

Metode Streak Plate merupakan suatu teknik yang digunakan untuk menumbuhkan mikroba yang terdapat dalam suspensi. Proses ini dilakukan dengan cara mengoleskan sampel yang telah diambil ke dalam media MSA menggunakan gerakan

134 zig-zag. Tujuan dari metode ini adalah untuk memungkinkan sel-
35 sel mikroba memperluas area pertumbuhan koloni bakterial.

35 Setelah proses penanaman, cawan petri diinkubasi selama
24 jam. Selanjutnya, koloni yang terbentuk diamati pada masing-
masing cawan petri. Sekelompok bakteri yang memiliki morfologi
34 serupa disebut sebagai koloni. Beberapa aspek morfologi yang
perlu diperhatikan dalam pengamatan koloni meliputi:

- 1) Bentuk koloni: Koloni dapat memiliki bentuk yang teratur (circular), tidak teratur (irregular), atau seperti titik (punctiform).
- 2) Bentuk pinggiran koloni: Pinggiran koloni dapat bervariasi, antara lain halus dan teratur (entire), berfilamen (filamentous), bergelombang (undulate), atau bercabang (rhizoid).
- 3) Tekstur koloni: Tekstur koloni dapat bervariasi, seperti lembab (moist), berlendir (mucoid), atau kering.
- 4) Warna koloni: Koloni dapat memiliki tampilan mengkilap (shiny), buram (opaque), atau pucat.

Pengamatan yang cermat terhadap karakteristik ini sangat penting dalam identifikasi dan analisis mikroba yang diuji.

d. Pengecatan Gram

34 Melalui penggunaan pewarna Gram, bakteri dapat dikelompokkan ke dalam kategori gram positif dan gram negatif. Bakteri gram negatif ditandai dengan warna merah, sementara bakteri gram positif memperoleh warna ungu (Amin et al. 2023).

Pewarnaan Gram berfungsi untuk mengamati sifat gram dan morfologi bakteri. Teknik pengecatan Gram ini digunakan untuk membedakan jenis-jenis bakteri. Proses ini pertama kali diperkenalkan oleh Hans Christian Gram pada tahun 1884. Mikroorganisme hanya dapat diobservasi menggunakan mikroskop dan diwarnai agar terlihat lebih jelas (Hayati et al., 2019).

9. Kekurangan dan Kelebihan Kultur Bakteri

Bakteri merupakan komponen yang sangat penting dalam ekosistem. Kehadiran bakteri memiliki peranan yang krusial bagi kesehatan dan lingkungan kita, serta berkontribusi secara signifikan dalam produksi pangan. Selain itu, bakteri juga menyediakan sarana bagi para ahli biologi untuk memanfaatkan berbagai sifat yang dimilikinya dalam proses produksi senyawa-senyawa tertentu. Namun demikian, bakteri juga berpotensi menimbulkan bahaya, yang dapat mengakibatkan kerusakan serta penyakit. Oleh karena itu, kemampuan untuk melakukan kultur mikroba ini menjadi langkah yang sangat penting untuk memanfaatkan keunggulannya, mengidentifikasi patogen yang berbahaya, serta meningkatkan pemahaman dan kemampuan kita dalam bidang ini. Dalam artikel ini, kami akan membahas pengertian kultur bakteri, faktor-faktor yang memengaruhi kondisi kultur, masalah umum yang sering

muncul, serta sejumlah aplikasi yang dimungkinkan dari teknologi ini.

Adapun kekurangan dan kelebihan dari kultur bakteri, yaitu (Putri dkk., 2018):

a. Kurangan Kultur Bakteri

- 1) Terbatas jika digunakan untuk mendeteksi mikroorganisme yang tidak diketahui dalam spesimen.
- 2) Kontaminasi kultur bakteri dapat terjadi.
- 3) Beberapa spesies bakteri tumbuh dengan mudah dan cepat.

b. Kelebihan Kultur Bakteri

- 1) Dapat mengetahui keberadaan patogen tertentu.
- 2) Dapat mempelajari virulensi, kerentanan antibiotic dan urutan genom bakteri.
- 3) Dapat membantu memahami dan pengobatan penyakit yang disebabkan oleh bakteri.

C. Tinjauan Tentang *Polymerase Chain Reaction (PCR)*

Reaksi Rantai Polimerase (PCR) merupakan teknik enzimatik yang digunakan untuk menggandakan fragmen DNA secara in vitro.

Proses ini memerlukan beberapa komponen utama, yaitu: DNA template yang akan diperbanyak; primer oligonukleotida pendek (sekitar 15–25 basa) yang berfungsi sebagai titik awal sintesis DNA; dNTP (deoksiribonukleotida trifosfat) yang meliputi dATP, dCTP, dGTP, dan dTTP sebagai bahan baku pembentukan DNA baru; serta

enzim DNA polimerase yang berperan dalam proses sintesis rantai DNA. Selain itu, diperlukan pula buffer PCR dan magnesium klorida (MgCl_2) sebagai komponen pendukung reaksi (Deng Y, et al., 2019).

Kelebihan metode PCR terletak pada tingkat spesifisitas, efisiensi, dan akurasi yang tinggi. Spesifisitas diperoleh dari kemampuannya untuk memperbanyak fragmen DNA secara selektif melalui siklus-siklus tertentu. Akurasi PCR didukung oleh kerja DNA polimerase yang memiliki kemampuan koreksi kesalahan, sehingga menekan terjadinya kesalahan saat proses amplifikasi berlangsung. Selain itu, PCR mampu menggandakan fragmen DNA berukuran 110 bp (5×10^{-9} mol) hingga mencapai 200.000 kali lipat hanya dalam 20 siklus reaksi yang berlangsung selama 220 menit. Proses ini juga sangat efisien karena hanya memerlukan jumlah sampel dan reagen yang minimal, serta tidak memerlukan tahap pemurnian DNA cetakan sebelum digunakan (Deng Y, et al., 2019).

Pemilihan primer yang tepat merupakan faktor krusial dalam mendukung keberhasilan deteksi molekuler berbasis PCR, karena primer berfungsi sebagai pemicu utama proses amplifikasi DNA. Penggunaan primer spesifik memungkinkan identifikasi gen target bakteri patogen secara cepat, sensitif, dan mudah diterapkan dalam kegiatan diagnostik rutin. Meskipun demikian, PCR memiliki beberapa keterbatasan, di antaranya biaya yang masih relatif tinggi dan ketidakmampuannya dalam membedakan DNA yang berasal dari

mikroorganisme hidup atau mati—sehingga baik antigen aktif maupun pasif tetap terdeteksi. Proses PCR dijalankan dengan bantuan alat termosiklus, yakni perangkat yang secara otomatis mengatur suhu pemanasan dan pendinginan tabung reaksi sesuai kebutuhan setiap tahapan reaksi. Metode ini terdiri atas tiga tahap utama yang berlangsung secara berulang selama 30 hingga 40 siklus, bergantung pada konsentrasi DNA target dalam campuran reaksi. Hasil akhir dari proses ini adalah DNA beruntai ganda dalam jumlah yang jauh lebih banyak dibandingkan dengan DNA awal (Deng Y, et al., 2019) :

1. Denaturasi

Denaturasi DNA merupakan tahap awal dalam proses PCR, di mana rantai ganda DNA dipisahkan menjadi dua untai tunggal. Jika proses denaturasi tidak berlangsung secara sempurna, maka renaturasi atau penyatuan kembali untai ganda dapat terjadi, yang berpotensi menyebabkan kegagalan amplifikasi DNA. Enzim Taq polymerase, yang digunakan dalam PCR, memiliki ketahanan panas tertentu, dengan waktu paruh lebih dari 2 jam pada suhu 92,5°C, 40 menit pada suhu 95°C, dan hanya 5 menit pada suhu 97,5°C. Oleh karena itu, durasi denaturasi yang terlalu lama dapat menurunkan aktivitas enzim ini secara signifikan, sehingga memengaruhi efisiensi reaksi PCR.

2. Annealing

Suhu yang digunakan dalam tahap penempelan (annealing) pada PCR bervariasi tergantung pada karakteristik primer yang digunakan. Umumnya, temperatur annealing berada dalam kisaran 36°C hingga 72°C, dengan rentang paling umum antara 50°C hingga 60°C. Perbedaan suhu ini dipengaruhi oleh panjang pasangan basa dalam primer serta kandungan basa guanin-sitosin (G-C). Semakin panjang primer dan semakin tinggi kandungan G-C-nya, maka semakin tinggi pula suhu yang dibutuhkan untuk proses penempelan yang optimal.

3. Ekstensi (Panjang Rantai DNA)

Pada tahap ini, DNA polimerase memperpanjang rantai DNA dengan menambahkan dNTP ke ujung primer. Suhu pada tahap ini biasanya antara 72°C yang optimal untuk enzim Taq polimerase. Proses ini berlangsung dengan cepat, menghasilkan amplifikasi dari target DNA yang diinginkan.

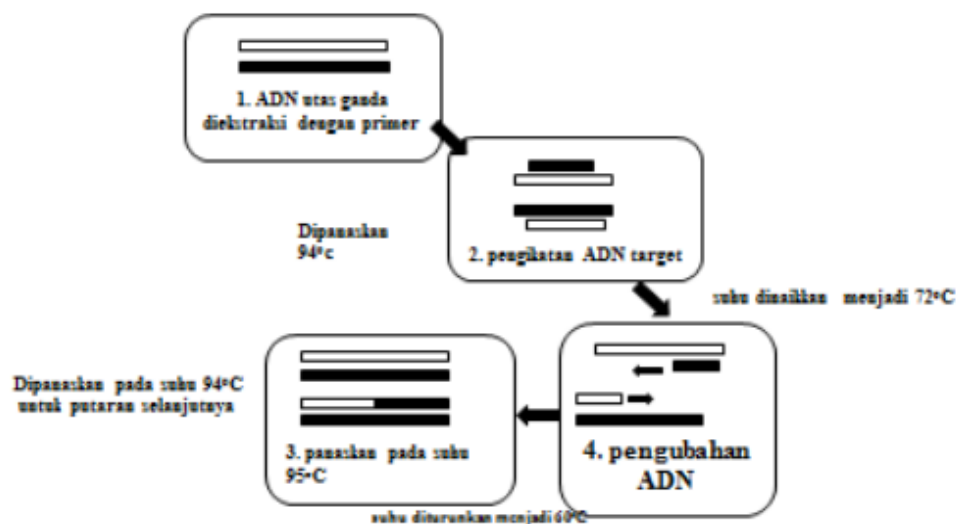
Demikianlah penjelasan mengenai proses dan komponen yang terlibat dalam teknik PCR yang memiliki aplikasi luas dalam berbagai bidang penelitian dan diagnosis. Penggunaan prinsip dalam merancang primer yang efektif meliputi beberapa kriteria. Primer sebaiknya memiliki ukuran antara 18 hingga 25 basa, mengandung 50 hingga 60% guanin (G) dan sitosin (C), dan kedua primer tersebut sebaiknya memiliki komposisi yang serupa. Selain

13

36

itu, urutan DNA pada masing-masing primer tidak boleh saling berkomplemen, karena hal ini dapat menyebabkan pembentukan struktur sekunder pada primer dan mengurangi efisiensi reaksi PCR (Deng Y, *et al.*, 2019).

Pada tahap ekstensi, enzim Taq polymerase memperpanjang rantai DNA dari ujung 3' primer pada suhu 72°C. Laju sintesis nukleotida berkisar antara 35–100 nukleotida per detik, tergantung pada kondisi seperti buffer, pH, kadar garam, dan sifat DNA target. Untuk memastikan seluruh DNA terbentuk sempurna, tahap ini biasanya diperpanjang hingga 5 menit pada siklus akhir PCR. Setelah itu, sampel didinginkan pada suhu 4°C guna menjaga stabilitas dan mencegah kerusakan DNA (Deng Y, *et al.*, 2019).



Gambar 2.19 Alur Metode PCR-MRSA (Deng Y, *et al.*, 2019).

D. Kerangka Teori

Infeksi merupakan kondisi ketika mikroorganisme seperti bakteri, virus, atau patogen lainnya masuk ke dalam tubuh,

berkembang biak, dan memicu respons yang mengganggu fungsi tubuh hingga menimbulkan penyakit. Jika infeksi terjadi pada luka, hal ini dapat menghambat proses penyembuhan, meningkatkan risiko komplikasi seperti kecacatan, bahkan berujung pada kematian bila tidak segera ditangani dengan pengobatan yang tepat.

Infeksi Luka Operasi (ILO) merupakan infeksi yang terjadi pada area sayatan pembedahan dan umum dialami pasien pascaoperasi. Infeksi ini dapat berasal dari mikroorganisme eksogen maupun endogen yang masuk ke dalam luka saat atau setelah prosedur operasi berlangsung. Terjadinya ILO dipengaruhi oleh berbagai faktor, antara lain kondisi perawatan praoperasi, teknik dan kebersihan selama tindakan bedah, serta jenis operasi yang dilakukan.

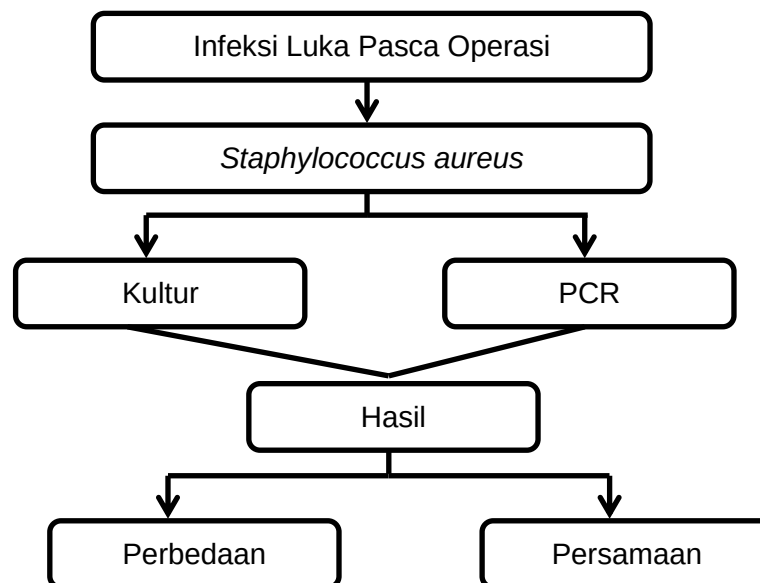
Staphylococcus aureus adalah jenis bakteri patogen yang tergolong dalam kelompok bakteri gram positif, merujuk pada bentuk sel-selnya yang menyerupai kelompok anggur. Bakteri ini termasuk dalam kategori patogen yang umum ditemukan dilingkungan manusia, serta dapat mempengaruhi indra peraba dan proses fotosintesis dalam tubuh manusia.

Dengan menggunakan media kultur, mikroorganisme dapat diisolasi untuk memperoleh kultur murni. Di samping itu, formulasi media dapat disesuaikan dengan kebutuhan nutrisi spesifik dari masing-masing jenis bakteri, mengingat perbedaan karakteristik metabolik antar spesies. Oleh karena itu, berbagai jenis media

pertumbuhan telah dirancang dan dimanfaatkan secara luas dalam bidang diagnostik mikrobiologi.

14 PCR (Polymerase Chain Reaction) merupakan teknik *in vitro* yang digunakan untuk mensintesis dan memperbanyak segmen DNA secara signifikan dalam waktu singkat, hanya dalam beberapa jam. Proses ini memungkinkan penggandaan jutaan salinan dari bagian DNA target. Komponen penting yang diperlukan dalam reaksi PCR meliputi DNA template sebagai cetakan, sepasang primer (forward dan reverse) yang merupakan oligonukleotida pendek yang komplementer dengan urutan target, dNTPs (deoxynucleotide triphosphates) sebagai bahan penyusun DNA baru, buffer PCR untuk menjaga kondisi reaksi tetap optimal, magnesium klorida ($MgCl_2$) sebagai kofaktor enzim, dan enzim Taq DNA polymerase yang bertugas menyintesis rantai DNA baru

20



Gambar 2.20 Kerangka Teori

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah studi laboratorik dengan pendekatan *cross sectional*.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di RS UNHAS HUMRC dan pengambilan sampel di RSUP dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar.

2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 30 April – 20 Mei 2025

C. Populasi, Sampel, dan Besaran Sampel

1. Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah pasien yang telah menjalani tindakan operasi di RSUP dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar.

2. Sampel Penelitian

Sampel dalam penelitian ini adalah spesimen pada pasien yang telah menjalani tindakan operasi di RSUP dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar.

3. Besaran Sampel

Besaran sampel dalam penelitian ini sebanyak 8 sampel yaitu pasien yang telah menjalani tindakan operasi di RSUP dr.Wahidin Sudirohusodo Makassar.

D. Teknik Pengambilan dan Kriteria Sampel Penelitian

1. Teknik Pengambilan Sampel Penelitian

Teknik pengambilan sampel dalam penelitian ini adalah *purposive sampling*.

2. Kriteria Sampel Penelitian

a. Kriteria Inklusi

Pasien yang telah menjalani tindakan operasi

b. Kriteria Eksklusi

Pasien dengan infeksi luka pasca operasi yang tidak bersedia untuk berpartisipasi dalam penelitian ini.

E. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pasien yang telah dilakukan tindakan operasi.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah bakteri *Staphylococcus aureus* pada infeksi luka pasca operasi.

F. Definisi Operasional

1. Infeksi Luka Operasi (ILO) merupakan infeksi yang terjadi pada area sayatan pembedahan dan umum dialami pasien pascaoperasi di RSUP dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar
2. *Staphylococcus aureus* adalah jenis bakteri patogen yang tergolong dalam kelompok bakteri gram positif.
3. Kultur bakteri merupakan teknik untuk menumbuhkan bakteri dalam media khusus sehingga dapat identifikasi jenisnya dan dapat dilakukan untuk mengetahui penyebab infeksi bakteri.
4. Reaksi Rantai Polimerase (PCR) adalah metode in vitro yang digunakan untuk mensintesis dan memperbanyak segmen spesifik dari DNA. Teknik ini memungkinkan penggandaan bagian tertentu dari DNA menjadi jutaan salinan dalam waktu singkat.

G. Alat dan Bahan

1. Alat yang digunakan

Alat yang digunakan yaitu, kain kasa steril, swab dacron steril, semprit steril, kapas, ose, rak pewarna, lampu spiritus atau bunsen, objek glass, matt pipet, pipet tetes, lemari pendingin, coolbox, incubator, mikroskop, BSC Tipe II, cetakan agarose, Gel DOC, laminar flow, sentrifuge, mesin elektroforesis, mesin PCR (Biorad), mikropipet (1000 ul, 100 ul, 20 ul, 10 ul), sentrifuge, tabung efendorf, tabung PCR, tips (1000 ul, 100 ul, 20 ul, 10 ul), gelas ukur, botol scoot 200 ml, tabung pcr

2. Bahan Alat yang digunakan

Bahan yang akan digunakan yaitu sampel pus, NaCl fisiologis, media swab Amies Collection & Transport, label, media Blood Agar Plate, media MacConkey, minyak imersi, aquadest, agarosa, DNA Leader/maker (100 bp), enzim PCR (Go Taq Green), ethidium bromide, loading dey, primer, RNase free water, primer dan TBE 0,5.

H. Prosedur Penelitian

1. Pra Analitik

a. Sterilisasi alat

Sterilisasi peralatan yang akan digunakan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Langkah ini penting untuk menghilangkan mikroorganisme yang mungkin ada pada peralatan sehingga sampel media yang dihasilkan bersih dan bebas dari kontaminasi sebelum digunakan dalam proses kultur dan pengujian mikroba.

b. Pengambilan Sampel Infeksi Luka Pasca Operasi

Langkah pertama menghilangkan kotroran dan eksudat kering menggunakan kain kasa dengan NaCl fisiologis. Kemudian kapas dari media dikeluarkan dari wadahnya, kemudian diusapkan ke dalam pus tanpa menyentuh tepi luka. Setelah itu, kapas dimasukkan pada media lalu ditutup dengan rapat. Kemudian pada tabung diberi tanda/identitas yang

kemudian dimasukkan ke dalam coolbox dan dibawa ke laboratorium untuk diuji.

2. Analitik

a. Kultur Bakteri

1) Isolasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Spesimen yang diambil dari pasien dengan infeksi luka pasca operasi di tanam pada media BAP & media Mac.Conkey, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

2) Pewarnaan Gram

Koloni yang tumbuh pada media BAP & media MacConkey dilakukan pewarnaan gram

b. PCR

1) Ekstraksi DNA

Prosedur dimulai dengan preparasi sampel, yaitu membuat suspensi bakteri menggunakan standar kekeruhan McFarland 0,5–1 dalam tabung ependorf, kemudian disentrifugasi selama 5 menit pada kecepatan 300 xg. Setelah supernatan dibuang, ditambahkan 200 µL PBS dan 20 µL campuran Proteinase K. Tahap lisis sel dilakukan dengan menambahkan 200 µL GSB Buffer, divortex, lalu diinkubasi pada 60°C selama 20 menit, dengan vortex setiap 5 menit. Pada tahap pengikatan DNA, ditambahkan 200 µL etanol, divortex selama 10 detik, lalu dimasukkan ke dalam kolom GS

dalam tabung koleksi 2 mL dan disentrifugasi pada 14.000–16.000 rpm selama 1 menit; cairan buangan dibuang. Proses pencucian dilakukan dengan 400 μ L W1 Buffer, lalu disentrifugasi selama 30 detik, diikuti oleh penambahan 600 μ L Wash Buffer dan sentrifugasi lagi selama 30 detik. Tabung koleksi diganti, lalu disentrifugasi kembali selama 3 menit untuk menghilangkan sisa cairan. Pada tahap elusi, kolom GS dipindahkan ke tabung ependorf steril, ditambahkan 100 μ L elution buffer yang telah dipanaskan, dan disentrifugasi selama 3 menit pada 14.000–16.000 rpm. Kolom dibuang, dan cairan dalam tabung ependorf merupakan DNA hasil ekstraksi yang siap digunakan untuk PCR.

2) Mix PCR

Reaksi PCR untuk deteksi gen *spa* dilakukan dengan total volume 25 μ L, yang terdiri atas 12,5 μ L Go Taq Master Mix, 0,5 μ L primer *spa*-113F, 0,5 μ L primer *spa*-1514R, 6,5 μ L nuclease-free water, dan 5,0 μ L DNA sampel.

3) Running PCR

Proses PCR dengan primer *spa* dilakukan dalam tiga tahap utama. Tahap awal (pre-denaturasi) dilakukan satu siklus pada suhu 94°C selama 5 menit. Dilanjutkan dengan 30 siklus amplifikasi yang terdiri dari: denaturasi pada 94°C selama 30 detik, aneling pada 59°C selama 1 menit, dan

88 ekstensi pada 72°C selama 1 menit. Tahap akhir (final extension) dilakukan satu siklus pada suhu 72°C selama 10 menit

4) Gel Elektroforesis

74 Gel agarose 2% dibuat dengan melarutkan 2 gram agarose dalam 100 ml larutan TBE Buffer 0,5×, kemudian dipanaskan hingga benar-benar larut. Setelah agak mendingin, ditambahkan 5 µl Ethidium Bromide sebagai pewarna DNA. Larutan kemudian dituangkan ke dalam cetakan dan dibiarkan mengeras. Untuk marker DNA, 5 sebanyak 25 µl DNA 100 bp ladder dicampurkan dengan 1 ml Blue Juice Loading Dye. Tabung diberi label sebagai “marker”. Setelah itu, dilakukan persiapan alat elektroforesis, dilanjutkan dengan proses running elektroforesis. Setelah selesai, gel didokumentasikan menggunakan alat Gel Doc, dengan cara menyalakan alat, mengatur posisi gel, mengambil gambar, lalu menyimpan dan mencetak hasilnya.

3. Pasca Analitik

a. Kultur Bakteri

Interpretasi hasil positif bila ada pertumbuhan pada media BAP dilanjutkan dengan tes identifikasi vitek 2 terdeteksi positif *Staphylococcus aureus*.

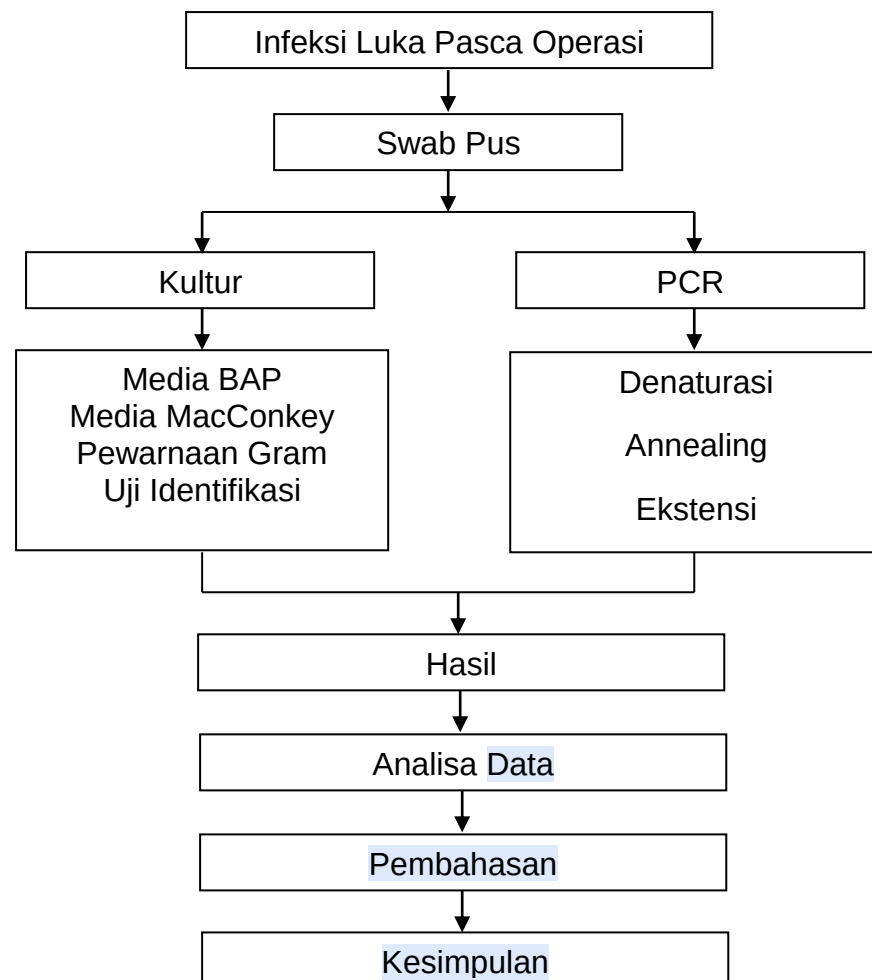
b. PCR

Gambar hasil elektroforesis (Interpretasi Hasil PCR) positif jika ditemukan ban gen target dari hasil PCR dengan panjang antara 180 – 600 bp dan negatif jika tidak terbentuk ban.

I. Analisis Data

Data yang telah diperoleh dari hasil pengujian akan dilakukan uji statistik dengan menggunakan uji Tanda.

J. Kerangka Operasional



Gambar 3.1 Kerangka Operasional

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada pasien yang telah menjalani tindakan operasi di RSUP dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar sejak tanggal 30 April - 20 Mei 2025. Sampel yang digunakan berupa swab luka pasien yang kemudian diperiksa menggunakan pemeriksaan kultur dan *Polimerase Chain Reaction* (PCR).

Pengambilan sampel dalam penelitian ini menggunakan teknik *purposive sampling*, yaitu metode pemilihan sampel secara sengaja berdasarkan kriteria inklusi yang telah ditetapkan peneliti. Penelitian ini menggunakan studi laboratorik dengan potong lintang (*cross sectional*). Peneliti secara langsung mengidentifikasi subjek penelitian dengan pemeriksaan kultur melalui isolasi dan identifikasi bakteri serta melakukan pemeriksaan molekuler multiplex PCR MRSA menggunakan jenis primer *spa*, primer *mecA*, *lukF-PVL* & *mecA* LGA251.

Data yang telah dikumpulkan kemudian diolah, dianalisis, dan diinterpretasikan menggunakan perangkat lunak SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*), sehingga diperoleh hasil sebagai berikut :

Tabel 4.1. Hasil Pemeriksaan *Staphylococcus aureus* Metode Kultur

Kode Sampel	Metode Kultur	
	Hasil Pemeriksaan	Keterangan
Y1	Negatif	<i>Escherichia coli</i>
Y2	Positif	<i>Staphylococcus aureus</i>
Y3	Negatif	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Y4	Negatif	<i>Proteus mirabilis</i>
Y5	Negatif	<i>Staphylococcus epidermis</i>
Y6	Positif	<i>Staphylococcus aureus</i>
Y7	Negatif	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Total (n) = 7		

Sumber : Data Primer, Mei 2025

Berdasarkan tabel 4.1, diperoleh bahwa hanya 2 sampel (28.6%) yang menunjukkan hasil positif terhadap *Staphylococcus aureus*, yaitu sampel dengan kode Y2 dan Y6. Sedangkan 5 sampel (71.4%) lainnya menunjukkan hasil negatif terhadap keberadaan *Staphylococcus aureus*.

Namun, pada sampel – sampel dengan hasil negatif tersebut ditemukan bakteri lain. Sampel Y1 menunjukkan keberadaan *Escherichia coli*, Y3 menunjukkan *Pseudomonas aeruginosa*, Y4 mengandung *Proteus mirabilis*, Y5 mengandung *Staphylococcus epidermis*, dan Y7 teridentifikasi *Streptococcus pyogenes*.

Tabel 4.2. Hasil Uji Kepekaan Metode Kultur

Kode Sampel	Uji kepekaan Antibiotik		
	Obat	MIC	SIR
Y2	Clindamycin	≤ 0.5	S
	Erytromycin	≤ 0.25	S
	Linezolid	1	S
	Oxacillin	0.5	S
	Pennicillin G	≤ 0.12	S
	Tetracycline	≤ 0.5	S
	Trimethoprim S	$\leq 1/15$	S
	Vancomycin	≤ 1	S
Y6	Clindamycin	≤ 0.5	S
	Erytromycin	≤ 0.25	S
	Linezolid	2	S
	Oxacillin	0.5	S
	Pennicillin G	> 0.25	R
	Tetracycline	≤ 0.5	S
	Trimethoprim S	$\leq 1/15$	S
	Vancomycin	≤ 1	S

Sumber : Data Primer Mei 2025

Berdasarkan hasil uji kepekaan antibiotik terhadap isolat bakteri *Staphylococcus aureus* dari dua sampel. Untuk setiap sampel, kepekaan terhadap berbagai jenis antibiotik diukur berdasarkan nilai konsentrasi inhibisi minimum (MIC) dan status kepekaan (SIR: *susceptible*, *intermediate*, *resisten*). Untuk sampel Y2, secara keseluruhan menunjukkan kepekaan

31

(*susceptible*) terhadap seluruh antibiotik yang diuji, seperti clindamycin ($\leq 0.5 \mu\text{g/mL}$), Erytromycin ($\leq 0.25 \mu\text{g/mL}$), Linezolid ($1 \mu\text{g/mL}$), Oxacillin ($0.5 \mu\text{g/mL}$), penicillin G ($\leq 0.12 \mu\text{g/mL}$), Tetracycline ($\leq 0.5 \mu\text{g/mL}$), Trimethoprim S ($\leq 1/15 \mu\text{g/mL}$) dan Vancomycin ($\leq 1 \mu\text{g/mL}$). Sedangkan pada sampel Y6, isolat juga menunjukkan kepekaan terhadap sebagian besar antibiotik, kecuali penicillin G menunjukkan resistensi dengan nilai MIC lebih dari $0.25 \mu\text{g/mL}$

Tabel 4.3. Hasil Pemeriksaan *Staphylococcus aureus* metode PCR

Kode Sampel	Metode PCR	
	Hasil Pemeriksaan	Keterangan
Y1	Negatif	Tidak ditemukan gen <i>Spa</i>
Y2	Positif	Ditemukan gen <i>Spa</i>
Y3	Negatif	Tidak ditemukan gen <i>Spa</i>
Y4	Negatif	Tidak ditemukan gen <i>Spa</i>
Y5	Negatif	Tidak ditemukan gen <i>Spa</i>
Y6	Positif	Ditemukan gen <i>Spa</i>
Y7	Negatif	Tidak ditemukan gen <i>Spa</i>
Total (n) = 7		

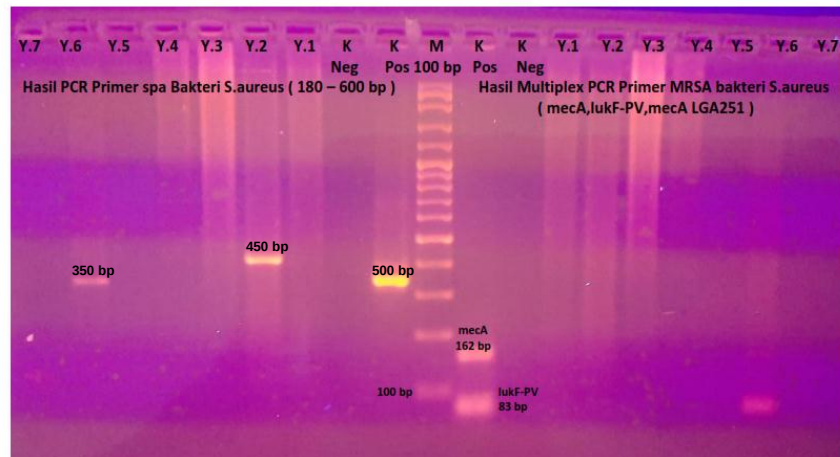
Sumber : Data Primer, Mei 2025

Berdasarkan tabel 4.3, hasil pemeriksaan *Staphylococcus aureus* dengan metode PCR dilakukan terhadap tujuh sampel luka pasien pasca operasi, ditemukan sebanyak dua sampel yang menunjukkan hasil positif yaitu Y2 dan Y6 keberadaan gen *Spa* sebagai penanda spesifik keberadaan

20

Staphylococcus aureus. Lima sampel lainnya (Y1, Y3, Y4, Y5, dan Y7) menunjukkan hasil negatif.

Gambar 4.1. Hasil Elektroforesis *Staphylococcus aureus*



Sumber : Data Primer, Mei 2025

Berdasarkan gambar 4.1, hasil elektroforesis dengan metode PCR menggunakan primer *spa* dengan rentang panjang pita 180 – 600 pasangan basa menunjukkan keberadaan DNA bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini ditandai dengan munculnya pita DNA pada sampel berkode Y2 dengan panjang 450 pasangan basa dan pada sampel berkode Y6 dengan panjang 350 pasangan basa serta ditemukan DNA untuk gen *methicillin – resistensi Staphylococcus aureus* (MRSA) menggunakan primer *lukF-PV* dengan panjang pita 83 pasangan basa. Sementara itu, pada sampel berkode Y1, Y3, Y4, Y5 dan Y7 tidak terdeteksi primer *spa*, sebagai gen spesifik keberadaan *Staphylococcus aureus* maupun gen MRSA.

Tabel 4.4. Hasil Analisis Uji Tanda (*sign test*) Metode Kultur dan PCR

Sign Test	<i>Staphylococcus aureus</i>
	Metode Kultur dan Metode PCR
<i>p value</i>	0.05
<i>Sig. (2-tailed)</i>	1.000
N	7

Sumber : Data Primer, Mei 2025

Berdasarkan hasil analisis uji tanda yang ditampilkan pada tabel 4.3, diperoleh nilai signifikansi (*Sig. 2-tailed*) sebesar 1.000. nilai ini jauh lebih besar dari batas nilai *p* yang ditetapkan, yaitu 0.05. Hal ini bermakna bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara hasil pemeriksaan metode kultur dan metode PCR dalam mendeteksi keberadaan *Staphylococcus aureus*.

B. Pembahasan

Identifikasi *Staphylococcus aureus* pada infeksi luka pasien paska operasi dilakukan melalui beberapa tahap. Pertama, sampel diambil secara aseptik dari luka atau daerah yang terinfeksi menggunakan swab dacron, lalu diinokulasi pada media *Blood Agar Plate* (BAP) dan media *Mac.Conkey*, dan diinkubasi pada suhu 37°C, selama 24 jam. Jika mikroorganisme tumbuh pada kedua media tersebut maka dilakukan pewarnaan gram untuk menentukan penggunaan kartu ID (*card VITEK 2*) bakteri berupa gram positif atau

14

gram negatif, kemudian proses identifikasi bakteri dan uji antibiotik dilakukan menggunakan metode VITEK 2

124

Kultur bakteri menggunakan media *Blood Agar Plate* (BAP) merupakan teknik bakteriologi konvensional yang masih banyak digunakan dalam identifikasi awal *Staphylococcus aureus*. BAP adalah media yang bersifat non selektif namun kaya akan nutrisi, karena mengandung darah (biasanya darah domba 5% - 10%) yang mendukung pertumbuhan berbagai jenis bakteri, termasuk bakteri *fastidious* (Eva et al., 2023). Hasil identifikasi bakteri dengan sampel swab luka pasien paska operasi di RSUP dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar pada media BAP, menunjukkan ukuran dan warna koloni yang bervariasi mulai dari ukuran kecil hingga besar, serta ditemukan koloni berwarna keabu-abuan, kuning keemasan, serta ditemukan pula koloni abu-abu pucat atau tidak berwarna (*lampiran 5.b*).

Salah satu keunggulan media BAP adalah kemampuannya menunjukkan pola hemolisis yang dihasilkan oleh mikroorganisme. Hasil penelitian menemukan sebanyak 3 sampel membentuk zona bening (β hemolisis) disekitar koloni dan 4 sampel lainnya tidak ada perubahan warna dimedia sekitar koloni (γ hemolisis). Hemolisis pada media BAP terjadi karena bakteri menghasilkan enzim hemolisin yang mampu merusak membran sel darah merah (eritrosit) yang terdapat dalam media *Blood Agar Plate*. Proses ini menyebabkan eritrosit bocor keluar

dan menghasilkan perubahan warna atau kejernihan media disekitar koloni (Apriani *et al.*, 2023).

Pada bakteri *Staphylococcus aureus*, hemolisis yang terjadi juga biasanya berupa β hemolisis, walaupun intensitasnya bisa bervariasi bergantung strainnya. Hemolisis ini terutama disebabkan oleh *alpha-toxin* yaitu protein yang menyerang membran eritrosit dengan membentuk pori, sehingga menyebabkan kebocoran isi sel dan lisis total eritrosit. Selain itu, *Staphylococcus aureus* juga dapat menghasilkan toksin lain seperti *delta-toxin* yang bersifat *surfaktan* dan turut memperkuat efek hemolitik. Hasilnya, koloni *Staphylococcus aureus* pada media BAP akan dikelilingi oleh zona bening sebagai indikator hemolisis (Divyakolu S *et al.*, 2019). Namun demikian, terdapat pula jenis bakteri lain yang dapat menyebabkan β hemolisis pada media BAP diantaranya *Streptococcus pyogenes*. Bakteri ini mampu menghasilkan dua jenis toksin utama yaitu *streptolysin-O* (SLO) dan *streptolysin-S* (SLS). SLO bersifat sensitif terhadap oksigen dan aktif dalam kondisi anaerob, sementara SLS stabil terhadap oksigen dan bertanggung jawab atas hemolisis yang tampak pada permukaan BAP. Kedua toksin ini bekerja dengan membentuk pori pada membran eritrosit sehingga menyebabkan lisis total sel darah merah (Kanwal S, Vaitla, 2023)

Selain itu, koloni *Staphylococcus aureus* umumnya berbentuk bulat, permukaan halus dan berwarna kuning keemasan karena

produksi pigmen *karotenoid staphyloxanthin* pada media BAP. Namun tidak semua strain menghasilkan pigmen secara konsisten, beberapa strain dapat membentuk koloni berwarna putih atau krem akibat rendahnya produksi pigmen *karotenoid staphyloxanthin* yang disebabkan oleh faktor genetik strain maupun lingkungan (Liy, G.Y., 2019). Misalnya penelitian oleh Campbell *et al.*, (2023) dalam jurnal *Cell Report* menunjukkan bahwa isolat *Staphylococcus aureus* dari luka diabetes yang tidak sembuh menghasilkan lebih banyak *staphyloxanthin* dibandingkan dengan isolat dari luka yang sembuh, yang menunjukkan adanya variasi produksi pigmen antar strain.

Disamping melakukan pengamatan koloni pada media BAP, pengamatan koloni juga dilakukan pada media *Mac.Conkey*, hasil penelitian menunjukkan sebanyak 4 sampel yang diinokulasi pada media ini tidak mengalami pertumbuhan, sementara 3 sampel menunjukkan terdapat pertumbuhan koloni dengan ciri – ciri yang beragam, mulai dari koloni berwarna merah metalik hingga tidak berwarna serta berukuran sedang hingga besar (*lampiran 5.c*).

Media *Mac.Conkey* merupakan media diferensial dan selektif yang digunakan untuk mengisolasi dan membedakan batang gram negatif yang menfermentasi laktosa dan non fermentasi laktosa. Kandungan gelatin dan pepton menyediakan nutrisi yang cukup untuk pertumbuhan bakteri. Laktosa monohidrat merupakan sumber karbohidrat yang dapat difermentasi. Tindakan selektif media ini

72

70 disebabkan oleh *kristal violet* dan garam empedu, yang bersifat menghambat sebagian besar bakteri gram positif, pewarna *neutral red* yang berfungsi sebagai pH indikator untuk mengetahui fermentasi laktosa (Eva et al., 2023).

Bakteri fermentatif seperti *Escherichia coli* menghasilkan koloni merah muda akibat turunnya pH lingkungan. Sebaliknya, bakteri non-fermentatif seperti *Salmonella*, *Proteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Shigella* tidak mampu memanfaatkan laktosa, sehingga mereka menggunakan pepton sebagai sumber energi. Proses ini menghasilkan amonia yang menaikkan pH medium, menyebabkan koloni tampak putih atau tidak berwarna, dengan media di sekitarnya tetap jernih (A. Sagar, 2022).

130 Sesuai sifat selektif dari media MacConkey yang hanya mendukung pertumbuhan bakteri gram negatif enteric, dan menghambat gram positif karena adanya kandungan garam empedu dan Kristal violet. Oleh karena itu, jika bakteri yang diuji adalah gram positif seperti *Staphylococcus aureus*, maka tidak diharapkan tumbuh di MacConkey (Jung B, Hoilat GJ. 2024). Hal ini menegaskan sebanyak 4 sampel dalam penelitian ini tidak menunjukkan adanya pertumbuhan, diduga karena koloni dalam media ini bersifat gram positif (lampiran 5.b)

Disisi lain, faktor teknis juga memainkan peran penting dalam pertumbuhan koloni, inokulum yang terlalu sedikit, tidak merata atau tidak homogen, serta kesalahan teknik aseptik dapat mengganggu keberhasilan pertumbuhan. Demikian juga, kondisi inkubasi yang tidak

sesuai misalnya suhu yang tidak optimal, waktu inkubasi terlalu singkat, atau atmosfer yang tidak sesuai seperti kekurangan CO₂ untuk bakteri *kapnofilik* dapat menghambat pertumbuhan (Cappuccino & Wash, 2017). Media yang telah kadaluarsa, terkontaminasi, terlalu kering, atau mengandung komponen toksik akibat penyimpanan yang tidak tepat juga berpotensi gagal mendukung pertumbuhan (Atlas, 2010)

Selain itu, kondisi bakteri dapat menjadi penyebab utama. Bakteri yang mati akibat penanganan yang tidak tepat, seperti paparan suhu ekstrem, penyimpanan terlalu lama atau adanya antibiotik dalam sampel, tidak akan tumbuh meskipun media dan kondisi sudah sesuai. Oleh karena itu, keberhasilan kultur sangat bergantung pada kecocokan media dengan bakteri, teknik inokulasi yang benar serta pengelolaan sampel yang optimal (Apriyanto, 2022)

Setelah dilakukan inokulasi pada kedua media ini, langkah selanjutnya dalam proses identifikasi adalah mengambil sebagian koloni menggunakan ose steril. Ose yang telah dipanaskan hingga berpijar dan kemudian didinginkan digunakan untuk menyentuh koloni tunggal pada permukaan agar. Koloni tersebut dipindahkan ke kaca objek dan dibuat sediaan apus (*smear*) dengan cara mengoleskan secara tipis dan merata. Setelah itu, sediaan dikeringkan diudara dan difiksasi dengan cara dipanaskan singkat atas api. Langkah selanjutnya adalah melakukan pewarnaan gram untuk membedakan

bakteri gram negatif dan bakteri gram positif berdasarkan struktur dinding selnya (Sespita Sari Y.E, *et al.*, 2025)

Prosedur pewarnaan ini melibatkan penggunaan kristal violet, iodine, alkohol dan safranin. Hasil akhirnya diamati dibawah mikroskop untuk mengetahui warna dan bentuk sel bakteri yang merupakan kunci awal identifikasi mikroorganisme. Hasil penelitian menunjukkan sebanyak 3 sampel bersifat gram negatif dengan bentuk *basil* (batang), sedangkan 4 sampel berbentuk *coccus* (bulat) gram positif (*lampiran 5.b*). Bakteri gram positif memiliki dinding sel tebal dari *peptidoglikan* menyerap dan mempertahankan warna ungu dari kristal violet-iodine kompleks meskipun dibilas alkohol, sebaliknya bakteri gram negatif memiliki dinding sel tipis dan adanya lapisan luar lipid menyebabkan warna ungu dari kristal violet hilang saat dibilas dengan alkohol, sehingga menyerap warna merah (safranin) sebagai pewarna tandingan (Sespita Sari Y.E, *et al.*, 2025)

Setelah mengamati pertumbuhan koloni pada media dan mengamati bentuk serta sifat bakteri berdasarkan pewarnaan gram, selanjutnya dilakukan prosedur identifikasi bakteri lanjutan dan uji kepekaan antibiotik menggunakan *VITEK 2*. Alat otomatis ini bekerja berdasarkan analisis reaksi biokimia dan pertumbuhan bakteri dalam mikrowell pada kartu plastik khusus (ID dan AST card). Sistem ini memanfaatkan pengukuran optik (fotometri) dan software interpretasi

untuk mengidentifikasi mikroorganisme dan menentukan kepekaan terhadap antibiotik (Biomerieux, 2013)

Setiap *well* (lubang kecil) dalam kartu ID mengandung substrat biokimia spesifik. Jika bakteri mampu memetabolisme substrat tertentu (misalnya : glukosa, manitol, urea), akan terjadi perubahan warna atau *turbiditas*. Sistem optik akan membaca perubahan warna absorpsi (warna atau kejernihan) secara periodik. Hasil reaksi dibandingkan dengan data *base* referensi menghasilkan identifikasi spesies dengan tingkat kepastian (*confidence level*) (Biomerieux, 2013).

Sementara itu, untuk uji kepekaan antibiotik didasarkan pada prinsip kartu AST berisi berbagai konsentrasi antibiotik dalam *mikrowell*, bakteri diinokulasi kedalam semua *well*. Jika tidak tumbuh disuatu konsentrasi antibiotik menunjukkan bahwa bakteri terhambat atau mati oleh antibiotik tersebut. Sistem membaca tingkat pertumbuhan mikroba berdasarkan *turbiditas* dengan *minimum inhibitory concentration* yang hasilnya diinterpretasikan berupa *sensitive* (S), *intermediate* (I) dan *resisten* (R) (Biomerieux, 2013).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sampel Y2 terdeteksi positif mengandung *Staphylococcus aureus* dengan hasil uji kepekaan antibiotik *Methycillin Sensitive Staphylococcus aureus* (MSSA) sedangkan sampel Y6 positif mengandung *Staphylococcus aureus* dan ditemukan resisten terhadap antibiotik *penicillin G* yang merupakan

golongan utama β -laktam (*Methycillin Resistance Staphylococcus aureus/MSSA*) (tabel 4.1 dan tabel 4.2)

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Asih, S. A., & Susanti, M. (2024), menemukan sebanyak 50% mengandung bakteri patogen *Staphylococcus aureus* pada pasien pasca operasi. Senada dengan ini, penelitian yang dilakukan oleh Kesuma S, *et.al.* (2023), di Rumah Sakit Abdoel Wahab Sjahranie, Kalimantan Timur menemukan sebanyak 20.5% terdeteksi positif *Staphylococcus aureus* dari 120 sampel. *Staphylococcus aureus* merupakan penyebab infeksi daerah operasi (IDO) atau luka pasca operasi (*surgical site infection/SSI*) karena merupakan flora normal kulit dan mukosa, terutama rongga hidung, yang mudah masuk ke jaringan luka operasi. Sekitar 30 – 50% orang sehat membawa bakteri ini (CDC, 2024)

Infeksi daerah operasi (IDO) merupakan komplikasi serius pasca tindakan pembedahan yang dapat memperlambat proses penyembuhan, meningkatkan risiko morbiditas, serta menambah beban biaya perawatan. Salah satu patogen utama penyebab IDO adalah *Staphylococcus aureus*, yang dikenal memiliki kemampuan kolonisasi tinggi pada kulit dan mukosa manusia, serta mudah masuk ke dalam jaringan tubuh melalui luka pembedahan (Mohammed A. *et al.*, 2020).

Pasca operasi, banyak pasien mengalami penurunan imunitas akibat stress pembedahan, nutrisi yang tidak optimal dan adanya

penyakit penyerta membuat pasien rentan terhadap infeksi *oportunistik* terutama infeksi *Staphylococcus aureus* yang mudah mengkolonisasi luka (Edmiston CE jr, *et al.*, 2016). Selain itu, *Staphylococcus aureus* merupakan patogen utama dalam infeksi *nosokominal*, karena mudah menyebar di lingkungan Rumah Sakit melalui tangan petugas medis, alat bedah, atau permukaan yang terkontaminasi. Strain resisten seperti MRSA semakin memperburuk keadaan karena tidak merespon terhadap antibiotik golongan *beta-laktam*, sehingga mempersulit terapi (Hardtsock F, *et al.*, 2020). Namun demikian, angka kejadian infeksi luka pasca operasi oleh *Staphylococcus aureus* bervariasi bergantung pada jenis prosedur bedah, kondisi kebersihan, serta status imunitas pasien (Ayad Mohammed, *et al.*, 2020).

9 Pada sisi lain, pemeriksaan *Staphylococcus aureus* pada pasien pasca operasi di RSUP. dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar, dilakukan menggunakan PCR multiplex yaitu metode molekuler yang cepat dan efisien untuk mendeteksi keberadaan bakteri dan gen resistensi. Metode ini memungkinkan deteksi simultan berbagai gen seperti gen *mecA* yang terkait dengan resistensi *methicillin*, dan gen *spa* untuk identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* (Nadiya, S, *et al.*, 2023)

Dalam prosedur pemeriksaan menggunakan metode PCR, peneliti menggunakan referensi jurnal penelitian dari Stegger *et.al.*, (2012), dengan menggunakan 4 jenis primer gen target berupa gen

spa yang berfungsi sebagai penanda spesifik *Staphylococcus aureus*, kemudian menggunakan primer gen *mecA* berupa penanda utama dalam deteksi MRSA (*Methicillin Resistensi Staphylococcus aureus*) dan gen *lukF-PV* yang merupakan salah satu gen penyusun toksin *Panton-Valentine Leukocidin* (PVL), yang berhubungan dengan faktor virulensi dari strain *Staphylococcus aureus* serta menggunakan gen *mecA* LGA251 yang mengkode protein pengikat penicillin alternatif penyebab resistensi terhadap antibiotik β -laktam.

Identifikasi molekuler dilakukan melalui tiga tahapan utama, yakni ekstraksi DNA, amplifikasi dengan PCR, dan elektroforesis. Pada tahap ekstraksi, DNA dipisahkan dari komponen sel lainnya untuk memperoleh DNA murni. Proses ini melibatkan penghancuran dinding sel mikroba agar DNA dapat dilepaskan. Setelah itu, fragmen DNA spesifik diperbanyak melalui teknik PCR (polymerase chain reaction) sebelum dianalisis lebih lanjut (Mursyidin H.D. et al., 2024)

PCR dilakukan melalui tiga tahap utama: denaturasi, annealing, dan ekstensi. Pada tahap denaturasi (94°C), untai ganda DNA dipisahkan menjadi untai tunggal. Tahap annealing (59°C) memungkinkan primer menempel pada DNA target, lalu tahap ekstensi (72°C) terjadi ketika enzim polimerase memperpanjang rantai DNA. Ketiga tahap ini diulang sebanyak 32 siklus dalam waktu sekitar 120 menit (Mursyidin H.D. et al., 2024)

Setelah PCR selesai, langkah berikutnya adalah elektroforesis. Dalam proses ini, hasil amplifikasi DNA dimasukkan ke dalam gel untuk dipisahkan berdasarkan ukuran fragmen. Hasil elektroforesis kemudian dibandingkan dengan DNA marker, yaitu fragmen DNA standar yang digunakan sebagai acuan. Elektroforesis memungkinkan visualisasi fragmen DNA, sehingga dapat dinilai keberhasilan proses amplifikasi dan pemurnian DNA berdasarkan kualitas dan ukuran fragmen yang terbentuk (W T. Godbey, 2022)

Visualisasi hasil amplifikasi gen *Staphylococcus aureus* menunjukkan terbentuknya pita DNA berukuran 450 pasangan basa pada sampel Y2 dan pada sampel berkode Y6 berukuran 360 pasangan basa (*gambar 4.1*). Temuan ini mengindikasikan bahwa ukuran fragmen target relatif sama, meskipun terdapat perbedaan pada intensitas dan kejernihan pita yang terlihat. Variasi tersebut dipengaruhi oleh konsentrasi DNA serta jumlah primer yang digunakan dalam reaksi PCR (Celik, A., & Ilgun, S. 2021). Visualisasi hasil elektroforesis terhadap produk PCR menunjukkan keberadaan pita-pita DNA pada kedua lokus dari sampel yang berhasil diamplifikasi. Namun, tidak semua sampel menghasilkan pita dengan intensitas yang sama. Pita DNA yang terang dan jelas menunjukkan kualitas serta kemurnian DNA yang baik, dengan sedikit kontaminasi. Ketebalan pita mencerminkan konsentrasi DNA dalam sampel—

semakin tinggi konsentrasinya, semakin tebal dan terang pitanya (Yulianti, S., 2024).

Sampel Y1, Y3, Y4, Y5, dan Y7 tidak menunjukkan keberadaan pita DNA (lihat Gambar 4.1). Menurut Faisal (2023), kegagalan amplifikasi PCR dapat terjadi akibat adanya kontaminan seperti protein atau RNA yang mengganggu akses terhadap DNA target. Kontaminasi ini biasanya berasal dari proses isolasi DNA yang kurang optimal atau kesalahan saat menyiapkan reaksi PCR. Selain itu, kegagalan juga bisa terjadi jika primer yang digunakan tidak sesuai dengan gen target *Staphylococcus aureus* (Amri, A.O., 2024)

Kegagalan dalam proses amplifikasi dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor yang muncul selama tahapan kerja, seperti saat pengambilan sampel, proses ekstraksi DNA, pelaksanaan PCR, hingga analisis hasil menggunakan elektroforesis. (Amri, A. O. 2024). Keberhasilan PCR sangat bergantung pada ketepatan suhu dan durasi pada tahap denaturasi dan annealing. Suhu *denaturasi* yang tidak tepat dapat mengganggu pemisahan untai DNA dan menghambat kerja enzim *Taq polymerase*. Sementara itu, suhu *annealing* yang terlalu tinggi atau rendah dapat menyebabkan kegagalan penempelan primer atau menurunnya spesifisitas DNA yang terbentuk (Rahmadhan, D., 2021)

Berdasarkan hasil analisis uji tanda (sign test) pada metode kultur dan PCR didapatkan nilai *Asymp. Sig. (p) = 1.000 (p > 0.05)*,

secara statistik tidak terdapat perbedaan signifikan metode kultur dan PCR untuk mendeteksi *Staphylococcus aureus*, dengan nilai sensitivitas dan spesifitas masing – masing sebesar 100%. Hasil penelitian ini relevan dengan penelitian oleh Madhavan, A. *et al.*, (2021), yang menemukan bahwa sensitivitas dan spesifitas kultur masing adalah 97.2% dan 100%, sedangkan kultur dianggap sebagai metode standar emas dengan sensitivitas dan spesifitas 100%. Perbedaan antara metode tersebut tidak signifikan secara statistik.

Studi lain, yang dilakukan oleh Martins, K. B, *et al.*, (2018) juga menunjukkan kesesuaian Metode kultur, dengan sensitivitas 98% dan spesifitas 100%. Selain itu, meta-analisis oleh Ibrahim *et al.*, (2023), juga menunjukkan bahwa metode kultur memiliki kesesuaian yang tinggi dengan metode PCR dalam mendeteksi *Staphylococcus aureus* dan menentukan resistensi terhadap metisillin, metode kultur tingkat kesesuaian 100% dalam identifikasi *Staphylococcus aureus*, dan 93.5% dalam identifikasi MRSA. Selain itu, penelitian oleh Lin *et al.*, (2021), juga mendukung temuan serupa, di mana metode kultur menunjukkan akurasi tinggi dalam identifikasi *Staphylococcus aureus* terutama gen virulensi dan hasilnya konsisten dengan metode PCR multipleks.

Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan metode kultur merupakan dua pendekatan yang sering digunakan dalam identifikasi *Staphylococcus aureus*. PCR merupakan teknik molekuler berbasis

22 amplifikasi DNA yang mampu mendeteksi keberadaan gen spesifik bakteri dengan sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi. PCR biasanya menargetkan gen *spa* sebagai penanda keberadaan *Staphylococcus aureus*, serta gen *mecA* yang mengindikasikan resistensi terhadap metisilin, yaitu strain Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Proses PCR hanya memerlukan waktu sekitar 2 hingga 4 jam sejak tahap ekstraksi DNA, sehingga sangat berguna untuk deteksi dini infeksi dan surveilan epidemiologi (Becker *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2020).

Sebaliknya, penggunaan metode kultur dalam penelitian ini merupakan pengabungan metode konvensional dan otomatis yang bekerja dengan prinsip biokimia identifikasi bakteri dan uji kepekaan antibiotik (AST). Setelah isolat bakteri dikultur, VITEK 2 menganalisis berbagai reaksi metabolik untuk mengenali spesies mikroba dalam waktu sekitar 6–18 jam. Meskipun tidak mendeteksi gen resistensi seperti PCR, sistem ini sangat bermanfaat untuk identifikasi klinis dan pengujian terapi antimikroba (Funke *et al.*, 2020). Oleh karena itu, pemilihan metode bergantung pada tujuan pemeriksaan: PCR lebih tepat digunakan untuk deteksi cepat dan genetik, sedangkan kultur lebih sesuai untuk kebutuhan diagnostik mikrobiologi klinik dan terapi empiris.

Meskipun PCR memainkan peran penting dalam diagnostik klinis dan penelitian mikrobiologi, metode ini memiliki sejumlah

16 keterbatasan yang dapat memengaruhi efektivitasnya, terutama di lingkungan dengan sumber daya terbatas. Keterbatasan tersebut meliputi isu spesifisitas dan sensitivitas yang sangat tergantung pada kualitas desain primer dan kondisi reaksi PCR. Desain primer yang tidak optimal dapat menyebabkan hasil positif palsu (*false positive*) atau negatif palsu (*false negative*), sehingga berdampak pada akurasi diagnosis. Fleitas *et al.*, (2021) mencatat bahwa meskipun PCR *multiplex* memungkinkan deteksi simultan terhadap berbagai patogen, keterbatasan dalam spesifisitasnya dapat menyulitkan pembedaan antara patogen yang memiliki kemiripan genetik tinggi. Oleh karena itu, diperlukan optimasi dan validasi yang ketat terhadap protokol PCR, terutama dalam aplikasi klinis dan surveilans epidemiologi. Selain itu, kebutuhan akan peralatan laboratorium khusus dan tenaga terampil menjadikan PCR kurang ideal untuk diterapkan di fasilitas kesehatan dengan sumber daya terbatas, jika dibandingkan dengan metode identifikasi lain yang lebih sederhana, seperti kultur biokimia atau sistem otomatis seperti VITEK 2.

106 Sistem kultur sendiri juga memiliki keterbatasan yang perlu diperhatikan. Salah satu kelemahan utamanya adalah ketergantungan pada karakteristik fenotipik bakteri, yang dapat dipengaruhi oleh kondisi pertumbuhan, umur koloni, serta ekspresi enzim yang tidak selalu konsisten. Hal ini dapat menyebabkan *misidentifikasi*, terutama pada isolat dengan profil biokimia yang atipikal (Velasco *et al.*, 2015).

kultur juga mengalami kesulitan dalam membedakan spesies yang memiliki kemiripan biokimia, seperti *Staphylococcus aureus* dengan *Staphylococcus intermedius* atau *Staphylococcus lugdunensis*, sehingga hasil identifikasi kadang perlu dikonfirmasi ulang menggunakan metode molekuler seperti PCR atau teknologi spektrometri massa, misalnya MALDI-TOF MS (Becker *et al.*, 2014).

Selain itu, kemampuan alat ini dalam mendeteksi resistansi antibiotik -khususnya resistansi terhadap metisilin yang dimediasi oleh gen *mecA* - dapat terbatas jika mutasi tidak menghasilkan perubahan fenotipik yang dikenali sistem. Faktor teknis seperti kesalahan inokulum atau inkubasi yang tidak optimal juga dapat mempengaruhi akurasi uji kepekaan, serta membatasi kemampuan dalam mendeteksi mekanisme resistansi yang kompleks (Tenover *et al.*, 2011). Oleh karena itu, meskipun VITEK 2 memberikan kemudahan dan efisiensi dalam praktik laboratorium klinik, penggunaannya tetap perlu dikombinasikan dengan metode konfirmasi untuk memperoleh hasil diagnosis yang lebih akurat dan komprehensif

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan diatas, maka dapat disimpulkan penelitian ini sebagai berikut:

1. *Staphylococcus aureus* ditemukan pada pasien pasca operasi metode kultur dan metode PCR sebanyak dua sampel di RSUP dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar
2. Tidak terdapat perbedaan hasil pemeriksaan *Staphylococcus aureus* metode kultur dan metode PCR pada pasien pasca operasi di RSUP dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar

B. Saran

Untuk penelitian selanjutnya agar menggunakan sampel dengan jumlah yang lebih banyak dan mengidentifikasi spesies bakteri yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Akram, A., Izhar, M., Saifullah, A., & Ali, S. B. (2022). Prevalence of Pantone Valentine Leucocidin gene containing *Staphylococcus aureus* in pus samples from Paediatric patients. *Journal of the Pakista Medical Association*, 72(10), 2074–2076 <https://doi.org/10.47391/JPMA.4365>
- Amin, Shaloma Salsabila, Zakiyyaa Ghazali, Meilisa Rusdiana, and Surya Efendi. (2023). —Identifikasi Bakteri Dari Telapak Tangan Dengan Pewarnaan Gram Identification of Bacteria from Palms with Gram Stain. *CHEMVIRO: Jurnal Kimiadan Ilmu Lingkungan* 1(1):30–35
- Amri, A. O. (2024). Identifikasi molekuler bakteri *Staphylococcus aureus* pada ulkus diabetikum pasien di RSUD Pariaman (Skripsi Sarjana Terapan, Universitas Perintis Indonesia).
- Apriyanto, M., Novitasari, R., Mardeci, H., & Yulianti. (2022). Dasar Mikrobiologi Pangan. In Rineka (Issue June). http://file.upi.edu/Direktori/FPMIPA/JUR._PEND._BIOL_OGI/196805091994031-KUSNADI/BAb_V_I_R_U_S.OK.pdf
- Apriani et al., (2023). Bakteriologi Untuk Mahasiswa Kesehatan. Gowa : PT Masagena Mandiri Medica. ISBN. 978-602-71107-6-2.
- Al-Ruaily, M.A., and Khalil, O.M., (2011). Detection of (*mecA*) gene in methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) at Prince A/Rhman Sidery Hospital, Al-Jouf, Saudi Arabia. *Journal of Medical Genetics and Genomics*. vol. 3(3): 41-45.
- A. Sagar. (2022). Agar MacConkey - Komposisi, Prinsip, Persiapan, Hasil, Penggunaan. Catatan Mikroba. https://microbenotes.com.translate.google/mannitol-salt-agar/rsa/?x_tr_sl=en&x_tr_tl=id&x_tr_hl=id&x_tr_pto=tc
- Asih, S. A., & Susanti, M. (2024). Identifikasi bakteri pada pasien infeksi luka operasi (ILO) pasca bedah orthopedi di RS X Pekalongan. *Jurnal Anestesi*, 2(1). <https://doi.org/10.59680/anestesi.v2i1.795>
- Atlas, R.M. (2010). *Handbook of Microbiological Media* (4th ed). RCR Press
- Ayu Yasmini, N. P. (2023). Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* pada tangan perawat di ruang Intensive Care Unit Rumah Sakit Umum Daerah Tabanan. *Poltekkes Denpasar*, 89–95. <http://www.nber.org/papers/w16019>

- Azis, S. indriati, Ompusunggu, P. M. T. M., & Irawiraman, H. (2020). Gambaran Kejadian Infeksi Luka Operasi (Ilo) Pasca Bedah Abdomen Di Rsud Abdul Wahab Sjhranie Samarinda. Jurnal Kebidanan Mutiara Mahakam, 8(1),21– 37 <https://doi.org/10.36998/jkmm.v8i1.68>
- Barber M, Rozwadowska-Dowzenko M. Infeksi oleh stafilokokus resisten penisilin. Lancet 2017; 2:641–4.
- Becker, K., Heilmann, C., & Peters, G. (2021). Coagulase-negative staphylococci. Clinical Microbiology Reviews, 27(4), 870–926. <https://doi.org/10.1128/CMR.00109-13>
- Bellet C. (2018). Resistensi dan Dinamika Praktek Mikrobiologi. 63: 57-64
- Bennett, M. R. & Thomsen, I. P. (2020). Epidemiological and Clinical Evidence for the Role of Toxins in Staphylococcus aureus Human Disease. Toxins (Basel). <https://doi.org/10.3390/toxins12060408>
- Biomerieux, (2013). Vitek 2 TM Teknologi Produc Information, Lyon France
- Brindle RJ, O'Neill LA, Williams OM. Risk, Prevention, Diagnosis, and Management of Cellulitis and Erisipelas. Current Dermatology Report. 2020;9: 73-82.
- Bitschar K, Wolz C, Krismer B, Peschel A, Schitteck B. Keratinosit sebagai sensor dan pemain utama dalam pertahanan imun terhadap Staphylococcus aureus di kulit. J Dermatol Sci 2017; 87(3): 215-20.
- Campbell et al., 2023. Variable staphyoxanthin production by staphylococcus aureus drives strain-dependent effects on diabetic wound-healing outcome. Cell Report, 42 (10), 113281. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2023.113281>
- Cappuccino, J.G. dan N. Sherman. (2016). Microbiology A Laboratory Manual (7th Edition. Perason Education Inc. Publishing as Ela Turmala S, D. and Yusman Taufik, D., 2016. Pengaruh konsentrasi.
- Cappuccino, J.G. & Welsh, C. (2017). Microbiology; A; Laboratory Manual (11th ed). Pearson
- Celik, A., & Ilgun, S. (2021). Effect of DNA concentration on band intensity and resolution in agarose gel electrophoresis. Van Sağlık Bilimleri Dergisi, 13(3), 326–333. <https://doi.org/10.52976/vansaglik.969547>
- CDC, (2024). Dasar-dasar Staphylococcus aureus. <https://www-cdc-gov>.

- Deng, Y., Liu, Y., Jiang, Z., Wang, J., Zhang, Q., Qian, Y., dkk. (2019). Uji amplifikasi isothermal yang dimediasi loop multipleks untuk deteksi cepat *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus* . *Biosci. Trends* 13, 510–515. doi: 10.5582/bst.2019.01267
- Divyakolu S. et al., (2019). Hemolisin *Staphylococcus aureus* - Pembaruan Mengenai Biologi, Peran dalam Patogenesis dan sebagai Target Terapi Anti-Virulensi. *Kemajuan dalam penyakit menular*. Vol. 9 Edisi 2. ISSN Online: 2164-2656. Doi.10.4236/aid.2019.92007
- Egan, A.J.F.; Cleverley, R.M.; Peters, K.; Lewis, R.J.; Vollmer, W. Regulation of Bacterial Cell Wall Growth. *FEBS J.* 2017, 284, 851–867.
- Fleitas, O., Figueroa, W., Franco, O. L., & Borrero, J. (2021). Applications and limitations of multiplex PCR in the detection of pathogens: A review. *Journal of Infection and Public Health*, 14(4), 523–529. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2020.11.003>
- Funke, G., Funke-Kissling, P., & Pfyffer, G. E. (2020). Evaluation of the VITEK 2 system for identification and antimicrobial susceptibility testing of medically relevant gram-positive cocci. *Clinical Microbiology and Infection*, 26(9), 1208–1215. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.03.003>
- Foster, T. J. Surface Proteins of *Staphylococcus aureus*. *Microbiol. Spectr.* <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0046-2018> (2019).
- Hayati, L. N., Tyasningsih, W., Praja, R. N., Chusniati, S., Yunita, M. N., & Wibawati, P. A. (2019). Isolation and Identification of *Staphylococcus aureus* in Dairy Milk of The Etawah Crossbred Goat with Subclinical Mastitis in Kalipuro Village, Banyuwangi. *Jurnal Medik Veteriner*, 2(2), 76– 82. <https://doi.org/10.20473/jmv.vol2.iss2.2019.76-82>
- Husna, C. A. (2018). Peranan Protein Adhesi Matriks Ekstraselular Dalam Patogenitas Bakteri *Staphylococcus Aureus*’, *AVERROUS: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Malikussaleh*, 4(2), p. 99. doi: 10.29103/averrous.v4i2.1041
- Indas Wari Rahman, Nurfitri Arfani, Rafika Joyce Veronica Tadoda.(2023). Deteksi Bakteri MRSA Methicilin-Resistant *Staphylococcus aureus* pada Sampel Darah Pasien Rawat Inap. *Jurnal Ilmu Alamdan Lingkungan*. 14(1). 48-54. <https://journal.unhas.ac.id/index.php/jai2>
- Jawetz, Melnick, & Adelberg., (2014). *Mikrobiologi Kedokteran* (Edisi 23). Jakarta: Buku Kedokteran EGC.

Jung B, Hoilat GJ. (2024). MacConcey Medium. Statpearls publishing;2025 Jan. <https://www.ncbi-nlm-nih-gov>

Journal of Clinical Microbiology, 49(9), 3095–3097. <https://doi.org/10.1128/JCM.00457-11>

Kalayu, G. (2019). Phosphate solubilizing microorganisms: Promising approach as biofertilizers. International Journal of Agronomy. 2019:1–7.

Kartikasari, R., & Apriningrum, N. (2020). Determinan Terjadinya Infeksi Luka Operasi (ILO) Post Sectio Caesarea. Faletehan Health Journal, 7(03), 162–169. <https://doi.org/10.33746/fhj.v7i03.195>

Kanwal S, Vaitla P. (2023). Streptococcus Pyogenes. StatPearls Publishing; 2025 Jan. <https://www.ncbi-nlm-nih-gov>

Kawati, E. R., Yusmiati, S. N. H. dan Herawati, D. (2018) ‘_Identifikasi kuman pada pus dari luka infeksi kulit’, Jurnal SainHealth, 2(1), pp. 31–35.

Kemalaputri, D. W., Jannah, S. N., dan Budiharjo, A., 2017. Deteksi MRSA (Methicillin Resistant Staphylococcus aureus) Pada Pasien Rumah Sakit dengan Metode MALDI-TOF MS dan Multiplex PCR. Jurnal Biologi. 6(4): 51–61.

Kesuma, S., Saputri, M. J., & Aleksandra, P. (2023). Profil bakteri penginfeksi pus pada luka di Laboratorium Mikrobiologi RSUD Abdoel Wahab Sjahranie periode bulan Januari–Juni tahun 2023. Jurnal Kesehatan Tambusai, 4(4), 6013–6023. <https://doi.org/10.31004/jkt.v4i4.20623>

Kuhn, S.; Slavetinsky, C.J.; Peschel, A. Synthesis and Function of Phospholipids in Staphylococcus aureus. Int. J. Med. Microbiol. 2015, 305, 196–202

Lay, BW. 2019. Analisis Mikroba di Laboratorium. Jakarta: Grafindo. ISBN 979-421-388-8.Hlm.110

Lee AS, Lencastre H, Garau J, Kluytmans J, Harbarth S. 2018. Methicilin resistant Staphylococcus aureus. Journal of Nature Review. 4(18): 1-23.

Lisnawati, N. dan Prayoga, T. (2020) Ekstrak Buah Belimbing Wuluh (Averrhoa blimbi L). Surabaya: CV. Jakad Media Publishing.

Lin, T., Li, Q., Jin, D., Liu, W., Tang, C., & Zhang, X. (2021). Investigation of Virulence Genes of Staphylococcus aureus Isolated from Sterile Body Fluid Samples and Their Correlation with Clinical Symptoms and Outcomes. The Canadian journal of infectious diseases & medical

microbiology = Journal canadien des maladies infectieuses et de la microbiologie medicale, 2021, 5354747. <https://doi.org/10.1155/2021/5354747>

Liu, G.Y., dan Nizet, V. (2019). Color me bad, Microbial pigment as virulence factors. Trends in Microbiology , 17 (9), 406-413. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2009.06.006>

Maharani, A. P. (2023). Desain Primer Secara In Silico untuk Amplifikasi Gen mecA Pada Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) dengan Polymerase Chain Reaction (PCR). Skripsi. Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta.

Malanovic, N.; Lohner, K. Gram-Positive Bacterial Cell Envelopes: The Impact on the Activity of Antimicrobial peptides. Biochim. Biochim. Biophys. Acta 2016, 1858, 936–946

Mashita, A. R. (2017). Efek Antimikroba Ekstrak Rimpang Temulawak (Curcuma xanthorrhiza) Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus', Saintika Medika, 10(2), p. 138. doi: 10.22219/sm.v10i2.4184

Madhavan, A. et al., (2021). Comparison of PCR and phenotypic methods for the detection of methicillin resistant Staphylococcus aureus. Iranian journal of microbiology, 13(1), 31–36. <https://doi.org/10.18502/ijm.v13i1.5489>

Martins, K. B., Ferreira, A. M., Mondelli, A. L., Rocchetti, T. T., & Lr de S da Cunha, M. (2018). Evaluation of MALDI-TOF VITEK®MS and VITEK® 2 system for the identification of Staphylococcus saprophyticus. Future microbiology, 13, 1603–1609. <https://doi.org/10.2217/fmb-2018-0195>

M. Stegger, et al., (2012). Rapid detection, differentiation and typing of methicillin-resistant Staphylococcus aureus harbouring either mecA or the new mecA homologue mecALGA251, Clinical Microbiology and Infection, Volume 18, Issue 4, 2012, Pages 395-400, ISSN 1198-743X, <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03715.x>.

Mohammed A. et al., (2020). Surgical Site Infection Among Patients With Staphylococcus Aureus Nasal Carriage, International Journal of Surgery Open, Volume 24 (1-7), ISSN 2405-8572. <https://doi.org/10.1016/j.ijso.2020.02.005>.

Mursyidin H.D. et al., 2024. Teknik Dasar Biologi Molekur. Banjarmasin : ULM Press.

- Nadiya, S., et al., (2023). Optimization and evaluation of a multiplex PCR assay for detection of *Staphylococcus aureus* and its major virulence genes for assessing food safety. *Brazilian journal of microbiology* : [publication of the Brazilian Society for Microbiology], 54(1), 311–321. <https://doi.org/10.1007/s42770-023-00906-6>
- Nikolic, P.; Mudgil, P.; Harman, D.G.; Whitehall, J. Untargeted Lipidomic Differences Between Clinical Strains of Methicillin Sensitive and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Infect. Dis.* 2022, 54, 497–507.
- Panjaitan, F. J., Bachtiar, T., Arsyad, I., Lele, O. K., & Indriyani, W. (2020). Karakterisasi Mikroskopis dan Uji Biokimia Bakteri Pelarut Fosfat (BPF) dari Rhizosfer Tanaman Jagung Fase Vegetatif. *Jurnal Ilmu Pertanian Dan Lingkungan*, 1(1), 9–17.
- Perry JD, Frediere AM. Penerapan media kromogenik dalam mikrobiologi klinis. Masyarakat untuk Mikrobiologi Terapan, *Jurnal Mikrobiologi Terapan* 103 (2017) 2046-2055.
- Pulungan, A. S. S., & Tumangger, D. E. (2018). Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Endofit Penghasil Enzim Katalase Dari Daun Buasbuas (*Premna Pubescens* Blume). *BIOLINK (Jurnal Biologi Lingkungan, Industri, Kesehatan)*, 5(1), 71. <https://doi.org/10.31289/biolink.v5i1.1665>
- Rezanka, T.; Kolouchová, I.; Gharwalová, L.; Palyzová, A.; Sigler, K. Lipidomic Analysis: From Archaea to Mammals. *Lipids* 2018, 53, 5–25.
- Putri, O. L. A., Kusdiyantini, E. (2018). Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari pangan fermentasi berbasis ikan (*Inasua*) yang diperjualbelikan di Maluku-Indonesia. *Jurnal Biologi Tropika*. 1(2):6-12.
- Rahmadhan, D., Sari, R., & Apridamayanti, P. (2021). Pengaruh suhu annealing terhadap amplifikasi gen tem menggunakan primer dengan %GC rendah. *Jurnal Ilmu Farmasi, Universitas Tanjungpura*
- RK. Eva et al., (2023). Pengetahuan Media untuk Mahasiswa Teknologi Laboratorium Medis. Purbalingga : CV. Eureka Media Aksara. ISBN. 978-623-151-897-2
- Sasmito, D. E. K., Kurniawan, R., & Muhimmah, I., (2014). Karakteristik Primer pada Polymerase Chain Reaction (PCR) untuk Sekuensing DNA : Mini Review. *Jurnal Teknik Informatika Medis*, 93–102.
- Sespita Sari YE. Et al., (2025). *Bakteriologi 1 Teknologi Laboratorium Medis*. Cilalap: PT Media Pustaka Indo. ISBN : 978-634-7003-64-5

- Strahl, H.; Errington, J. Bacterial Membranes: Structure, Domains, and Function. *Annu. Rev. Microbiol.* 2017, 71, 519–538
- Sugireng, & Rosdarni. (2020). Deteksi MRSA (Methicilin Resistant *Staphylococcus aureus*) dengan Metode PCR Pada Pasien Ulkus Diabetikum. Jurusan Biologi, Fakultas Sains Dan Teknologi, UIN Alauddin Makassar, September, 31–35.
- Suliaty., Retno Sasongkowati., Lully Hanni Endarini., Anita Dwi Anggraini. (2022). Gen Exfoliatif A (RtA) *Staphylococcus aureus* Pada Isolat Luka Pasien Diabetes Melitus. *Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Surabaya. Tunas-Tunas Riset Kesehatan. Volume 12. 2-TRIK: Tunas-Tunas Riset Kesehatan, Volume 12 Nomor 2, p-ISSN 2089-4686 e-ISSN 2548-5970 126. <http://2trik.jurnalelektronik.com/index.php/2trik>. DOI: <http://dx.doi.org/10.33846/2trik12204>*
- Suryani, Yani dan Taupiqurrahman, Opik. 2021. *Morfologi Dasar*. Bandung: UINSunan Gunung Djati Bandung.
- Tenover, F. C., et al. (2011). Performance of the VITEK 2 system for antimicrobial susceptibility testing of *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus* species.
- Tong, S. Y., Davis, J. S., Eichenberger, E., Holland, T. L. & Fowler, V. G. Jr. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clin. Microbiol. Rev.* 28, 603–661 (2015)
- Turner, N.A., Sharma-Kuinkel, B.K., Maskarinec, S.A. 2017. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: An overview of basic and clinical research. *Journal of National Review Microbiology*. 17(5): 203–218.
- Ward, A. B. & Wilson, I. A. Innovations in structure-based antigen design and immune monitoring for next generation vaccines. *Curr. Opin. Immunol.* 65, 50–56 (2020).
- Wilder-Smith, A., Ooi, E. E., Horstick, O. & Wills, B. Dengue. *Lancet* 393, 350–363 (2019).
- W T. Godbey, (2022). Chapter 9 - Agarose gels, Editor(s): W T. Godbey, *Biotechnology and its Applications (Second Edition)*, Academic Press, 2022, Pages 203-218, ISBN 9780128177266, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817726-6.00009-5>.
- Yanto, R.B, Setiawan, N.E., & Surayni. (2021). Identifikasi Dan Uji Resistensi *Staphylococcus Aureus* Terhadap Antibiotik (Chloramphenicol Dan

Cefotaxime Sodium) Dari Pus Infeksi Piogenik Di Puskesmas Proppo. Jurnal Kimia Riset,6(2),154. <https://doi.org/10.20473/jkr.v6i2.30694>

Yeagle, P. Chapter 12—Lipid–Protein Interactions in Membranes. In The Membranes of Cells; Academic Press: Boston, MA, USA, 2016; pp. 291–334.

Yulianti, S., Islami, R. Z., Mansyur, & Pramudyawardani, E. F. (2024). Analisis konsentrasi dan kemurnian Deoxyribo Nucleic Acid (DNA) dari rumput pakan ternak. Agrivet: Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian dan Peternakan, 12(2), 167–179. <https://doi.org/10.31949/agrivet.v12i2.10618>

Zhang, K., Sparling, J., Chow, B. L., Elsayed, S., Hussain, Z., Church, D. L., ... & Louie, T. (2020). New quadriplex PCR assay for detection of Staphylococcus aureus and methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Journal of Clinical Microbiology, 42(11), 4947–4955. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.11.4947-4955.2004>

L
A
M
P
I
R
A
N

Lampiran 1. Rekomendasi Persetujuan Etik



KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES MAKASSAR
 Jalan Wijaya Kusuma Raya No. 46, Rappocini, Makassar
 E-mail: kepkpolkesmas@poltekkes-mks.ac.id



KETERANGAN LAYAK ETIK
 DESCRIPTION OF ETHICAL EXEMPTION
 "ETHICAL EXEMPTION"
 No.: 0283/M/KEPK-PTKMS/III/2025

Protokol penelitian yang diusulkan oleh :
 The research protocol proposed by

Peneliti Utama : Syahrani
 Principal in Investigator

Nama Institusi : Alih Jenjang Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Makassar
 Name of the Institution

Dengan Judul:
 Title
"Studi Hasil Pemeriksaan Staphylococcus aureus pada Infeksi Luka Pasca Operasi Metode Kultur dan PCR di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar"

"Study of Staphylococcus aureus Examination Results on Post-Operative Wound Infections Using Culture and PCR Methods at Dr. Wahidin Sudirohusodo General Hospital, Makassar"

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah, 3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Risiko, 5) Bujukan/Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

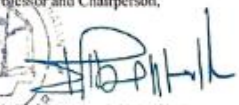
Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assessment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion/Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicators of each standard.

Pernyataan Layak Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 3 Maret 2025 sampai dengan tanggal 3 Maret 2026.

Declaration of ethics applies during the period March 3, 2025 until March 3, 2026.





Maret 3, 2025
 Professor and Chairperson,

H. Santia Sinata, S.Si, M.Si, Apt
 Ketua KEPK Poltekkes Makassar

 Dipindai dengan CamScanner

Lampiran 2. Surat Permohonan Izin Penelitian



Kemenkes
Poltekkes Makassar

Kementerian Kesehatan
Direktorat Jenderal
Sumber Daya Manusia Kesehatan
Politeknik Kesehatan Makassar
Jalan Wijaya Kusuma Raya No. 46 Banda Bantaeng
Makassar, Sulawesi Selatan 90222
(021) 84978693
<https://portal.poltekkes-mks.ac.id>

12 Maret 2025

Nomor : PP.08.02/F.XII.11.6/ 147 /2025
 Lampiran : -
 Perihal : Surat Izin Penelitian

Kepada Yth
Kepala Departemen Mikrobiologi FK UNHAS
Di-
Makassar

Sehubungan dengan penyelesaian semester akhir untuk Penyusunan Skripsi, maka Mahasiswi kami ingin melakukan Penelitian sebagai salah satu persyaratan dalam mengikuti Ujian Akhir Program Prodi Sarjana Terapan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Makassar, maka mohon kesediaan Bapak/Ibu kiranya Mahasiswi kami di bawah ini :

Nama : Syahrani
 NIM : PO.71.4.203.23.2.045
 Alamat : BTN Bonto Puasa Blok D/3 Maros
 Judul Penelitian : "Studi Hasil Pemeriksaan Staphylococcus aureus pada Pasien Pasca Operasi Metode Kultur dan PCR di RSUP dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar"

Agar kiranya dapat diberikan izin untuk melakukan Penelitian di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Atas perhatian dan kerjasamanya diucapkan terima kasih

Ketua Jurusan,

Rahman S.Si.M.Si
 NIP. 19641231 198603 1 032

Tembusan :
 Kepada Yth.
 1. Yang Bersangkutan
 2. Arsip

CS Dipindai dengan CamScanner

Lampiran 3. Surat Pengantar Penelitian

	ADMINISTRASI	FORMULIR 1
	Nomor : 148/04/FR1/2025	Tanggal : 29 April 2025
SURAT PENGANTAR PENELITIAN		

Kepada Yth.

Pembimbing/pendamping,

Bapak Syafri S.,

Dengan ini menerangkan bahwa peneliti/mahasiswa berikut ini :

Nama : Syahrani

NIM : PO714203232045

Institusi : Sarjana Terapan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes
Kemenkes Makassar

Akan melakukan pengambilan data/ analisa bahan hayati :

Pada tanggal : 30 April 2025 s/d Selesai

Jumlah subjek : ± 15 sampel Swab Luka

Jenis data : Data Primer

Untuk penelitian dengan judul :

"Studi Hasil Pemeriksaan Staphylococcus Aureus pada Pasien Pasca Operasi Metode Kultur dan PCR di RSUP Dr.Wahidin Sudirohusodo Makassar"

Harap dilakukan pembimbingan dan pendampingan seperlunya. Terima Kasih.

Staf Administrasi,


science for a better future



Catatan : Untuk Guide Services, Proses pengerjaan dilakukan oleh peneliti, Pendamping hanya mendampingi.

Formulir surat pengantar penelitian

Hal. 1 dari 1

Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian

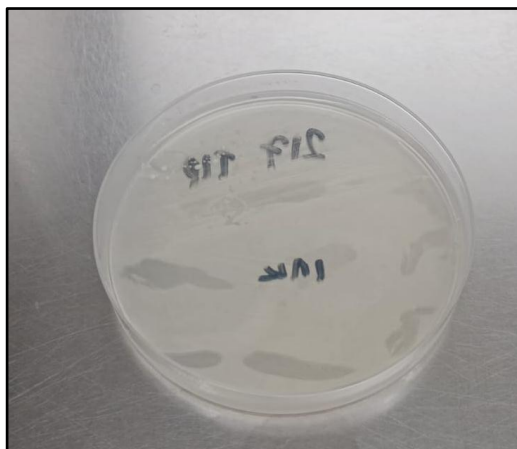
Gambar a. Media BAP & *Mac.Conkey* sebelum diinokulasi



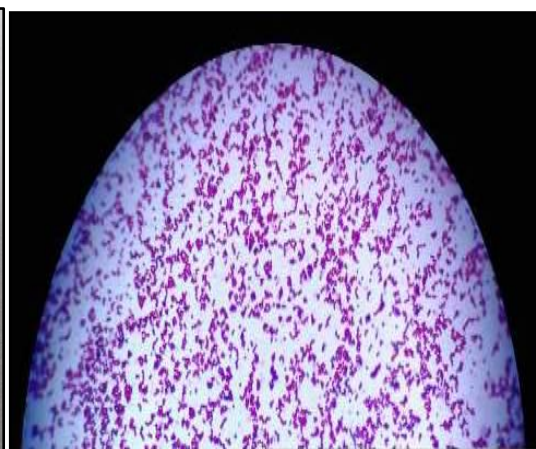
Gambar b. Media BAP Setelah diinokulasi



Gambar c. Media *Mac.Conkey* Setelah diinokulasi

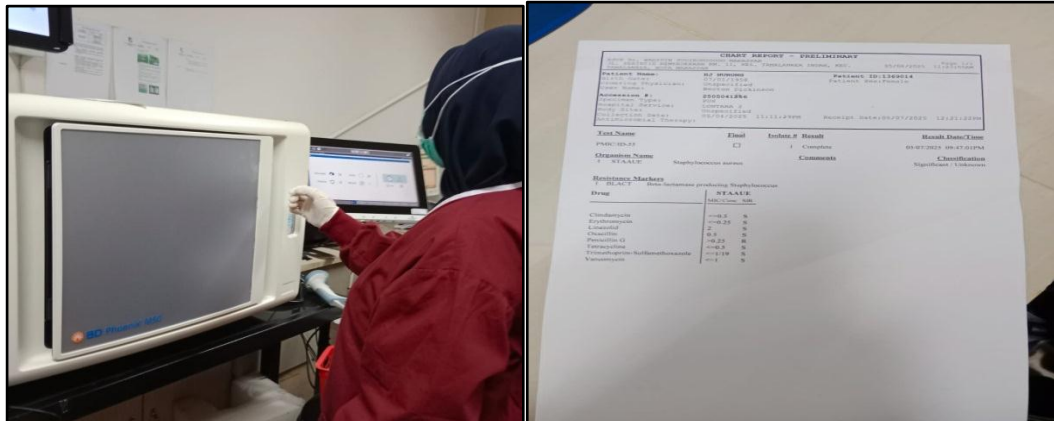


Gambar d. Pewarnaan Gram



Gambar e. Identifikasi Lanjutan menggunakan VITEK-2

Gambar f. Hasil Pemeriksaan *S. aureus* metode kultur



Gambar g. Proses Ekstraksi Sampel PCR

Gambar h. Proses Vortex Sampel PCR



Gambar i. Sampel siap untuk dianalisis

Gambar j. Sampel dianalisis menggunakan elektroforesis



Lampiran 5. Hasil Penelitian

a. Hasil Pemeriksaan Staphyloccous Metode PCR

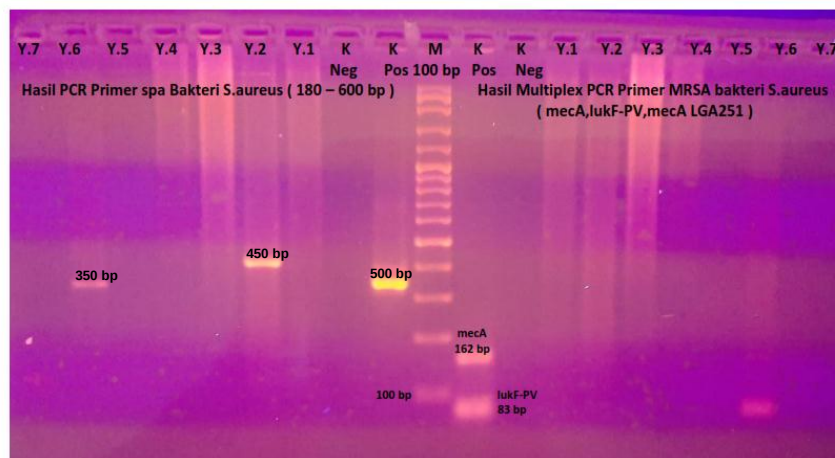


Tabel Hasil Pemeriksaan

No	Nama Pasien	Kode Sampel	Hasil Pemeriksaan				Kesimpulan Hasil
			PCR				
			Spa (100-600 bp)	mecA (102 bp)	lukF-PV (85 bp)	mecA LGA251 (138 bp)	
1		S.1	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Tdk ditemukan DNA dari bakteri <i>S.aureus</i> dan DNA MRSA dengan Urutan Primer Berdasarkan Refrensi Jurnal Refrensi Jurnal : Rapid detection, differentiation and typing of methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> harbouring either mecA or the new mecA homologue mecA LGA251
2		S.2	Positif	Negatif	Negatif	Negatif	Ditemukan DNA dari bakteri <i>S.aureus</i> ,Tetapi tdk ditemukan DNA untuk Gen MRSA dari bakteri <i>S.aureus</i> dengan Urutan Primer Berdasarkan Refrensi Jurnal Refrensi Jurnal : Rapid detection, differentiation and typing of methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> harbouring either mecA or the new mecA homologue mecA LGA251
3		S.3	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Tdk ditemukan DNA dari bakteri <i>S.aureus</i> dan DNA MRSA dengan Urutan Primer Berdasarkan Refrensi Jurnal Refrensi Jurnal : Rapid detection, differentiation and typing of methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> harbouring either mecA or the new mecA homologue mecA LGA251
4		S.4	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Tdk ditemukan DNA dari bakteri <i>S.aureus</i> dan DNA MRSA dengan Urutan Primer Berdasarkan Refrensi Jurnal Refrensi Jurnal : Rapid detection, differentiation and typing of methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> harbouring either mecA or the new mecA homologue mecA LGA251
5		S.5	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Tdk ditemukan DNA dari bakteri <i>S.aureus</i> dan DNA MRSA dengan Urutan Primer Berdasarkan Refrensi Jurnal Refrensi Jurnal : Rapid detection, differentiation and typing of methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> harbouring either mecA or the new mecA homologue mecA LGA251
6		S.6	Positif	Negatif	Positif	Negatif	Ditemukan DNA dari bakteri <i>S.aureus</i> ,dan ditemukan DNA untuk Gen MRSA dari bakteri <i>S.aureus</i> dengan Urutan Primer Berdasarkan Refrensi Jurnal Refrensi Jurnal : Rapid detection, differentiation and typing of methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> harbouring either mecA or the new mecA homologue mecA LGA251
7		S.7	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Tdk ditemukan DNA dari bakteri <i>S.aureus</i> dan DNA MRSA dengan Urutan Primer Berdasarkan Refrensi Jurnal Refrensi Jurnal : Rapid detection, differentiation and typing of methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> harbouring either mecA or the new mecA homologue mecA LGA251

Reporting Lab Research Associate of Molecular Microbiology

- **Name** : Syafri S., AMAK
- **Signature** : 
- **Date** : 22 Mei 2025



b. Hasil kultur *Staphylococcus aureus* pada Media Blood Agar Plate dan Pewarnaan gram

Kode Sampel	Media Blood Plate Agar				Pewarnaan Gram	
	Warna	Permukaan Koloni	Pinggir	Ukuran	Morfologi	Sifat Gram
S1	Tidak berwarna, hemolisis γ	Halus, mengkilat	Bulat rata	Sedang	Basil	-
S2	Putih, hemolisis β	Halus, cembung	Bulat rata	Sedang	Kokkus bergerombol	+
S3	Putih, hemolisis γ	Halus, cembung	Bulat tidak teratur	Besar	Basil	-
S4	Abu - abu, hemolisis γ	Bulat tidak teratur	Bulat tidak teratur	Besar	Basil	-
S5	Putih susu, hemolisis γ	Halus, cembung	Bulat rata	Sedang	Kokkus berantai	+
S6	Kuning keemasan, hemolisis β	Halus, cembung	Bulat rata	Besar	Kokkus bergerombol	+
S7	Putih keabu-abuan, halus mengkilat, hemolisis β	Halus, cembung	Bulat rata	Kecil	Kokkus berantai	+

c. Hasil Kultur pada Media *Mac. Concey*

Kode Sampel	Media Mac. Concey			
	Warna	Permukaan Koloni	Pinggir	Ukuran
S1	Merah metalik	Halus mengkilap	Bulat Rata	Sedang
S2	Tidak tumbuh	-	-	-
S3	Tidak berwarna	Cembung	Bulat Rata	Besar
S4	Tidak berwarna	Halus, Cembung	Bulat tidak teratur	Sedang
S5	Tidak tumbuh	-	-	-
S6	Tidak tumbuh	-	-	-
S7	Tidak tumbuh	-	-	-

Lampiran 6. Surat Keterangan Selesai Penelitian

	ADMINISTRASI	FORMULIR 2
	Nomor : 189/05/FR2/2025	Tanggal : 21 Mei 2025
SURAT KETERANGAN SELESAI PENGAMBILAN DATA/ ANALISA BAHAN HAYATI		

Dengan hormat,

Dengan ini menerangkan bahwa peneliti/mahasiswa berikut ini :

Nama : Syahrani
 NIM : PO714203232045
 Institusi : Sarjana Terapan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes
 Kemenkes Makassar
 Judul Penelitian : Studi Hasil Pemeriksaan Staphylococcus Aureus pada Pasien Pasca
 Operasi Metode Kultur dan PCR di RSUP Dr.Wahidin Sudirohusodo
 Makassar.

Telah selesai melakukan pengambilan data/ analisa bahan hayati :

Pada tanggal : 20 Mei 2025
 Jumlah subjek : ± 15 sampel swab luka
 Jenis data : Data Primer

Dengan staf pendamping/pembimbing :

Nama : Syafri S., AMAK
 Konsultan : -

Surat keterangan ini juga merupakan penjelasan bahwa peneliti/mahasiswa diatas tidak mempunyai sangkutan lagi pada unit/laboratorium kami.

Demikian surat ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Pendamping/Pembimbing

Syafri S., AMAK
 NIP

Mengetahui,
 Kepala Laboratorium,

science for a better future
dr. Rusdina Bte Ladiu, Ph.D
 NIP 198108302012122002



Lampiran 7. Data SPSS

Tabel Frekuensi Pemeriksaan *Staphylococcus aureus* Metode Kultur

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Negatif	5	71.4	71.4	71.4
Valid Positif	2	28.6	28.6	100.0
Total	7	100.0	100.0	

Tabel Frekuensi Pemeriksaan *Staphylococcus aureus* Metode PCR

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Negatif	5	71.4	71.4	71.4
Valid Positif	2	28.6	28.6	100.0
Total	7	100.0	100.0	

Frequencies sign test

	N
Negative Differences ^a	0
Staphylococcus Aureus Metode PCR - Pemeriksaan	0
Positive Differences ^b	0
Staphylococcus Aureus Metode Kultur	7
Ties ^c	7
Total	7

a. Staphylococcus Aureus Metode PCR < Pemeriksaan
Staphylococcus Aureus Metode Kultur

b. Staphylococcus Aureus Metode PCR > Pemeriksaan
Staphylococcus Aureus Metode Kultur

c. Staphylococcus Aureus Metode PCR = Pemeriksaan
Staphylococcus Aureus Metode Kultur

Test Statistics^a

	Staphylococcus Aureus Metode PCR - Pemeriksaan Staphylococcus Aureus Metode Kultur
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000

a. Sign Test

Lampiran 8. Master Data Penelitian

Master Data Penelitian Pemeriksaan <i>Staphylococcus aureus</i> metode Kultur dan PCR										
No	Kode Sampel	Umur (Tahun)	Jenis Kelamin	Hasil Pemeriksaan PCR				Hasil Pemeriksaan Kultur		Uji Kepekaan
				Spa (180-600 bp)	mecA(162 bp)	lukF-PV (83 bp)	mecA LGA251 (138 bp)			
1	S.1	46	P	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	<i>Escherichia coli</i>	Sensitif
2	S.2	12	L	Positif	Negatif	Negatif	Negatif	Positif	<i>Staphylococcus aureus</i>	Sensitif
3	S.3	71	L	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Sensitif
4	S.4	38	P	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	<i>Proteus mirabilis</i>	Sensitif
5	S.5	35	P	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	<i>Staphyococcus epidermis</i>	Sensitif
6	S.6	67	P	Positif	Negatif	Positif	Negatif	Positif	<i>Staphylococcus aureus</i>	Resisten
7	S.7	39	L	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Sensitif

