

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

*STUDY OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS TEST RESULTS IN POST-OPERATIVE
PATIENTS USING CULTURE AND PCR METHODS AT DR. WAHIDIN
SUDIROHUSODO GENERAL HOSPITAL, MAKASSAR*

Mursalim¹, Herman², Sitti Hadijah³, Syahrani⁴
Poltekkes Kemenkes Makassar

Koresponden: mursalim@poltekkes-mks.ac.id 081316091968

ABSTRACT

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

ABSTRAK

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*

PENDAHULUAN

Penyakit Infeksi adalah salah satu masalah kesehatan yang terbesar tidak hanya di Indonesia melainkan diseluruh dunia. Penyakit infeksi juga merupakan penyebab utama kematian didunia. Salah satu jenis mikroorganisme yang memiliki potensi penyebab infeksi luka yaitu *Staphylococcus aureus* (Indas dkk, 2023).

Berdasarkan WHO prevalensi infeksi luka diseluruh dunia 3 – 15% yang melalui *World Alliance for Patient Safety* juga menjelaskan bahwa total pasien yang melakukan tindakan pembedahan sekitar 27 juta pasien yang mengalami ILO 2-5% disetiap tahunnya (Kartikakasari & Apriningrum, 2020).

Infeksi luka pasca operasi merupakan salah satu bentuk infeksi nosokomial yang paling umum terjadi di rumah sakit. *Staphylococcus aureus* merupakan agen etiologi utama, dengan kemampuan untuk mengkolonisasi kulit dan mukosa, serta berpotensi menyebabkan infeksi sistemik. Deteksi dini dan akurat terhadap *Staphylococcus aureus* sangat penting dalam pengambilan keputusan terapi antibiotik. Faktor yang mempengaruhi luka infeksi ada dua faktor yaitu faktor operasi dan faktor pasien. Faktor yang dipengaruhi oleh operasi yaitu kurangnya sterilisasi alat, lama waktu operasi dan ventilasi ruangan operasi. Sedangkan faktor pasien dipengaruhi oleh kurangnya higienis pasien, usia pasien semakin bertambahnya usia maka daya tahan tubuh semakin menurun dan penyakit penyerta lain (Aziz dkk, 2020).

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. Metode kultur merupakan teknik konvensional yang umum digunakan di laboratorium mikrobiologi untuk identifikasi bakteri. Namun, metode ini memiliki keterbatasan dalam hal waktu dan sensitivitas. Sebagai alternatif, metode PCR berkembang sebagai teknik molekuler yang cepat dan sensitif, khususnya dengan target gen *spa* sebagai penanda spesifik *Staphylococcus aureus*.

METODE

Desain, tempat dan waktu

Jenis penelitian ini adalah studi laboratorik dengan pendekatan *cross sectional*. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui perbedaan metode kultur dan metode PCR pada pasien pasca operasi di RSUP dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar. Pemeriksaan specimen dilakukan di Laboratorium RS UNHAS HUMRC sejak tanggal 30 April – 20 Mei 2025.

Jumlah dan cara pengambilan sampel

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

spesimen swab pus luka sebanyak 8 spesimen. Teknik pengambilan spesimen yang digunakan yaitu teknik *Total Sampling*.

Alat dan Bahan

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 ependorf, tabung PCR, tips (1000 ul, 100 ul, 20 ul, 10 ul), gelas ukur, botol scoot 200 ml, tabung pcr. 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

Prosedur Kerja

1. 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. Cara Pembuatan Sediaan

2. Pengambilan Sampel

Langkah pertama menghilangkan kotoran 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.

3. Kultur Bakteri

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

4. Pewarnaan Gram

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

5. Ekstraksi DNA

Preparasi sampel (buat suspensi bakteri menggunakan Mac Farland 0,5-1 dalam tabung ependorf, lalu disentrifuge selama 5 menit dengan kecepatan 300 xg, supernatan dibuang dan ditambahkan 200 ul PBS, ditambahkan 20 ul Proteinase K mix), cell lysis (ditambahkan 200 ul GSB Buffer Vortex, lalu diinkubasi pada suhu 60°C selama 20 menit dimana tiap 5 menit divortex), DNA Binding (ditambahkan 200 ul Ethanol vortex selama 10 detik, masukkan kedalam GS Column dalam 2 ml collection Tube, Sentrifuge 14.000 – 16.000 rpm selama 1 menit buang cairan pada collection tube), Wash (ditambahkan 400 ul W1 Buffer, Sentrifuge 14.000 – 16.000 rpm selama 30 detik, buang cairan pada collection tube, ditambahkan 600 ul Wash Buffer Sentrifuge 14.000 – 16.000 rpm selama 30 detik, ganti collection tube dengan yang baru, sentrifuge dengan kecepatan 14.000 – 16.000 rpm selama 3 menit), elution (dipindahkan GS Column ke tabung ependorf steril, ditambahkan 100 ul elution buffer yang sebelumnya telah dipanaskan, sentrifuge dengan kecepatan 14.000-16.000 rpm selama 3 menit), buang GS Column (cairan yang terdapat pada tabung ependorf merupakan DNA produk yang siap untuk di PCR).

6. MIX PCR

Primer spa (Go Taq Master Mix 12,5 ul), primer spa-113F 0.5 ul, primer spa-1514R 0,5

- ul, nuclesa Free Water 6,5 ul, DNA Sampel 5,0 ul dengan total 25 ul.
7. Running PCR
Untuk Primer spa (Cycle 1 sebanyak 1x Suhu 94 °C selama 5 Menit (Pre-Denaturasi), Cycle 2 sebanyak x 30 Siklus Step 1 Suhu 94 °C selama 30 detik (Proses Denaturasi), Step 2 Suhu 59 °C selama 1 Menit (Proses Aneling), Step 3 Suhu 72 °C selama 1 Menit (Proses extension), Cycle 3 sebanyak 1x suhu 72 °C selama 10 menit (Final extension)
 8. Gel Elektroforesis
Dibuat Gel (ditimbang 2gr agarose dan dilarutkan dalam 100 ml TBE Buffer 0,5x untuk mendapatkan larutan agarose 2%, dicampurkan agarose dan TBE Buffer 0,5x dipanaskan hingga larut kemudian ditunggu hingga agak dingin kemudian ditambah 5µl Ethidium Bromida, larutkan agarose lalu dituang ke dalam cetakan dan tunggu hingga beku), pembuatan DNA maker (sebanyak 25µl DNA 100 bp ladder dimasukkan ke dalam tube berisi 1 ml Blue Juice Loading Dey dan dicampurkan untuk maker, laber tube dicopot dan di ganti menjadi maker), persiapan running elektroforesis, setelah itu running elektroforesis dan prosedur gel doc (menyalakan alat gel doc, mengatur posisi gel, mengatur gambar, save dan print gambar).

Pengolahan dan analisis data

Data yang diperoleh dianalisis terlebih dahulu secara deskriptif dalam bentuk narasi dilengkapi pemaparan tabel hasil pemeriksaan. Kemudian analisis data di lanjutkan dengan menggunakan program SPSS (*Statistical Program For Social Science*) untuk mengetahui perbedaan hasil pemeriksaan *Staphylococcus aureus* metode kultur dan metode PCR pada pasien pasca operasi melalui uji tanda (*sign test*)

HASIL

Berdasarkan penelitian yang dilakukan pada tanggal tanggal 30 April - 20 Mei 2025 di Laboratorium RS UNHAS HUMRC pada pasien paska operasi di RSUP dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar, didapatkan hasil penelitian sebagai berikut:

1. Distribusi Hasil Pemeriksaan *Staphylococcus aureus* Metode Kultur

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>Staphyococcus epidermis</i>
Y6	Positif	<i>Staphylococcus aureus</i>
Y7	Negatif	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Total (n) = 7		

Sumber : Data Primer, Mei 2025

2. Distribusi Hasil Uji Kepekaan Metode Kultur

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

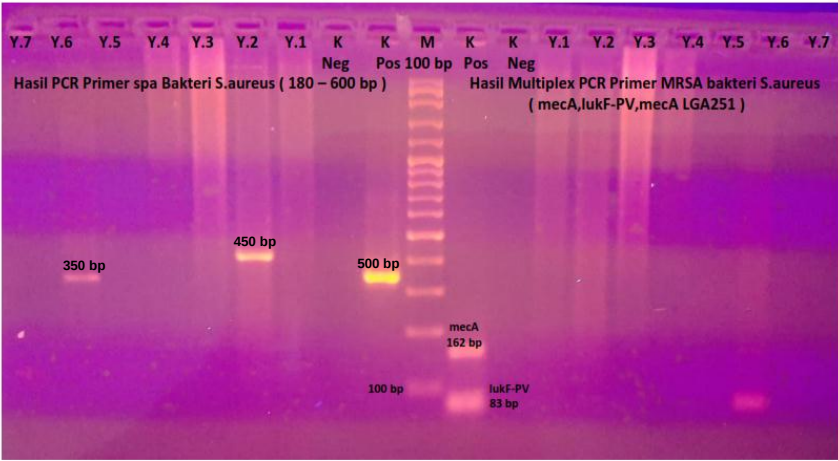
3. Hasil Pemeriksaan *Staphylococcus aureus* metode PCR

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

4. Gambar Hasil Elektroforesis



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

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

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

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 keabuan, kuning keemasan, serta ditemukan pula koloni abu-abu pucat atau tidak berwarna

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

Media *Mac.Conkey* merupakan media diferensial dan selektif yang digunakan untuk mengisolasi dan membedakan batang gram negatif yang memfermentasi 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 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* akan membentuk koloni berwarna merah muda akibat penurunan *pH*, sedangkan bakteri yang tidak memfermentasi laktosa seperti *Salmonella*, *Proteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Shigella* tidak dapat memanfaatkan laktosa dan akan menggunakan pepton sebagai gantinya. Ini membentuk amonia, yang meningkatkan *pH* agar, dan menyebabkan pembentukan koloni putih atau tidak berwarna yang terbentuk di pelat dan agar yang mengelilingi bakteri tetap relatif transparan (A. Sagar, 2022).

Sesuai sifat selektif dari media *Mac.Conkey* 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 *Mac.Conkey* (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

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 kadarluarsa, terkontaminasi, terlalu kering, atau mengandung komponen toksik akibat penyimpanan yang tidak tepat juga berpotensi gagal mendukung pertumbuhan (Atlas, 2010).

Setelah dilakukan inokulasi dan pembacaan pada kedua media ini, langkah selanjutnya dalam proses pewarnaan gram. Hasil penelitian menunjukkan sebanyak 3 sampel bersifat gram negatif dengan bentuk *basil* (batang), sedangkan 4 sampel berbentuk *coccus* (bulat) gram positif. Bakteri gram positif memiliki dinding sel tebal dari *peptidoglikan* menyerap dan mempertahankan warna ungu dari kristal violet-iodin 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)

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 *penisillin 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)

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.

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).

Pada sampel Y1, Y3, Y4, Y5 dan Y7 tidak menunjukkan adanya pita DNA (*gambar 4.1*). Menurut Faisal (2023), kegagalan hasil PCR bisa disebabkan oleh kontaminasi dalam reaksi PCR, seperti protein atau RNA yang mungkin menutup DNA target, menghalangi amplifikasi. Kontaminasi ini bisa muncul dari langkah isolasi DNA yang kurang baik atau pembuatan campuran PCR. Selain itu, kegagalan PCR juga bisa disebabkan oleh ketidakcocokan primer target DNA bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap gen target yang digunakan dalam proses amplifikasi (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 spesifisitas 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.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan penelitian yang dilakukan, maka dapat dikemukakan kesimpulan sebagai berikut: *Staphylococcus aureus* ditemukan pada pasien pasca operasi metode kultur dan metode PCR sebanyak dua sampel di RSUP dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar dan tidak terdapat perbedaan hasil pemeriksaan *Staphylococcus aureus* metode kultur dan metode PCR pada pasien pasca operasi di RSUP dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar.

SARAN

Dengan tercapainya hasil penelitian ini, maka disarankan kepada penelitian selanjutnya agar menggunakan sampel dengan jumlah yang lebih banyak dan mengidentifikasi spesies bakteri yang berbeda

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Allah SWT yang Telah memberikan kesehatan dan kekuatan untuk mengerjakan semuanya dengan baik dan kepada orangtua beserta keluarga tercinta yang selalu memberi semangat. Terima kasih yang sebesar-besarnya kepada : Bapak Rusli, Sp, FRS, Apt selaku Direktur Poltekkes Kemenkes Makassar, Bapak Rahman, S.Si, M.Si selaku Ketua Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Ibu Hj. Syahida Djasang, SKM, M.MKes, selaku Ketua Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis, Bapak Mursalim, S.Pd.,M.Kes selaku pembimbing I, Bapak Dr. H. Herman S.Pd.,M.Kes selaku pembimbing II dan Ibu Sitti Hadijah, S.Si.,M.Kes selaku Penguji.

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 Pakistan Medical Association*, 72(10), 2074–2076 <https://doi.org/10.47391/JPMA.4365>
- Amin, Shaloma Salsabila, Zakiyya 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 Kimia dan Ilmu Lingkungan* 1(1):30–35
- Amri, A. O. (2024). Identifikasi molekuler bakteri *Staphylococcus aureus* pada ulkus diabetikum pasien di RSUD Pamiaran (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.
- 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>

- Ayu Yasmini, N. P. (2023). Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* pada tangan perawat di ruang Intensive Care Unit Rumah Sakit Umum Daerah Tabanan. *Poltekes 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 Sjahranie Samarinda. *Jurnal Kebidanan Mutiara Mahakam*, 8(1), 21–37 <https://doi.org/10.36998/jkmm.v8i1.68>
- 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>
- 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
- 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
- RK. Eva et al., (2023). *Pengetahuan Media untuk Mahasiswa Teknologi Laboratorium Medis. Purbalingga* : CV. Eureka Media Aksara. ISBN. 978-623-151-897-2
- Tenover, F. C., et al. (2011). Performance of the VITEK 2 system for antimicrobial
- 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>



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,

Hl. Sandi Sinala, S.Si, M.Si, Apt
Ketua KEPK Poltekkes Makassar