SKRIPSI

DETEKSI *GEN Flagellin C* PADA *Salmonella typhi* PADA PENDERITA DEMAM TIFOID MENGGUNAKAN METODE PCR

Disusun dan diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Terapan Kesehatan (S.Tr. Kes) Pada Program Studi Diploma Empat (DIV) Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Teknologi Kesehatan Universitas Megarezky

NURHAERATI
B1D324086

PROGRAM STUDI D-IV TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS

FAKULTAS TEKNOLOGI KESEHATAN

UNIVERSITAS MEGAREZKY

MAKASSAR

2025

DETEKSI *GEN Flagellin C* PADA *Salmonella typhi* PADA PENDERITA DEMAM TIFOID MENGGUNAKAN METODE PCR

DETECTION OF *Flagellin C Gen* FROM *Salmonella typhi* in Typhoid Fever Patients Using The PCR Method

NURHAERATI
B1D324086

Dibimbing Oleh

Dr. Nirmawati Angria, S.Si., M.Kes
Pembimbing 1

Pembimbing 2
Prof. Dr. Dra. Apt. Hj. Asnah Marzuki, M.Si

Penguji
Indas Wari Rahman, S.Si., M.Kes

PROGRAM STUDI D-IV TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
FAKULTAS TEKNOLOGI KESEHATAN
UNIVERSITAS MEGAREZKY
2025

HALAMAN PENGESAHAN

SKRIPSI

DETEKSI *Gen Flagellin C* PADA *Salmonella typhi* PENDERITA DEMAM TIFOID MENGGUNAKAN METODE PCR

Disusun dan diajukan oleh

Nurhaerati

Nomor Induk Mahasiswa B1D324086

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi

Pada Tanggal 14 Agustus 2025

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Tim Penguji	**Tanda Tangan**
1. Dr. Nirmawati Angria, S.Si.,M.Kes	(.....)
2. Prof. Dr.Dra.apt.Hj.Asnah Marzuki, M.Si	(.....)
3. Indas Wari Rahman, S.Si., M.Kes	(.....)

Dekan
Fakultas Teknologi Kesehatan

(Prof.Dr.Dra.apt.Hj. Asnah Marzuki, M.Si)
NUPTK. 1350727628230013

Ketua Program Studi
D-IV Teknologi Laboratorium Medis

(Dr. Nirmawati Angria, S.Si., M.Kes)
NUPTK. 6950765666230332

KETERANGAN LOLOS UJI TURNITIN

LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN MASYARAKAT (LPPM)
UNIVERSITAS MEGAREZKY
SK. Menristekdikti RI. No.1194/KPT/I/2018 Terakreditasi BAN PT
Kampus II : Jalan Antang Raya No. 43 Telp. 0411 - 492 401 - 496401 Fax. 496614 Website : http://universitasmegarezky.ac.id-E-mail: info@universitasmegarezky.ac.id

KETERANGAN LOLOS UJI TURNITIN
No.167 /T/07.091056/ VIII /2025

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Syamsyuriyana Sabar, S.Kep., Ns., M.Kep

NIDN : 0915118602

Jabatan : Ketua LPPM

Menyatakan bahwa :

Nama : Nurhaerati

NIM : B1D324086

Prodi : D-IV Teknologi Laboratorium Medis

Judul Skripsi/KTI : Deteksi *gen Flagellin C* Pada *Salmonella typhi* Penderita Demam Tifoid Menggunakan Metode PCR

Telah melalui uji *similarity* dengan software *Turnitin* dan dinyatakan lolos dengan **persentase 22 %** sesuai bukti terlampir.

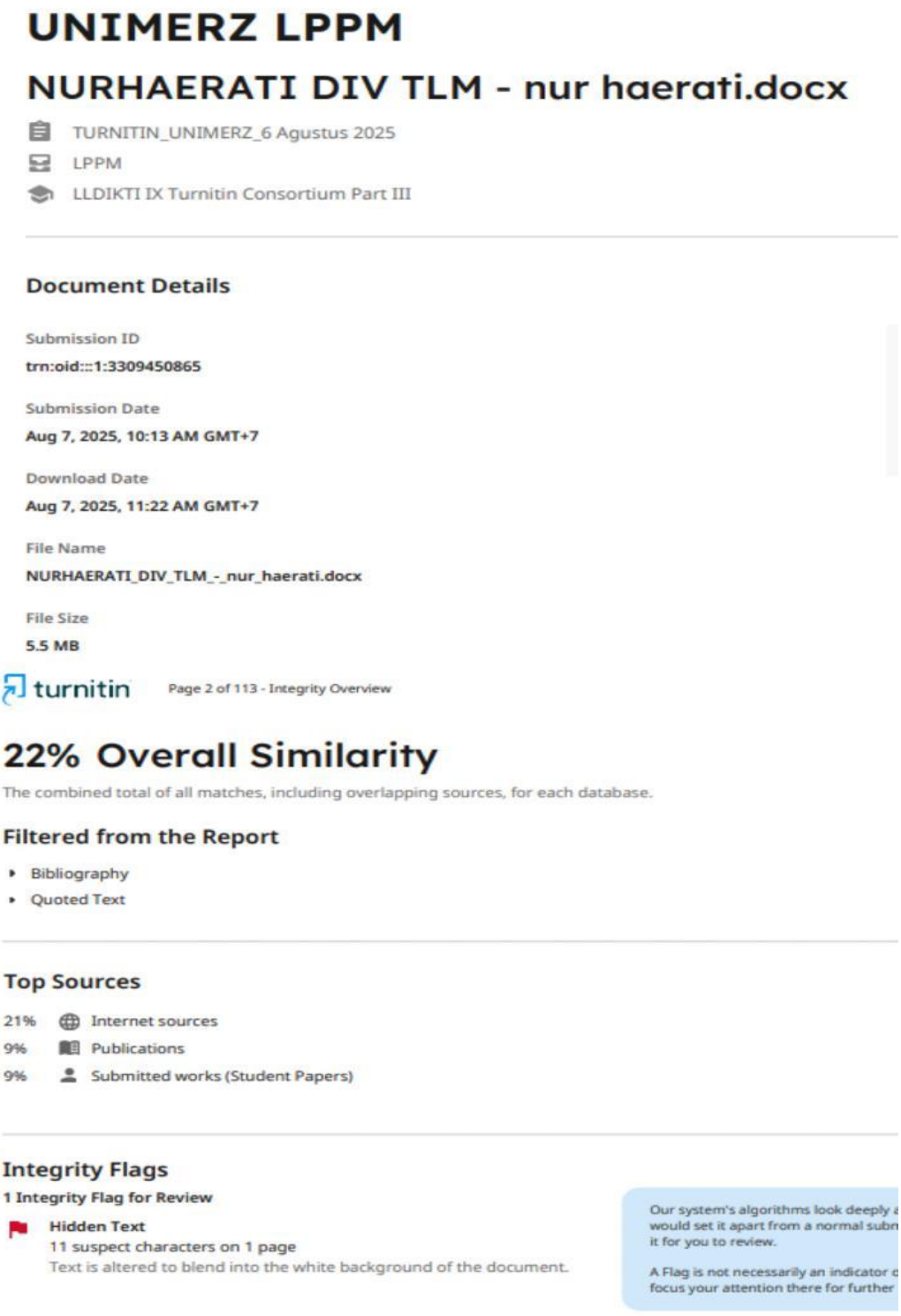
Demikian Surat Keterangan ini di buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Makassar, 08 Agustus 2025
Ketua,

Ns. Syamsyuriyana Sabar, M.Kep
NIDN: 09 151186 02

Dipindai dengan CamScanner

PLAGIARISM SCAN REPORT



UNIMERZ LPPM

NURHAERATI DIV TLM - nur haerati.docx

TURNITIN_UNIMERZ_6 Agustus 2025

LPPM

LLDIKTI IX Turnitin Consortium Part III

Document Details

Submission ID

trn:oid:::1:3309450865

Submission Date

Aug 7, 2025, 10:13 AM GMT+7

Download Date

Aug 7, 2025, 11:22 AM GMT+7

File Name

NURHAERATI_DIV_TLM_-_nur_haerati.docx

File Size

5.5 MB

turnitin Page 2 of 113 - Integrity Overview

22% Overall Similarity

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

Filtered from the Report

- Bibliography
- Quoted Text

Top Sources

21% Internet sources

9% Publications

9% Submitted works (Student Papers)

Integrity Flags

1 Integrity Flag for Review

Hidden Text

11 suspect characters on 1 page

Text is altered to blend into the white background of the document.

Our system's algorithms look deeply a
would set it apart from a normal subn
it for you to review.

A Flag is not necessarily an indicator o
focus your attention there for further

HALAMAN PERSEMBAHAN

Dengan mengucap ALHAMDULILLAH kepada Sang Maha Kuasa atas rezeki, kegigihan, ketekunan dan karuniaNya saya bisa menyelesaikan skripsi ini. Shalawat dan salam selalu kita agungkan kepada baginda Nabi Muhammad SAW, atas perjuangan beliau dan para sahabat sekarang kita dapat merasakan karunia alam dan karunia ilmu pengetahuan seperti yang kita rasakan saat ini

Skripsi ini saya persembahkan kepada :

Untuk Bapak dan Ibunda tercinta.

Pada persembahan yang spesial ini saya ingin menyampaikan terima kasih yang sangat sebesar-besarnya untuk bapak (Alm. A. Muh Yusuf Nur) dan Ibu (Aisyah, S.Pd) memberikan kasih sayang, doa, dukungan, arahan, material, dan biaya yang telah diberikan selama masa kuliah dan mendoakan penulis dalam keadaan apapun agar penulis mampu bertahan mampu bertahan untuk melangkah setapak demi setapak dalam meraih mimpi di masa depan hingga penulis dapat menyelesaikan kuliah dan memperoleh gelar Sarjan Terapan Kesehatan. Semoga Allah SWT selalu melindungi dan memberikan kesehatan untuk

Untuk Saudaraku.

Untuk saudaraku terima kasih kepada saudaraku atas apresiasi disetiap pencapaian penulis segala doa, kasih sayang, perhatian dan bantuan biaya perkuliahan selama ini. Semua yang telah diberikan akan selalu penulis ingat. Hanya karya kecil ini yang bisa penulis persembahkan.

Untuk Bapak dan Ibu Dosen Prodi D-IV Teknologi Laboratorium Medis
Serta Ibu Dosen Pembimbing Skripsi dan Ibu Dosen Penguji

Terima kasih kepada bapak/Ibu dosen yang telah memberikan ilmu pengetahuan, motivasi, bimbingan dan arahan selama menjadi Mahasiswa Semoga Allah SWT selalu memberikan kesehatan untuk bapak/ibu. Aamiin

ALMAMATERKU TERCINTA TEMPAT MENIMBAH ILMUKU
UNIVERSITAS MEGAREZKY, MAKASSAR

MOTTO

"Dan Allah bersama orang orang yang sabar." (Q.S. Al-Anfal ayat 66)

“Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan.” (Q.S. Al-Insyirah ayat 5-6).

“Pada akhirya takdir Allah SWT Selalu baik walaupun terkadang perlu air mata untuk menerimanya”.
(Umar Bin Khattab)

CURICULUM VITAE



Nurhaerati

B1D324086

Program studi	: D-IVTeknologi Laboratorium Medis
Alamat	: Jl. Paleo 1 N0.3 Antang Raya
Orang tua	
Ayah	: Alm. Andi Muhammad Yusuf Nur
Ibu	: Hj. Aisyah, S.Pd
Alamat Orang Tua	: Jl. A.P Pettarani Kec. Barru Kab. Barru
Riwayat Pendidikan	
SD	: SD Negeri 1 Barru
SMP	: SMP Negeri 1 Barru
SMA	: SMA Negeri 1 Barru
Prinsip Hidup	: Selama bisa bebuat baik kepada sesama, kita terus saling memberi. Tidak perlu takut menjadi miskin karena berbagi dengan sesama
Pesan dan Kesan	: Laksanakan tugas dengan ikhlas, jujur serta dengan rasa tanggungjawab

ABSTRAK

Nurhaerati. B1D324086. " Deteksi *Gen Flagellin C* Pada *Salmonella typhi* Penderita Demam Tifoid Menggunakan Metode PCR". Dibimbing Oleh Nirmawati Angria dan Asnah Marzuki.

Demam tifoid merupakan penyakit infeksi sistemik yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella enterica serovar typhi* (*Salmonella typhi*) dan masih menjadi masalah kesehatan di negara berkembang, termasuk Indonesia. Penyakit ini ditularkan melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi serta ditandai dengan gejala utama berupa demam berkepanjangan, gangguan saluran pencernaan, sakit kepala, dan dapat menyebabkan komplikasi serius.Salah satu target genetik yang banyak digunakan adalah gen *Flagellin C*, yaitu gen yang berperan dalam penyusunan struktur flagel bakteri, sehingga berhubungan erat dengan pergerakan, kolonisasi, serta virulensi *Salmonella typhi*.Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendeteksi gen *Flagellin C* pada penderita demam tifoid menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Jenis penelitian yang digunakan adalah deskriptif kualitatif dengan jumlah sampel sebanyak 10 darah pasien yang menderita demam tifoid. Proses deteksi dilakukan melalui teknik PCR dengan target amplifikasi sebesar 1500 bp. Berdasarkan hasil penelitian, seluruh sampel tidak menunjukkan adanya pita DNA (band) pada ukuran target, sehingga dapat disimpulkan bahwa gen *Flagellin C* tidak terdeteksi pada keseluruhan sampel penderita demam tifoid.

Kata Kuncil : ***Demam tifoid, Gen Flagellin C, PCR, Salmonella typhi***

ABSTRACT

Nurhaerati. BID324086. *"Detection of Flagellin C Gene in Salmonella typhi from Typhoid Fever Patients Using the PCR Method" (Supervised by Nirmawati Angria and Asnah Marzuki)*

Typhoid fever is a systemic infectious disease caused by the bacterium Salmonella enterica serovar typhi (Salmonella typhi) and remains a significant public health issue in developing countries, including Indonesia. The disease is transmitted through contaminated food and water, and is characterized by prolonged fever, gastrointestinal disturbances, headaches, and can lead to serious complications. One of the commonly targeted genes in the identification of Salmonella typhi is the Flagellin C gene, which plays a role in the structure of the bacterial flagella, and is therefore related to bacterial motility, colonization, and virulence. The aim of this study was to detect the Flagellin C gene in typhoid fever patients using the Polymerase Chain Reaction (PCR) method. This research employed a descriptive qualitative approach with a total of 10 blood samples from patients diagnosed with typhoid fever. The detection process was carried out using PCR with a target amplification size of 1500 base pairs (bp). Based on the results, none of the samples showed DNA bands at the target size, indicating that the Flagellin C gene was not detected in any of the typhoid fever patient samples.

Keywords*: Typhoid Fever, Flagellin C Gene, PCR, Salmonella typhi*



Dipindai dengan CamScanner

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah Subhanahu Wata'ala, atas berkah, rahmat, taufik, dan hidayahNya yang tak terhingga, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan Proposal Penelitian skripsi dengan judul "Deteksi *Gen flagellin C* dari *Salmonella typhi* pada penderita demam tifoid menggunakan metode PCR" yang merupakan salah satu persyaratan untuk mencapai gelar Sarjana Terapan Kesehatan pada Program Studi D-IV Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Teknologi Kesehatan, Universitas Mega Rezky

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, mungkin masih banyak kekurangan atau kelemahan baik dari segi penyusunan maupun dari pandangan pengetahuan, oleh karena itu penulis mengharap adanya saran pendapat atau kritik yang bersifat konstruktif dari semua demi kesempurnaan penulisan skripsi ini.

Selama proses penyelesaian skripsi ini banyak kesulitan dan hambatan yang penulis hadapi, namun atas bantuan dan bimbingan dan kerja sama dari sebuah pihak yang terlibat di dalamnya sehingga hambatan dan kesulitan dapat teratasi dengan baik. Untuk itu perkenankanlah penulis dengan segala hormat dan kerendahan hati mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kedua orang tua penulis bapak Almarhum **Andi Muhammad Yusuf Nur** dan Ibu **Hj. Aisyah S,Pd** yang telah mendidik, membesarkan, membiayai penulis hingga saat ini. Yang tidak henti-hentinya memberikan kasih sayang dengan penuh cinta dan selalu memberikan motivasi. Terima kasih untuk semuanya berkat do'a dan dukungan Bapak dan Ibu penulis bisa berada dititik ini. Sehat-sehat selalu ibu. Terkhusus untuk almarhum bapak. Alhamdulilah penulis sudah berada ditahap ini menyelesaikan skripsi ini yang sangat sederhana sebagai perwujudan terakhir saat engkau benar-benar pergi. Walaupun saya pada akhirnya berjuang dalam sakit dan tertatih sendiri tanpa engkau temani lagi. Terakhir, kepada saudara penulis **Yusril Mula Putra** terima kasih selama ini sudah mengantikan peran ayah. Terima kasih

sudah membiayai, memberikan doa, semangat, motivasi dan perhatian yang sangat luar biasa kepada penulis.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya juga penulis sampaikan kepada:

1. **Bapak Dr. H. Alimuddin SH.,MH.,M.KN sebagai Pembina Yayasan Pendidikan Islam Mega Rezky Makassar,** atas arahan dan pembinaan yang senantiasa menjadi fondasi dalam pengembangan institusi dan mahasiswa.
2. **Ibu Alm. Hj. Suryani, SH., MH sebagai Pendiri Yayasan Pendidikan Islam Mega Rezky Makassar,** atas dedikasi dan dedikasi dan kontribusi luar biasa dalam mendirikan lembaga pendidikan yang menjadi wadah pengembangan ilmu dan karakter.
3. **Bapak Moch. Noer Alim Qalby SH., LL.M sebagai Ketua Yayasan Pendidikan Islam Mega Rezky Makassar,** atas dukungan dan kebijakan strategis yang memfasilitasi proses pendidikan dan penelitian secara berkelanjutan.
4. **Bapak Prof. Dr. Anwar Ramli SE, M.Si sebagai Rektor Universitas Mega Rezky,** atas motivasi dan arahannya dalam membangun budaya akademik yang unggul dan berdaya saing.
5. **Ibu Prof. Dr. Dra. Apt. Hj Asnah Marzuki, S.Si., M.Si sebagai Dekan Fakultas Teknologi Kesehatan Universitas Mega Rezky**, atas kesempatan dan dukungan yang diberikan selama masa studi.
6. **Ibu Dr. Nirmawati Angria S.Si., M.Kes sebagai Ketua Program Studi DIV Teknologi Laboratorium Medis serta sebagai Penasehat akademik dan juga sebagai pembimbing I** yang telah memberikan arahan, meluangkan waktu membaca dan tenaga membimbing penulis memberikan ilmu dan mengarahkan penulis dalam penyusunan skripsi ini serta selalu sabar menghadapi penulis dalam proses menyelesaikan skripsi ini.
7. **Ibu Prof. Dr. Dra. Apt. Hj. Asnah Marzuki, M.Si sebagai pembimbing II** yang telah meluangkan waktu, tenaga dan memberikan bimbingan pengarahan dan evaluasi kepada penulis dalam penyusunan skripsi ini.

8. **Ibu Indas Wari Rahman S.Si., M.Kes sebagai penguji** dalam pelaksanaan ujian seminar proposal terima kasih ibu sudah meluangkan waktu, tenaga, dan masukan-masukan yang telah diberikan.
9. **Seluruh Dosen dan Staf Akademik Universitas Mega Rezky,** atas ilmu, perhatian, dan pelayanan yang diberikan selama proses studi.
10. Terima Kasih Kepada **Laboratorium Biologi Molekuler Prodi D-IV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Mega Rezky,** atas izin, dukungan, dan kerja samanya selama pelaksanaan penelitian.
11. Ibu **Dr. Rika Handayani S.KM, M.Kes** terima kasih selalu membantu penulis selama masa kuliah ini, selalu memberi motivasi, nasehat dan semangat kepada penulis agar dapat melanjutkan Pendidikan yang lebih tinggi lagi
12. **Teman-teman seperjuangan dan semua pihak** yang turut membantu secara langsung maupun tidak langsung dam penyusunan skripsi ini.
13. Terima kasih kepada **Ibu Habibah Sebagai Laboran Laboartorium Biologi Molekuler Prodi D-IV Universitas Mega Rezky,** atas bantuan selama penelitian dan fasilitas yang diberikan selama proses penelitian.
14. Terakhir, terkhusus untuk diri sendiri terima kasih sudah berjuang sampai detik ini, segala kerja keras dan semangatnya sehingga tidak pernah menyerah dalam mengerjakan tugas akhir ini.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penulisan sehingga penulis memohon maaf apabila ada kata-kata yang kurang berkenan. Oleh karena itu, saran dan kritik yang bersifat membangun sangat penulis harapkan. Semoga Proposal Penelitian Skripsi ini dapat memberikan wawasan dan sumbangsih terhadap ilmu pengetahuan di masa yang akan datang..

Makassar, 17 Maret 2025

Nurhaerati

DAFTAR ISI

SAMPUL Halaman

HALAMAN JUDUL ..... **i**

HALAMAN PENGESAHAN..... **ii**

KETERANGAN LOLOS UJI TURNITIN.....

PLAGIARISM SCAN REPORT.....

HALAMAN PERSEMBAHAN..... **iii**

MOTTO..... **iv**

CURRIULUM VITAE..... **v**

ABSTRAK.....

ABSTRACK.....

KATA PENGANTAR..... **vi**

DAFTAR ISI..... **vii**

DAFTAR TABEL..... **ix**

DAFTAR GAMBAR ..... **x**

DAFTAR BAGAN ..... **xi**

DAFTAR SINGKATAN ..... **xii**

DAFTAR LAMPIRAN..... **xiii**

BAB I PENDAHULUAN..... 1

A. Latar Belakang …….. 1

B. Rumusan Masalah 5

C. Tujuan Penelitian 5
D. Manfaat Penelitian 6
1. Untuk Akademik 6
2. Untuk Praktis..... 6
3. Untuk Penelitis..... 6

BAB II TINJAUAN PUSTAKA 7

A. Tinjauan Umum Demam Tifoid..... 7
1. Pengertian Demam Tifoid 7
2. Epidemiologi Demam Tifoid..... 7
3. Patogenesis Demam Tifoid..... 9
4. Gejala dan diagnosis Demam Tifoid 10
5. Cara Penularan Demam Tifoid..... 11
6. Etiologi Demam Tifoid..... 13
B. Tinjauan Umum *Salmonella typhi*..... 14
1. Definisi *Salmonella tyhphi* 14
2. Klasifikasi *Salmonella typhi* 15
3. Morfologi *Salmonella typhi* 15
4. Struktur Antigen..... 16
C. Tinjauan Umum Gen Flagellin C 16
1. Definisi Flagellin 17
2. Struktur dan fungsi Flagellin..... 18
D. Tinjauan Umum Pemeriksaan Laboratorium Diagnosis Lab 20
E. Tinjauan Umum PCR..... 28
1. Pengertian PCR..... 28
2. Komponen – Komponen PCR..... 28
3. Tahapan – Tahapan PCR..... 30
4. Definisi Elektroforesis..... 32
F. Kerangka Teori..... 33
G. Kerangka konsep 34
H. Definisi Operasional..... 34

BAB III METODE PENELITIAN 35

A. Jenis Penelitian..... 35
B. Lokasi dan Waktu Penelitian..... 35
C. Populasi dan Sampel 35
D. Kriteria Sampel 36
E. Alat dan Bahan..... 36
F. Prosedur Kerja 37
G. Teknik Pengumpulan Data 40
H. Teknik Analisa Data 41
I. Alur Penelitian 42
J. Etika Penelitian…….. 43

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN..... 44

A. Hasil Penelitian..... 44
B. Pembahasan..... 47

BAB V PENUTUP 55

A. KESIMPULAN 55
B. SARAN..... 55

DAFRAR PUSTAKA 56

LAMPIRAN..... 58

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 2.1 Gejala Demam Tifoid dan Infeksi *Salmonella* Non-Tifoid…… 10

Table 4.1 Karakteristik Subjek Penelitian Berdasarkan Jenis Kelamin dan Usia Penderita Demam Tifoid…… 44

Table 4.2 Karakteristik Subjek Penelitian Berdasarkan Hasil Pemeriksaan Uji Widal…… 45

Tabel 4.3 Karakteristik Subjek Penelitian Berdasarkan Lama Dema…. 46

Tabel 4.4 Hasil Pemeriksaan Deteksi Gen Flagellin C..... 46

DAFTAR TABEL

Halaman

Bagan 2.1 Kerangka Teori..... 27

Bagan 2.2 Kerangka Konsep..... 28

Bagan 3.1 Alur Penelitian 37

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 2.1 patogenesis bakteri *Salmonella typhi*..... 10

Gambar 2.2 Morfologi bakteri *Salmonella typhi*……..... 15

Gambar 2.3 Struktur Antigen bakteri *Salmonella typhi* 17

Gambar 2.4 *Flagellin C* pada *Salmonella typhi*..... 20

Gambar 2.5 *Salmonella* pada media SSA…… 22

Gambar 2.6 Hasil pemeriksaan uji widal……. 23

Ganbar 2.7 Pemeriksaan uji ELISA…….. 24

Gambar 2.8 Hasil SDS PAGE OMP *Salmonella typhi*…….. 24

Gambar 2.9 Skala warna hasil uji tubex…… 25

Gambar 2.10 Hasil uji Typhidot……. 26

Gambar 2.11 Hasil PCR Gen FIi C…… 27

Gambar 4.1 Hasil Visualisasi Elektroforesis *Gen Flagellin C*…… 47

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1. Data Subjek Penelitian…….. 62
Lampiran 2. Alat dan Bahan Penelitian……. 63
Lampiran 3. Insert KIT Protocol…… 64
Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian …… 65
Lampiran 5. Plagiasi Scan Report…….. 66
Lampiran 6. Surat Izin Penelitian……... 67
Lampiran 7. Surat Keterangan Selesai Meneliti……. 68

DAFTAR SINGKATAN

AST : *Aspartate Aminotransferase*

ALT : *Alanine Aminotransferase*

CG :*Cytosine Guanine*

dATP :deoksinadesinin Trifosfat

dCTP :deosin sitosin Trifosfat

dGTP :deosinguanosin Trifosfat

dNTPS :deosinnukleotida Trifosfat

DNA :*deoxyribonucleic Acid*

ELISA :*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*

GSB :*Glycerol Sodium Borate*

KDa :KiloDalton

MG :Magnesium

MN :Mangan

MgCI2 :Magnesium Klorida

OH :Hidroksil

SDS-PAGE :*Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis*

TBE :*Tri Borat* EDTA

TLR :*Toll Like Receptor*

UV :Ultraviolet

WHO : *World Health Organization*

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Demam tifoid merupakan penyakit infeksi akut sistem pencernaan yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi* atau *Salmonella paratyphi.* Demam tifoid merupakan penyakit infeksi global, terutama di negara negara berkembang. Demam tifoid ditularkan melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi oleh bakteri *Salmonella typhi*, selain itu gejala demam tifoid yang sering ditemukan adalah demam, malaise, nyeri perut, dan konstipasi (Levani dan Prastya, 2020).

Berdasarkan data dari *World Health Organization* (WHO), prevalensi penyakit demam tifoid semakin meningkat sejak 2019 menunjukkan 9,2 juta orang yang terinfeksi demam tifoid, 2020 menunjukkan terdapat 8,5 juta orang yang terinfeksi dan data tahun 2021 menunjukkan bahwa terdapat 10,2 juta orang sedangkan data tahun 2022 terdapat 10,7 juta orang yang terinfeksi demam tifoid. Peningkatan kasus tersebut didominasi oleh negara-negara paling banyak dijumpai di benua Asian Tengah Selatan dan sisi Selatan benua Afrika dan paling banyak juga ditemukan dinegara tropis dengan sanitasi yang buruk, sulit askes air bersih dan pemukiman padat penduduk seperti Bangladesh, Cina, India, Indonesia, Laos, Nepal, Pakistan (WHO, 2024).

Di Indonesia, kasus prevalensi demam tifoid juga mengalami peningkatan kasus setiap tahunnya. Data pada tahun 2020 mencatat bahwa 317.000 pasien demam tifoid di Indonesia. Jumlah tersebut kemudian

meningkat, sehingga data pada tahun 2021 terdapat 561.000 pasien demam tifoid di Indonesia. Data pada tahun 2022 mencatat 736.000 pasien demam tifoid di Indonesia. Negara Indonesia merupakan salah satu penyumbang angka demam tifoid yang cukup besar di dunia (Kemenkes RI, 2023).

Menurut Kementerian Kesehatan dan Kependudukan pada tahun 2023 menyatakan adanya dugaan wabah gastroenteritis yaitu demam tifoid. Sejak kasus pertama dilaporkan tanggal 28 juni 2023 hingga tanggal 29 Agustus 2023, total 2.389 kasus dugaan telah dilaporkan termasuk 52 kematian kasus dugaan demam tifoid mencapai 50,2% . 22 kasus *Salmonella typhi* yang terkonfirmasi. Kelompok usia yang paling banyak terkena adalah pasien berusia antara 5 – 30 tahun. .

Penyakit demam tifoid bisa menyebar melalui *fecal-oral* dari bakteri yang berasal dari tinja atau urin penderita bahkan *Carrier* (yang membawa penyakit tanpa gejala) yang lalu masuk ke tubuh manusia melalui air dan makanan yang terkontaminasi oleh bakteri. Bakteri ditularkan melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi serta melalui perantara lalat, yang akan mendarat dimakanan yang akan dikomsumsi oleh individu yang sehat (Nurzzaman *et al,* 2016).

Salah satu kelompok Gen bersifat virulensi dalam *Salmonella typhi* adalah Gen *Flagelin C*. Gen *Flagelin C* bakteri *Salmonella typhi* yang mengkode antigen *Hi-d.* Ketika *Salmonella typhi* masuk ke dalam tubuh manusia Gen *flagellin C* diaktifkan dan mulai mengkodekan protein flagelin. Protein flagelin ini kemudian dibawa ke permukaan bakteri dan membentuk flagella. Flagella

adalah alat pergerakan bakteri *Salmonella typhi* yang tersusun dari protein yang disebut flagellin. Peran dari Gen flagellin *Hi-d* ini yaitu melakukan mekanisme invasi membantu *Salmonella typhi* untuk bergerak dan menembus sel-sel epitel usus, sehingga memungkinkan bakteri untuk menginvasi tubuh. Gen flagellin C ini merupakan gen potensial daya invasif terhadap inang dan dimiliki *Salmonella typhi* pada penderita demam tifoid yang menyebabkan gejala petanda infeksi seperti demam turun naik sore dan malam hari, sakit kepala, gangguan gastrointelstinal konstipasi (diare), muntah, nyeri abdominal (Saptaningtyas, 2015).

Pemeriksaan umum yang dilakukan untuk diagnosa demam tifoid adalah pemeriksaan uji serologis dengan uji widal digunakan untuk mendeteksi antibodi spesifik terhadap komponen antigen *Salmonella typhi*. Namun, karena sensivitas dan spesifitasnya rendah maka uji widal menjadi kurang efektif lagi. Maka untuk pemeriksaan konfirmasi lanjutan adalah menggunakan metode PCR yang merupakan pemeriksaan lebih sensitif digunakan untuk dalam mendiagnosis demam tifoid Prinsip dari metode ini adalah dengan mendeteksi DNA (asam nukleat) gen flagellin bakteri *Salmonella typhi* dalam darah (Murzalina, 2019).

Deteksi gen *flagellin C* pada *Salmonella typhi* dapat dilakukan dengan dua metode yaitu metode PCR konvesional dan *Realtime* PCR. Hasil amplifikasi DNA dengan PCR konvesional, pengamatan keberadaan DNA diakukan pada akhir reaksi dengan menggunakan gel agarose setelah dilakukan proses elektroforesis. Sedangkan analisa menggunakan Real Time PCR

memungkinkan untuk dilakukan pengamatan pada saat reaksi berlangsung, keberadaan DNA hasil amplifikasi dapat diamati pada grafik yang muncul sebagai hasil akumulasi fluoresensi dari *probe* (penanda). Pada *Real Time* PCR pengamatan hasil tidak lagi membutuhkan tahap elekroforesis, sehingga tidak lagi dibutuhkan gel agarose dan penggunaan *Ethidium Bromide* (EtBr) yang merupakan senyawa karsiogenik (Pranawaty, et.al, 2015).

Pemeriksaan deteksi gen *Flagelin C* Dari *Salmonella typhi* kultur darah pasien widal postif pada penderita demam tifoid dengan menggunakan metode PCR sudah dilakukan oleh (Darmawati, 2015) hasil PCR gen *Flagellin C* menggunakan primer LPW. Kemudian dielektroforesis menggunakan 1% agarose menunjukkan bahwa ukuran pita pada hasil PCR gen FIic C pada strain *Salmonella typhi* SLT. 1 isolat salatiga setara dengan 1260bp, tampak berbeda dengan pita dari 8 strain *Salmonella typhi* yang lainnya dengan ukuran setara dengan 1500bp.

Selanjutnya penelitian tentang deteksi gen *flagellin C* dari *Salmonella typhi* sudah juga dilakukan oleh (Khan, 2012) hasil PCR gen *Flagellin C* menunjukkan bahwa nesled PCR untuk gen flagellin *Salmonella typhi* memberikan sensivitas 100 persen dan spesifitas 76,9%. Nilai prediksi positif PCR dihitung menjadi 76,9% persen dengan akurasi 86 persen.

Selanjutnya penelitian mengenai deteksi flagellin C juga pernah dilakukan oleh (Khzaal Saba Saadoon, 2019) hasil PCR mendeteksi gen Flagellin C yang bertanggung jawab atas atas patogenesis *Salmonella typhi* melaporkan bahwa gen Flagellin C mungkin bertanggung jawab atas peningkatan risiko

munculnya demam tifoid. Hasil penelitian menemukan bahwa gen Flagellin C terdeteksi melalui metode PCR.

Selanjutnya penelitian mengenai deteksi gen Flagellin C juga pernah dilakukan oleh (Jahan Nasreen, *et al,* 2023). Hasil penelitian di antara 72 pasien demam tifoid 33 (45,8%) positif tes widal dan 42 (55,5%) positif kultur darah. Dari 30 pasien dengan kultur darah negatif, dengan menggunakan metode PCR menunjukkan hasil positif pada 5 (16,7%) kasus demam tifoid. Sensivitas PCR bersarang masing-masing adalah 97,6%.

Adanya bakteri pada penderita demam tifoid perlu diketahui untuk menentukan arah dalam pengobatan pasien. Oleh karena itu peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang deteksi gen *flagellin C* dari bakteri *Salmonella thypi* pada penderita demam tifoid menggunakan metode PCR.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, maka rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu Apakah terdetesi gen *flagellin C* dari *Salmonella typhi* pada penderita demam tifoid menggunakan metode PCR?

C. Tujuan

Tujuan penelitian ini untuk mendeteksi gen *Flagellin C* dari *Salmonella typhi* pada penderita demam tifoid menggunakan metode PCR.

D. Manfaat

1. **Untuk Akademik**

   Sebagai bahan informasi dan dapat memperkaya khazanah ilmu pengetahuan khususnya dibidang biologi molekuler jurusan Teknologi Laboratorium Medis

2. **Untuk Praktis**

   Mampu meningkatkan pengetahuan dan wawasan serta sebagai bahan informasi atau masukan kepada Ahli Tenaga Laboratorium Medis tentang Deteksi gen *flagellin C* dari *Salmonella thypi* pada penderita demam tifoid menggunakan metode PCR

3. **Untuk Penelitis**

   Menambah pengetahuan ini dapat memberikan informasi sebagai gambaran untuk penelitian selanjutnya terkait deteksi bakteri *Salmonella thypi* melalui metode PCR

.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Umum Tentang Demam Tifoid

1. Definisi Demam Tifoid

Demam tifoid merupakan penyakit infeksi yang dapat menular, disebabkan oleh bakteri *Salmonella enterica serovar typhi* (S.*typhi*) dan *Salmonella enterica serovar enteritidis* (S.*entritidis*) merupakan bakteri gram negatif anaerob berbentuk basil yang memiliki karakteristik endotoksin khas, serta memiliki antigen Vi yang diyakini dapat meningkatkan aktivitas virulensi. *Salmonella typhi* ditularkan melalui kontak langsung dengan feses, urin, atau sekret penderita, dapat juga ditularkan melalui konsumsi makanan dan air yang terkontaminasi, namun kejadian demam tifoid seringkali diakibatkan oleh kebersihan dan sanitasi yang tidak memadai (Brocket *et al.,* 2020).

2. Epidemiologi Demam Tifoid

Beban keseluruhan penyakit bawaan makanan Penyakit ini sangat besar, yang menyebabkan 33 juta kematian setiap tahunnya. Hampir 1 dari 10 orang jatuh sakit karena penyakit bawaan makanan, dan *Salmonella typhi* adalah salah satu dari empat penyebab utama penyakit diare secara global. Asia Selatan-Tengah dan Asia Tenggara memiliki insiden penyakit tertinggi, diikuti oleh Amerika Latin dan Afrika. Pada tahun 2017, demam tifoid dan paratifoid sendiri menyebabkan 14,3 juta penyakit secara global. Laporan yang sama menunjukkan bahwa *Salmonella Typhi* menyebabkan

sekitar 76,3% demam enterik, dengan tingkat kematian global sebesar 0,95% pada tahun 2017. Sekitar 14,1% dari total kasus tifoid terjadi di Asia Tenggara, Asia Timur, dan super wilayah Oseania, diikuti oleh 12,1% dari total kasus tifoid yang dilaporkan dari Afrika sub-Sahara. 21 Laporan kasus umum yang tersedia tentang prevalensi demam tifoid di Afrika sub-Sahara dan Amerika Latin terbatas. Namun, tinjauan sistemik baru-baru ini terhadap kasus-kasus di Afrika sub-Sahara menunjukkan bahwa kejadian di negara-negara Afrika sangat heterogen dan meningkat seiring dengan peningkatan pengawasan sistem layanan kesehatan dari waktu ke waktu. (Chatterjee, 2023).

Demam tifoid dan paratifoid tersebar luas pada anak-anak kecil (terutama di bawah usia 5 tahun) dan orang dewasa yang lebih tua di negara-negara berpenghasilan rendah dan sering mengancam jiwa. Demam enterik endemik di negara-negara berkembang, di mana sanitasi yang memadai dan kekurangan air bersih akut menjadi masalah kesehatan masyarakat yang utama. 23,24 Meskipun gejala klinis tifoid dan paratifoid tidak dapat dibedakan, epidemiologi, kerentanan terhadap antibiotik, dan distribusi geografisnya berbeda. 25,26 Kasus paratifoid hingga demam tifoid lebih tinggi di daerah maju seperti Eropa Tengah (90,7%) dan subbenua berpenghasilan tinggi seperti Australia, Asia Pasifik, Amerika Utara, dan Eropa Barat. Di sisi lain, Asia Tengah, Eropa Timur, Amerika Latin, Afrika Utara, Timur Tengah, Asia Selatan, Asia Tenggara, Asia

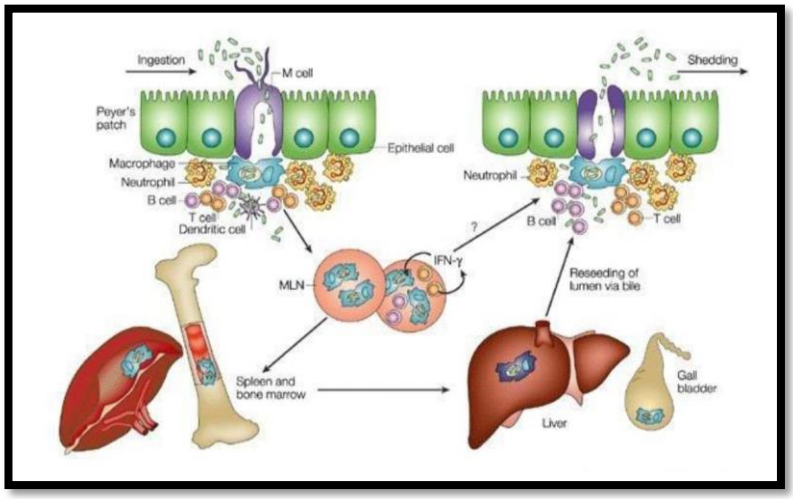
Timur, Oseania, dan Afrika Sub-Sahara menyumbang sekitar 53-98% dari 21 kasus demam tifoid yang dilaporkan (Chatterjee, 2023).

3. Patogenesis Demam Tifoid

Demam tifoid adalah penyakit demam akut yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi.* Penyakit ini khusus menyerang manusia. Bakteri ini ditularkan melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi oleh kotoran atau tinja dari seseorang pengidap atau penderita demam tifoid. Bakteri *Salmonella typhi* masuk melalui mulut dan hanyut ke dalam saluran pencernaan. Apabila bakteri masuk ke dalam tubuh manusia, tubuh akan berusaha untuk mengeliminasinya. Tetapi bila bakteri dapat bertahan dan jumlah yang masuk cukup banyak, maka bakteri akan berhasil mencapai usus halus dan berusaha masuk ke dalam tubuh yang akhirnya dapat merangsang sel darah putih untuk menghasilkan interleukin dan merangsang terjadinya gejala demam, perasaan lemah, sakit kepala, nafsu makan berkurang, sakit perut, gangguan buang air besar serta gejala lainnya (Imara, 2020).

Bakteri tersebut menembus mukosa epitel usus, berkembang biak di lamina propina kemudian masuk ke dalam kelenjar getah bening mesenterium. Setelah itu memasuki peredaran darah sehingga terjadi bakteremia pertama yang asimtomatis, lalu bakteri masuk ke organ-organ terutama hepar dan sumsum tulang yang dilanjutkan dengan pelepasan bakteri dan endotoksin ke peredaran darah sehingga menyebabkan bakteremia kedua. Bakteri yang berada di hepar akan masuk kembali ke

dalam usus kecil, sehingga terjadi infeksi seperti semula dan sebagian bakteri dikeluarkan bersama tinja (Imara, 2020).



Gambar 2.1 Patogenesis bakteri *Salmonella typhi*

(**Sumber: Ilham *et.al,* 2017**)

4. Gejala Demam Tifoid

Demam tifoid dan paratifoid tidak dapat dibedakan secara klinis. Diperlukan waktu inkubasi sekitar 8-14 hari setelah infeksi. Masa inkubasi juga bervariasi, dengan kisaran 3-60 hari. Penyakit ini dapat berlangsung dari beberapa minggu hingga beberapa bulan, tergantung pada paparan awal terhadap dosis infeksius dan waktu diagnosis serta pengobatan. Parameter ini juga mengatur tingkat keparahan penyakit selanjutnya dan komplikasi terkait. Namun, pada NTS infeksi lebih terlokalisasi, menyebabkan peradangan gastrointestinal. Masa inkubasi untuk NTS sekitar 2-3 hari, dan penyakit ini berlangsung selama 3-7 hari dan dapat sembuh sendiri pada inang yang sehat tanpa kondisi yang mendasarinya. 34-36 serovar NTS mengembangkan komplikasi parah pada individu

dengan sistem kekebalan tubuh yang lemah, seperti infeksi sekunder sistemik, kondisi kronis (artritis reaktif dan sindrom iritasi usus besar), dan penyakit demam lainnya (Hariharan, 2023).

Tabel 2.1. Gejala Demam Tifoid dan Infeksi *Salmonella* Non-Tifoid

Salmonella enterica serovar	Penyakit dan gejala
Tifoid (terbatas pada manusia) *typhi*, *Paratyphi*	Demam enterik, perut kembung dan nyeri, diare atau konstipasi, ruam makulopapular berwarna merah dibadan
Non-tifoid (berkisar luas)	Gastrointestinal, perut kembung dan nyeri, muntah, diare inflamasi

5. Cara Penularan Demam Tifoid

Pada daerah endemik penyabab utama penularan penyakit demam tifoid adalah air yang tercemar sedangkan di daerah non – endemik makanan yang terkontaminasi oleh *carrier* merupakan hal yang paling bertanggung jawab terhadap penularan demam tifoid. Penularan demam tifoid selain didapatkan dari menelan makanan atau minuman yang terkontaminasi dapat juga dengan kontak langsung jari tangan yang terkontaminasi tinja, urin, secret saluran nafas atau dengan pus penderita yang terinfeksi. Proses makanan atau minuman terkontaminasi didukung oleh faktor lain yakni manusia yang terlibat langsung dengan pengolahan bahan makanan serta perilaku kebersihan diri perorangan yang baik karena bakteri sering ditemukan pada tangan (Nuruzzaman dan Syahrul, 2016).

Kebersihan diri salah satu penularan dari penyakit saluran pencernaan adalah melalui tangan yang tercemar oleh mikroorganisme yang merupakan penyebab penyakit. Mencuci tangan sesudah buang air besar, mencuci tangan sebelum makan akan melindungi seseorang dari infeksi penyakit kemudian kondisi kuku jari tangan seseorang juga mempengaruhi terjadinya demam tifoid, mencuci tangan dengan benar harus menggunakan sabun serta air yang mengalir karena menggosok sela-sela jari dan kuku dapat mencegah bakteri yang berada di kuku jari tangan. Pencucian tangan dengan sabun dan diikuti dengan pembilasan dapat menghilangkan mikroba yang terdapat pada tangan-tangan yang kotor atau terkontaminasi dapat memindahkan bakteri dan virus patogen dari tubuh, tinja atau sumber lain ke dalam makanan atau minuman.

Penularan demam tifoid dapat terjadi melalui berbagai cara, yaitu dikenal dengan 5F yaitu (*food*, *finger*, *fomitus*, *fly*, *feses*) Feses dan muntahan dari penderita demam tifoid dapat menularkan bakteri *Salmonella typhi* kepada orang lain. Kuman tersebut ditularkan melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi dan melalui perantara lalat, di mana lalat tersebut akan hinggap di makanan yang akan dikonsumsi oleh orang sehat. Apabila orang tersebut kurang memperhatikan kebersihan dirinya seperti mencuci tangan dan makanan yang tercemar oleh bakteri *Salmonella typhi* masuk ke tubuh orang yang sehat melalui mulut selanjutnya orang sehat tersebut akan menjadi sakit (Nuruzzaman dan Syahrul, 2016).

6. Etiologi Demam Tifoid

Demam tifoid disebabkan oleh *Salmonella enterica serovar typhi* atau *Salmonella enterica serovar paratyphi* A, B, atau C, dan merupakan penyebab infeksi paling umum terjadi *Salmonella typhi* merupakan mikroganisme bakteri gram negatif yang bersifat aerob dan tidak mempunyai spora. Bakteri ini memiliki banyak jenis antigen, termasuk anti gen dinding sel atau antigen O, lipopolisakarida dan sifat spesifik kelompok. Mereka mengandung protein di flagel yang disebut antigen bendera kelompok atau antigen H. Lalu ada antigen toksik, polisakarida yang terdapat di dalam kapsul yang dapat melindungi seluruh permukaan sel. Antigen ini mempengaruhi tingkat bakteri yang menyerang dan efektivitas vaksin. *Salmonella typhi* juga dapat mengeluarkan endotoksin, yaitu bagian terluar dinding sel yang tersusun atas antigen O, liposakarida, dan lipid A. Ketiga antigen di atas menimbulkan antibodi terhadap aglutinin. D antigen keempat, protein membran luar (OMP), terdapat di sitoplasma membran luar dan di lapisan peptidoglikan, batas antara sel dan lingkungan luar. Tubuh manusia adalah tempat terbaik *Salmonella typhi* mungkin terjadi. *Salmonella typhi*, penyebab demam tifoid masuk ke dalam tubuh melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi dan kebersihan yang buruk. Begitu bakteri ini masuk ke dalam tubuh, masuk ke usus halus dan makanan serta minuman yang dimakannya, bakteri ini

menyebar ke seluruh organ tubuh, terutama hati dan limpa (Tobing, 2024).

B. Tinjauan Umum Tentang *Salmonella typhi*

1. Definisi *Salmonella typhi*

Salmonella typhi adalah bakteri patogen yang berasal dari genus *Salmonella* yang merupakan penyebab penyakit dari *salmonellosis*. Sumber infeksi berasal dari makanan dan minuman yang terkontaminasi feses penderita tipes menyebabkan berbagai infeksi yaitu gastroenteritis, demam tipes dan bacteremia (Nasution, 2022).

Salmonella typhi pertama kali ditemukan pada penderita tipes pada tahun 1880 oleh Robert Koch di budidaya bakteri pada tahun 1881. *Salmonella typhi* merupakan bakteri berbentuk batang, pada pewarnaan gram berwarna merah muda (gram negatif) (Vivien, 2020).

Bakteri *Salmonella typhi* merupakan bakteri yang dapat menyebabkan penyakit demam tifoid. Demam Tifoid menular melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi akibat penanganan yang tidak bersih (*hygiene*). Bakteri *Salmonella typhi* akan masuk ke saluran pencernaan dan masuk ke aliran darah sehingga menyebabkan peradangan pada usus halus dan usus besar (Susanto, 2020).

2. Klasifikasi *Salmonella typhi*

Adapun klasifikasi dari *Salmonella typhi* adalah sebagai berikut:

Domain : Bacteria
Phylum : Proteobacteria
Class : Gammaprotobacteria
Order : Enterobacterales
Family : Enterobacteriaceae
Genus : *Salmonella*
Species : *Salmonella enterica*
Subspecies : *Salmonella enterica* subspecies *enterica*
Serovar : *Salmonella typhi* (*Bergey's Manual*)

3. Morfologi *Salmonella typhi*

Bakteri ini adalah bakteri gram negatif batang, tidak berbentuk spora, bersifat motil, berkapsul dan flagellated (bergerak dengan rambut bergetar). Bakteri ini dapat hidup pada ph 6-8 pada suhu 15-41°C (suhu optimal 37°C). bakteri ini bisa mati bersama pemanasan 54,4°C selama satu jam dan suhu 60°C selama 15-20 menit, pasteurisasi, perebusan dan klorinasi. Terjadinya penularan *Salmonella typhi* di manusia yaitu melalui jalur *fecal-oral.* Sebagian besar karena kontaminasi makanan atau minuman tercemar (Vivien, 2020).



Gambar 2.2 Morfologi *Salmonella typhi*

(**Sumber: Imara, 2020**)

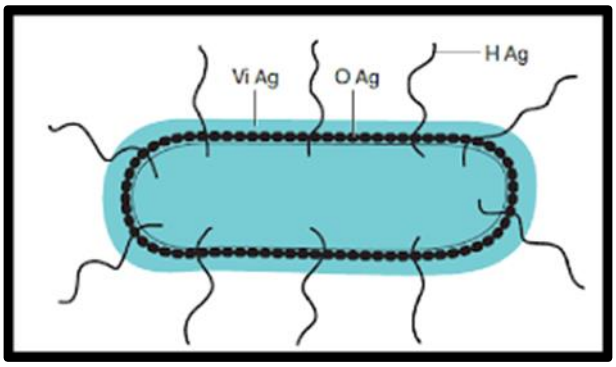
4. Struktur Antigen *Salmonella typhi*

Struktur antigen *Salmonella typhi* terdapat tiga macam antigen:

a. Antigen O (Antigenik somatik) adalah bagian terpenting dalam menentukan virulensi kuman. Bagian ini memiliki struktur kimia lipopolisakarida disebut endotoksin dan terletak pada lapisan luar tubuh germinal. Antigen ini bersifat hidrofilik, tahan terhadap suhu pemanasan 100°C selama 2-5 jam dan tahan alkohol 96% dan etanol 96% selama 4 jam pada suhu 37°C tapi tidak tahan terhadap Formaldehida. Antibodi yang terbentuk adalah igM. Namun, antigen O kurang imunogenik dan aglutinasi lambat. Jadi kurang baik untuk pemeriksaan serologi karena ada 67 faktor antigen, untuk setiap spesies memiliki beberapa faktor. Oleh karena itu antibodi O setelah infeksi lebih rendah dibandingkan antibodi H (Vivien, 2020).

b. Antigen H (Antigen flagella) yang terletak pada flagella dan fimbria (pili) kuman. Flagella ini terdiri dari badan basal yang menempel pada sitoplasma dinding sel germinal, struktur kimia ini protein yang resisten terhadap formaldehida tetapi tidak tahan terhadap panas dan alkohol 60°C, selain itu flagella juga terdiri dari komponen protein *polymerase* yang disebut flagelin dengan BM 51-57 kDa digunakan dalam pemeriksaan asam nukleat bakteri *salmonella typhi.* Antigen H aktif *salmonella typhi* dibagi menjadi dua fase yaitu fase I: spesifik dan fase II: non-spesifik. Antigen H sangat imunogenik dan antibodi yang terbentuk adalah igG (Vivien, 2020).

c. Antigen Vi (permukaan) terletak pada kapsul (*envelope*) dari kuman yang dapat melindungi kuman untuk difagositosis. Struktur kimia protein dapat digunakan untuk deteksi adanya karier dan akan rusak jika diberikan pemanasan selama satu jam pada suhu 60° dan pada pemberian asam serta fenol. antigen Vi merupakan polimer polisakarida yang mempunyai sifat kecut. Ditemukan pada bagian terluar tubuh kuman bersifat termolabil. Kuman yang dimiliki antigen Vi bersifat virulen pada hewan dan manusia. Antigen Vi juga menentukan sensitivitas terhadap bakteriofag dan di laboratorium sangat berguna untuk diagnosis cepat *Salmonella typhi.* Adanya antigen Vi menandakan adanya individu orang yang bersangkutan merupakan pembawa kuman (*carrier*) (Vivien, 2020).



Gambar 2.3 Struktur Antigen Bakteri *Salmonella typ**hi***
(**Sumber:Novarina,2020**)

C. Tinjauan Umum Tentang Gen Flagellin C

Flagellin adalah komponen struktual flagel, organ lokomotor yang sebagian besar terkait dengan bakteri Gram-negatif. Pada flagella bakteri Salmonella typhi terdapat gen FIiC atau fase 1 yang meng kode antigen *Hid-d* ini merupakan gen potensial daya invasif terhadap inang dimiliki oleh *Salmonella typhi.* Flagellin dicirikan oleh domain N- dan C-terminal yang sangat terkonservasi (domain D1 dan D2) dengan daerah hipervariabel yang mengintervensi (D3). Sebelumnya, flagellin dipandang sebagai faktor virulensi dalam konteks motilitas daripada memiliki peran dalam stimulasi imun (Sabir *et.al,* 2015).

Protein flagellin adalah protein yang tersusun dari banyak subunit protein dan merupakan protein yang menyusun flagella dari bakteri, bersifat imunogenik, dan dikode oleh gen Flic. Protein flagellin terikat pada *Tool-Like receptor* (TLR5) yang terdapat pada sel epitelium, sel dendritik dan makrofag untuk mengaktifkan gen yang berperan dalam sitem imun alamiah yang kemudian dapat menghasilkan toksin (IL-1, IL-8, TNF-α).

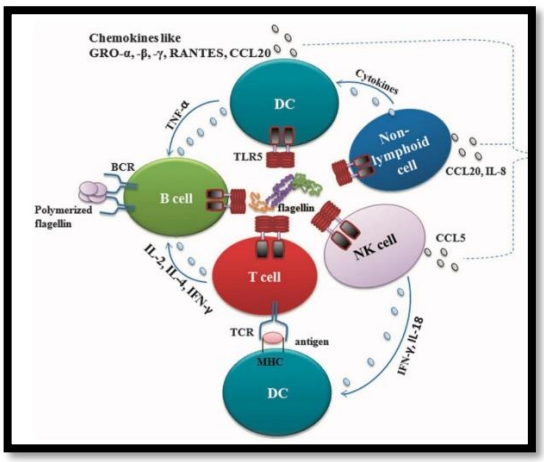
Bakteri *Salmonella typhi* dibedakan menjadi 2 serotipe berdasarkan antigen flagel yang diekspresikan, kedua antigen tersebut memiliki antigenisitas yang berbeda. *Salmonella typhi* serotipe H1 mengekspresikan gen flagellin H1(FIiC) yang terdapat pada kromosom yaitu Hd antigen, serotipe H2 mengekspresikan gen flagellin H2 ($FIiC^{z66}$) yang terdapat pada linear plasmid yaitu Hj antigen. Gen $FIiC^{z66}$ adalah gen FIi C yang mengalami delesi pada bagian sentral yaitu pada bagian *antigenically determinant*. Antigen Hj hanya dijumpai pada

Salmonella typhi di seluruh dunia, tetapi antigen Hj hanya dijumpai pada isolat dari Indonesia. Kebanyakan *Salmonella* memiliki dua macam gen tersebut, tetapi hanya diekspresikan salah satu gen saja.

Bakteri Gram-negatif tertentu, seperti *Salmonella typhi* mentranslokasikan flagellin ke dalam sitoplasma sel inag melalui sistem sekresi tipe III. Sistem sekresi tipe III adalah faktor virulensi yang sangat umum yang digunakan oleh bakteri Gram-negatif untuk memfasilitasi translokasi protein efektor, seperti flagelliin ke dalam sitoplasma sel inang untuk melakukan kontrol atas jalur persinyalan sel inang yang berbeda. Pengiriman flagellin dalam sitoplasma sel inang pertama kali dikenali oleh protein famili NAIP (keluarga NLR, protein penghambat apoptosis) NAIP5 dan NAIP6. Selanjutnya, kompleks NAIP5 dan NAIP6. Yang terikat flagellin berinteraksi dengan reseptor mirip NOD NLRC4, yang mengakibatkan aktivasi caspase-1, yang memecah pro interleukin -1 β menjadi IL -1 β aktif, sitokin proinflamasi poten yang penting untuk respons pertahanan inang terhadap infeksi dan cedera. Sementara domain N- dan domain C- terminal flagellin yang terpelihara diperlukan untuk aktivitas pengikatan TLR, pengenalan flagellin oleh NLRC4 tampaknya melibatkan 35 asam amino C- terminal flagellin, karena mutasi residu leusin spsifik dalam domain C- terminal membatalkan pembentukan inflammmasome yang dimediasi NAIP5 dan NAIP4.

Flagella tidak hanya mempengaruhi motilitas bakteri, pembentukan biofilm, dan kolonisasi tetapi juga telah terbukti berperan dalam virulensi, produksi toksin dan kebugaran pada banyak bakteri. Baru-baru ini, protein flagellin C

(gen flagella tahap akhir F1 dan protein utama yang terdiri dari flagel) telah dilaporkan memainkan peran penting selama infeksi C. Patogenesisnya sangat bergantung pada sejumlah faktor virulensi seperti kemampuan untuk adhesi (melekat) pada sel *host*, flagella, enzim, toksin, dan faktor bioaktif. Faktor virulensi yang akan memfasilitasi bakteri untuk melekat pada mukosa usus, invasi, multiplikasi dan menyebar masuk ke jaringan limfoid sampai ke aliran darah dan beredar ke seluruh tubuh sampai pada hati, sumsum tulang, limfa, dan kantung empedu.



Gambar 2.4 *Flagellin C* pada *Salmonella typhi*
(**Sumber: Hajam *et al,* 2017**)

D. Tinjauan Umum Tentang Pemeriksaan Laboratorium Diagnosis Demam Tifoid

Penegakan diagnosa demam tifoid sangat berkaitan dengan pemahaman patogenesis infeksi *Salmonella typhi* pada keadaan akut, kronis, dan fase penyembuhan. Pemeriksaan laboratorium yang dipilih harus disesuaikan. Menurut (Nurmansyah dan Normaidah, 2020). Pemeriksaan laboratorium

untuk diagnosa demam tifoid dibagi menjadi pemeriksaan baku emas (*gold standard*) dan pemeriksaan pendukung.

1**. Kultur Bakteri**

Ketika berhadapan dengan infeksi mikroorganisme, maka pemeriksaan kultur selalu dijadikan sebagai *gold* standar. Pemeriksaan kultur dapat mendeteksi keberadaan mikroba dengan baik, memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang baik, dapat membedakan mikroba penyebab demam tifoid atau demam enterik yang sama-sama disebabkan oleh mikroba genus *Salmonella typhi.* Bakteri hasil kultur dapat dijadikan isolat untuk keperluan lain seperti tes resistensi terhadap antibiotik untuk penentuan resistensi antibiotik bakteri isolat, karakterisasi genetik dari bakteri dengan teknik molekuler, dan studi epidemiologi (Crump, *et al.,* 2015).

Sampel yang digunakan untuk kultur menggunakan darah dan akan memberikan sensitivitas hingga 80% pada minggu pertama sampai minggu ke 3 infeksi. Beberapa penelitian menyatakan bahwa hasil kultur dengan sampel sumsum tulang menyajikan hasil lebih baik, terutama untuk keperluan diagnosa kuantitatif, namun pemeriksaan menggunakan sumsum tulang jarang dilakukan karena kesulitan pengambilan sampel sumsum tulang dan rasa tidak nyaman pada pasien (Crump, *et al.,* 2015). *Salmonella* juga dapat ditemukan pada feses pasien. Sebanyak 30 % pasien dengan demam tifoid positif dapat mensekresikan bakteri di fesesnya sampai dengan 3 bulan fase penyembuhan dan 1% pada sampel urinnya, terutama

pada pasien yang tidak medapat terapi dengan benar. Isolasi *Salmonella typhi* di laboratorium harus memperhatikan *biosafety* dan *biosecurity* di laboratorium, penggunaan laboratorium terstandar mutlak diperlukan untuk sensitivitas dan spesifisitas yang baik.

Adapun ciri – ciri *Salmonella typhi* yang tumbuh pada media *Salmonella Shigella Agar* (SSA) yaitu secara maskrokopis bentuk koloni bulat, berwarna hitam, permukaan cembung, tepi koloni rata sedangkan hasil ciri miskroskopis berbentuk batang, berwarna merah, susunan bakteri menyebar dan bersifat gram negatif (Sucipta, 2015).

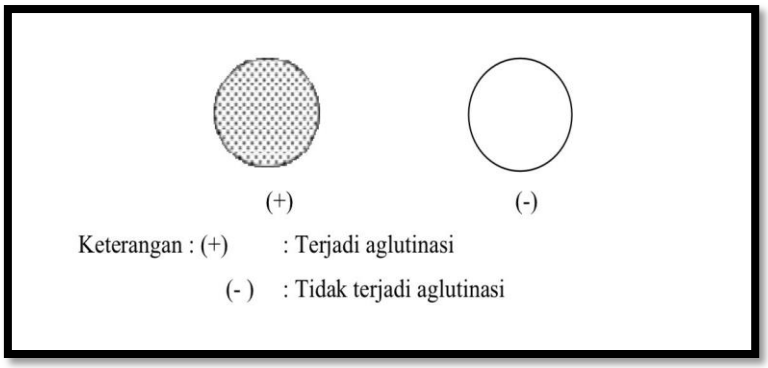


Gambar 2.5 *Salmonella typhi* pada media SSA
(**Sumber: Aryal, 2016**)

2. **Pemeriksaan Serologi**

Pemeriksaan serologi pada infeksi digunakan sebagai pemeriksaan penunjang pada diagnosa demam tifoid. Walaupun bukan *gold* standar, namun pemeriksaan ini memiliki nilai sensitivitas dan spesifisitas yang baik.

a. Pemeriksaan yang sering dan masih digunakan adalah tes Widal. Prinsip tes Widal adalah mengukur antibodi terhadap antigen *Salmonella typhi* O dan H . Pemeriksaan Widal dapat menentukan apakah infeksi akut atau kronis dengan peningkatan titer antibodi terhadap antigen O dan H, namun masih memerlukan pemeriksaan lain sebagai penentu diagnosa demam tifoid.

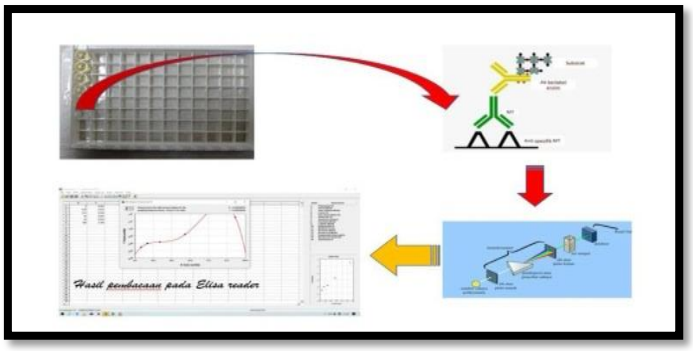


Gambar 2.6 Hasil pemeriksaan uji widal
(**Sumber: Harti dan Yuliani, 2015**)

Adapun interpretasi hasil pemeriksaan test widal dianggap mempunyai arti klinis sebagai berikut

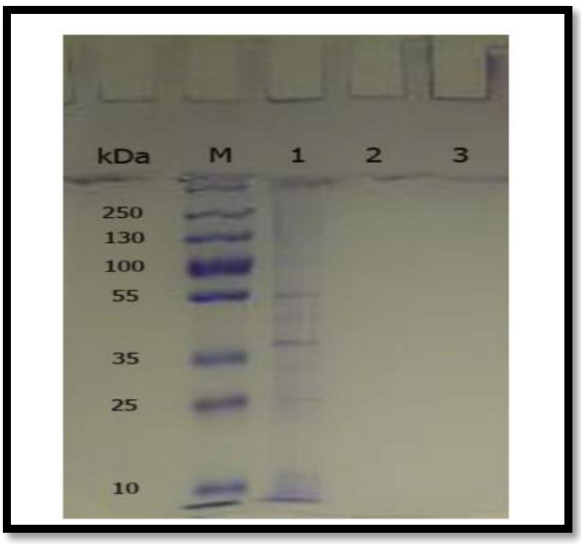
- Positif (+) : terjadi aglutinasi, berarti terdapat antibodi
- Negatif (-) : tidak terjadi aglutinasi, berarti tidak terdapat antibodi

b. ELISA telah digunakan sebagai salah satu pemeriksaan serologi pada infeksi demam tifoid, ELISA mengukur respon antibodi terhadap antigen Vi, LPS, dan OMP bakteri *Salmonella typhi*. Pemeriksaan ELISA dengan mendeteksi antigen LPS dan Vi dinilai lebih sensitif dibandingkan dengan uji Widal namun spesifisitas pemeriksaan ini masih perlu didukung dengan pemeriksaan yang lain.



Gambar 2.7Gambar pemeriksaan Elisa
(**Sumber. Santosa Budi, 2020**)

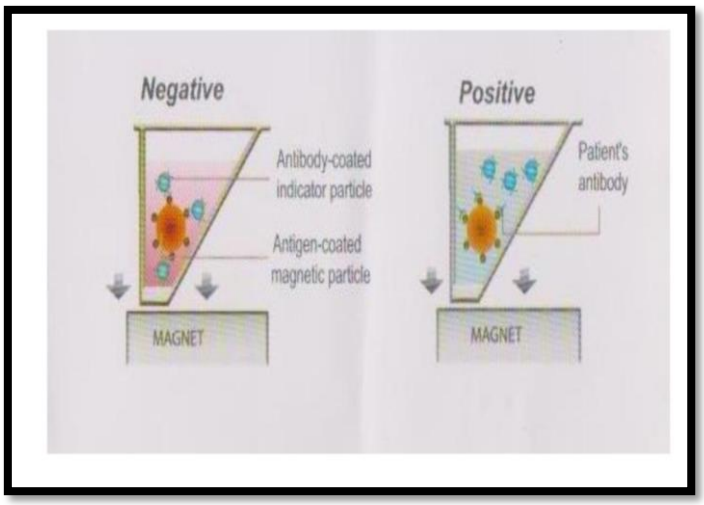
c. Pemeriksaan SDS-PAGE blotting yang mengukur antibodi serum terhadap LPS dan antigen flagella dari *Salmonella typhi* dan *paratyphi* dapat dijadikan pilihan lain untuk deteksi serologis demam tifoid.



Gambar 2.8 Hasil SDS PAGE OMP *Salmonella typhi*
(**Sumber. Hamzah, et.al, 2019**)

d. Tes Tubex merupakan salah satu dari uji serologi yang menguji aglutinasi kompetitif semikuantitatif untuk mendeteksi adanya IgM terhadap antigen lipopolisakarida (LPS)0-9 *Salmonella typhi* dan

tidak mendeteksi IgG. Tes tubex memiliki sensivitas dan spesifitas yang lebih baik daripada uji widal. sensivitasnya mampu ditingkatkan melalui penggunaan artikel berwarna, sedangkan spesifitasnya ditingkatkan dengan penggunaa antigen 09.

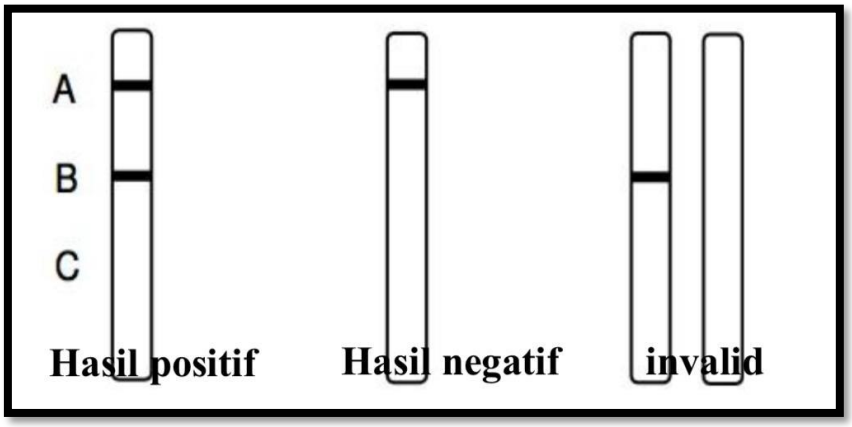


Gambar 2.9 Skala warna hasil uji tubex
(Sumber. Ilham, Nugraha, dan Purwanta, 2017)

Pembacaan hasil uji Tubex dilakukan setelah 5 menit proses sedimentasi partikel-partikel magnetik dengan magnet yang terdapat pada penyangga magnet. Hasil (semikuantitatif) dibaca secara visual berdasarkan warna yang terlihat setelah reaksi pencampuran dilakukan dan dibandingkan deng vxx an skala warna yang terdapat pada kit tubex. Rentang skor hasil yaitu dari 0 (warna merah, sangat negatif) dan (warna biru tua, sangat positif).

e. Uji Typhidot dimaksudkan untuk mendeteksi IgM dan IgG pada protein membran luar *Salmonella typhi*. Hasil positif diperoleh 2-3 hari setelah infeksi dan spesifik mengidentifikasi IgM dan IgG

terhadap *Salmonella typhi*. Ssensivitas 98% spesifitas 76,6%. Metode typhidot.



Gambar. 2.10 Hasil uji Typhidot
(**Sumber: Ilham *et al*,, 2017**)

Adapun interpretasi hasil pemeriksaan Typhidot-M

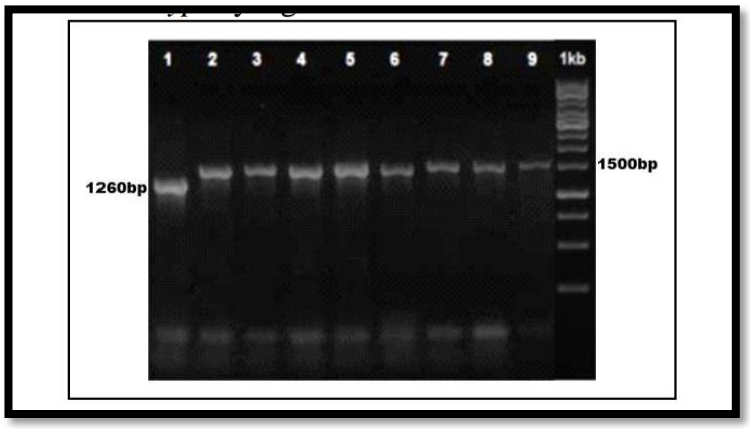
- Hasil Positif untuk antibodi spesifik *Salmonella typhi*. Warna tebal muncul di garis kontrol (A) dan garis tes (B).
- Hasil negatif untuk antibodi spesifik *Salmonella typhi:* hanya garis kontrol (A) yang terlihat.
- Hasil Invalid; garis kontrol (A) tidak ada. Jika hal ini terjadi, pengujian harus diulang menggunakan kaset pengujian yang baru. (Ilham, Nugraha, dan Purwanta, 2017)

3. **Pemeriksaan Molekuler**

Amplifikasi asam nukleat dari isolasi bakteri *Salmonella typhi* menjadi pemeriksaan dengan nilai sensitivitas yang sangat baik, yakni mencapai 90%. Beberapa gen yang dapat dijadikan target amplifiaksi menggunakan PCR adalah gen Hd-Flagellin Flic-D. gen viaß dari kapsul, *tyvelose epimerase gene* , gen 16sRNA, gen hilA, dan beberapa gen lain

yang spesifik . Nilai sensitivitas PCR dari hasil kultur darah adalah 90%. Metode PCR yang menggunakan sampel sumsum tulang memiliki nilai sensitivitas lebih baik (100%) dan hasil positif juga dilaporkan bisa ditemui pada sampel urine. Pemeriksaan laboratorium PCR digunakan dalam skala kecil penelitian dan belum dapat dijadikan pemeriksaan rutin di laboratorium klinik karena tidak semua laboratorium terfasilitasi PCR.

Deteksi gen *flagellin C* pada *Salmonella typhi* dapat dilakukan dengan dua metode yaitu metode PCR konvesional dan *Realtime* PCR. Hasil amplifikasi DNA dengan PCR konvesional, pengamatan keberadaan DNA diakukan pada akhir reaksi dengan menggunakan gel agarose setelah dilakukan proses elektroforesis. Sedangkan analisa menggunakan Real Time PCR memungkinkan untuk dilakukan pengamatan pada saat reaksi berlangsung, keberadaan DNA hasil amplifikasi dapat diamati pada grafik yang muncul sebagai hasil akumulasi fluoresensi dari *probe* (penanda). Pada *Real Time* PCR pengamatan hasil tidak lagi membutuhkan tahap elekroforesis, sehingga tidak lagi dibutuhkan gel agarose dan penggunaan *Ethidium Bromide* (EtBr) yang merupakan senyawa karsiogenik (Pranawaty, et.al, 2015).



Gambar. 2.11 Hasil PCR Gen *FIiC*
(**Sumber. Darmawati, 2015**)

4. Pemeriksaan Penunjang Lain

Pada beberapa penelitian dilaporkan bahwa kebanyakan penderita demam tifoid mengalami keadaan leukositosis dan eosinopenia. Walaupun tidak spesifik sebagai penanda adanya infeksi *Salmonella typhi*, namun pemeriksaan penunjang dapat dijadikan sebagai parameter pendukung penentuan diagnosa. Parameter Pemeriksaan penunjangnnya adalah pemeriksaan darah lengkap dan pemeriksaan kimia darah juga didapati adanya peningkatan AST dan ALT hingga 2-3 kali lipat nilai normal.

E. Tinjauan Umum Tentang PCR

1. Pengertian PCR

PCR merupakan metode molekuler untuk menggandakan potongan DNA hingga berjuta kali lipat dalam waktu yang relatif singkat. Komponen- komponen yang harus dalam proses PCR antara lain DNA cetakan yaitu potongan DNA yang akan dilipatgandakan, primer yaitu suatu potongan atau sekuesn dari oligonukleotida pendek yang digunakan untuk mengawali sintesis DNA, deoksiribonukleotida trifosfat (dNTP),

terdiri atas dATP, dCTP, dGTP, dTTP, dan enzim DNA *Polymerase* yaitu enizm yang melakukan katalisis reaksi rantai DNA, dan buffer (Wijayanti dsn Marbawati, 2015).

2. Komponen Komponen PCR

Komponen- komponen yang diperlukan pada proses PCR adalah template DNA sepasang primer, yaitu suatu oligonukleotida pendek yang mempunyai urutan nukleotida yang komplementer dengan urutan nukleotida DNA templat dNTPs (*Deoxynucleotide trifosfat*), buffer PCR, Magnesium Klorida (MgCI2) dan enzim *polimerase* DNA, primer akan mempengaruhi spesifitas dan sensivitas reaksi PCR (Yustinadewi *et al.,*2018).

a. DNA template

DNA template fragmen DNA yang akan diperbanyak, fungsinya sebagai cetakan untuk pembentukan DNA baru dengan sekuens atau urutan yang sama. DNA template ini dapat berupa genom, DNA plasmit, ataupun fragmen DNA hasil dari isolasi dan dapat dikatakan sebagai spesimen PCR. DNA template dapat diisolasi dengan sel mikroorganisme (bakteri, virus, dan protozoa) cairan tubuh seperti darah, urine , dan cairan tubuh lainnya (Moh Fairuz, 2022).

b. Primer

Primer merupakan salah satu parameter penentu keberhasilan suatu proses PCR. Primer berfungsi sebagai

pembatas fragmen DNA target yang akan diamplifikasi sekaligus menyediakan gugus hidroksi (-OH) pada ujung ke 3 yang diperlukan untuk proses eksitensi DNA rancangan primer yang kurang baik menyebabkan reaksi PCR tidak bekerja dengan baik sehingga menyebabkan produk PCR tidak spesifik atau terbentuknya primer dimer. Perancangan primer dapat dilakukan dengan membuat desain menggunakan *sofware* primer 3 perancangan atau desain primer yang tepat digunakan dalam amplifikasi DNA dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) (Yustinadewi *et al.,*2018).

c. DNA polymerase

Mekanisme kerja DNA *polymerase* adalah menambahkan nukleotida- nukleotida bebas hanya pada ujung 3 dari rantai DNA yang baru terbentuk sehingga terjadi elongasi atau pemanjangan pada rantai DNA yang baru dengan arah dari ujung 5 sampai 3(Moh Fairuz, 2022).

d. Reagen PCR

Reagen yang dibutuhkan dalam reaksi PCR di antarannya larutan penyangga, koenzim, dan deoksinukleotida triofosfat (dNTPs). Buffer atau larutan penyangga merupakan larutan yang menjaga ph dan lingkungan kimia yang sesuai agar DNA *polymerase* tetap stabil dan bekerja secara optimal. Reaksi Polimerasasi memerlukan koenzim yang digunakan adalah ion-

ion magnesium (Mg) atau mangan(Mn) Mg2+. dNTPs merupakan nukleotida yang mengandung tiga gugus fosfat yang berfungsi sebagai bahan yang membuat rantai DNA baru, dNTPs terdiri dari dATP (deoksiadenisin trifosfat), dTTP (deoksintimidin), dCTP (deoksisitidin trifosfat) dan dGTP (deoksinguanosin trifosfat) (Moh Fairuz, 2022).

3. Tahapan – tahapan PCR

Ada tiga tahapan dalam proses PCR (Riandini, 2019)

a. Denaturasi

Denaturasi adalah proses pemisahan untai ganda DNA menjadi untai tunggal dan sangat membutuhkan suhu yang tinggi antara 90 derajat celcius sampai 97 derajat celcius, pemisahan ini bertujuan untuk membuka rantai DNA sehingga dapat dikenali oleh primer dalam reaksi PCR.

b. *Annealing* (Penempelen Primer)

Annealing adalah proses pengenalan dalam penempelan primer pada *template* DNA. Proses ini penting untuk memastikan bahwa urutan DNA yang di amplifikasi adalah benar-benar target yang ditujukan, suhu yang dipakai dalam proses *Annealing* lebih rendah dibandingkan suhu denaturasi namun juga tidak boleh terlalu rendah untuk menghindari proses renaturasi. Penentuan suhu *annealing* tergantung dari primer yang dipakai yaitu dari banyaknya basa CG dan AT dalam primer

tersebut sehingga membutuhkan optimasi suhu untuk menghindari primer pada urutan DNA yang bukan targetnya

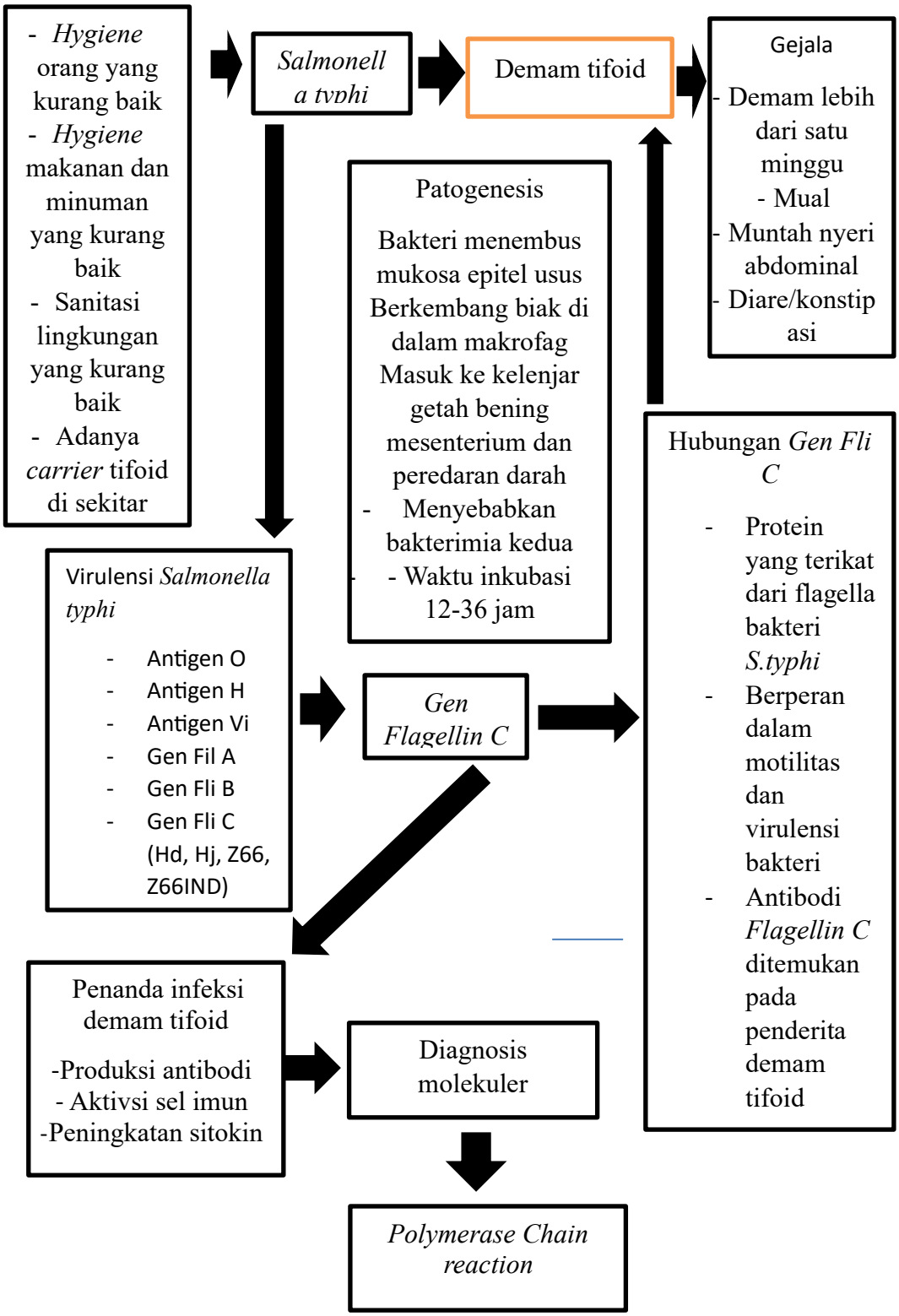
c. Pemanjangan Primer (ekstensi)

Proses terakhir adalah ekstensi atau elongasi yaitu pemanjangan urutan DNA sesuai dengan urutan yang ditempeli oleh primer menggunakan basa nukleotida yang di tambahkan dalam reaksi PCR.

4. Elektroforesis

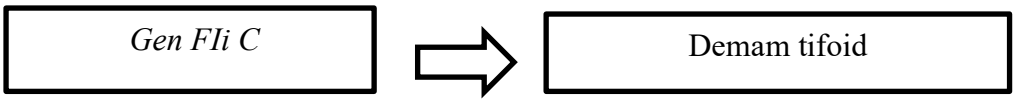
Elektroforesis adalah salah satu teknik untuk memvisualisasi DNA, RNA dan protein sesuai dengan berat molekulnya dengan bantuan arus listrik. Pada teknik ini menerapkan prinsip muatan negatif bergerak menuju muatan positif. DNA, RNA dan protein setelah proses elektroforesis akan tervisualisas akan terlihat seperti pita atau dikenal dengan istilah “band”. (Riandini, 2019).

F. Kerangka Teori



G. Kerangka Konsep

: Variabel Bebas Variabel Terikat



: **Bagan 2.2 Kerangka Konsep**

H. Definisi Operasional

1. *Salmonella typhi* adalah target untuk mendeteksi gen Flagellin C, yang merupakan gen yang mengkode protein flagellin ysng berperan dalam diagnosis demam tifoid.
2. Demam tifoid adalah sebuah penyakit bawaan makanan yang tergolong sebagai penyakit menular dan bersifat akut disebabkan oleh adanya infeksi bakteri bernama *Salmonella typhi*
3. Gen *Flagellin C* adalah gen yang mengkode protein flagellin pada bakteri *Salmonella typhi*. Flagellin adalah protein yang membentuk filamen flagela bakteri.
4. *Polymerase Chain Reaction* (PCR) adalah teknik sintetis dan amplifikasi DNA. Teknik PCR dapat digunakan untuk mengamplifikasi segmen DNA dalam jumlah jutaan kali hanya dalam beberapa jam.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah deskriptif kualitatif dengan menggunakan desain penelitian *cross sectional* yaitu dengan yaitu dengan mendeteksi *Gen Flagellin C* dari *Salmonella typhi* pada penderita demam tifoid dengan menggunakan metode PCR

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Pengambilan sampel dilakukan pada penderita demam tifoid di laboratorium Rumah Sakit Lakipadada Toraja. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler D-IV TLM Universitas Megarezky Makassar dan penelitian dilaksanakan pada tanggal 2 Juli – 9 Juli 2025.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

   Populasi sampel dalam penelitian ini adalah seluruh pasien penderita demam tifoid di Rumah Sakit Lakipadada Kabupaten Tana Toraja.

2. Sampel

   Sampel pada penelitian ini adalah sampel darah vena pada penderita demam tifoid di Rumah Sakit Lakipadada Kabupaten Tana Toraja yang memenuhi kriteria yang telah ditentukan

3. Teknik pengambilan sampel

Teknik pengambilan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah *purposive sampling* yaitu menentukan suatu sampel yang digunakan yang dipilih secara tertentu dan dianggap mewakili populasinya.

D. Kriteria Sampel

1. Kriteria Inklusi
   a. Pasien dengan hasil uji widal positif
   b. Pasien dengan jangka lama demam ≤ 7 hari
2. Kriteria Eksklusi
   a. Tidak bersedia menjadi responden

E. Alat dan Bahan

1. Alat

Adapun alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu *Cool box*, Spuit, tabung darah, t*orniquet*, Handscoon, Kolom Mini FABG Tabung Pengumpulan, Vortex, Tip Biru, Tip Kuning, *Water Bath* (Haru Tech), Mikropipet (jragon Lab), Centrifugasi Suhu TGL 18D, *Class* II A2 *Biological Safety Cabinet* (BSC), 200µl, 20µl, 10 µl dan tip 400 µl, 750 µl, dan 50 µl, *Laminar Air Flow* (LAF), *Thermal Cycler* T100(*Bio-Rad*) , Spidol, Label, Gelas Kimia 100ml, Gelas Ukur 100 ml, Erlemenyer 250 ml, Neraca Analitik, Spatula, *Freezer* BDF -86V160, Cetakan Agarose dan Sisir*, Hot Plate stirer*, Mesin Elektroforesis, dan Gel *Analyzer User* Manual. dan perangkat (*Bio-rad Gel Doc)*, UV transilluminator (*Bio-rad*), komputer dan *freezer.*

2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu sampel darah vena penderita demam tifoid, *Buffer W1*, *Buffer* Pencucian, *Buffer Elution* Proteinase K (Cair), PBS, *Etanol absolut* (96-100%), *TBE Buffer* 0,5, DNA *Marker, Mix* PCR, Mix PCR, Bubuk Agarosa, Alkohol, Marker, Primer *Forward* ATGGCACAAGTCATTAATTAATACAAAC dan Primer *Reverse* TTAACGCAGTAAAGAGAGGACGTT

F. Prosedur Kerja

1. Pengambilan Sampel

Pertama-tama dijelaskan terlebih dahulu tujuan penelitian kepada calon responden. Lalu, dibagikan lembar *Informed consent* kepada responden yang setuju. Kemudian responden mengisi kuesioner yang diberikan. responden diminta untuk mengepalkan tangan lalu pasang *tourniquet* ± 10cm di atas lipatan siku. Kemudian pilih vena bagian mediana. Setelah yakin dengan vena yang akan diambil darahnya, lakukan desinfeksi kulit yang akan ditusuk menggunakan alkohol *swab*. Setelah itu lakukan penusukan ke vena dengan sudut 15° secara perlahan sampai tampak darah pada jendela control. Tarik spoit perlahan – lahan seirama masuknya darah ke dalam badan spuit *disposable* hingga volume yang ditentukan. Setelah itu jarum ditarik dan dilakukan penekanan pada bekas tusukan dan selanjutnya di berikan plesterin pada bekas tusukan. Kemudian pindahkan sampel ke dalam botol transfort lalu homogenkan. Lalu, di masukkan dalam *cool box*. selanjutnya

dibawa di Laboratorium Biologi Molekuler Prodi DIV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Megarezky

2. Prosedur Pemeriksaan Molekuler

a. Ekstraksi DNA Metode Spin Column

Dimasukkan 200 µl sampel darah ke dalam tabung steril, kemudian ditambahkan 20 µl Proteinase K lalu homogenkan dengan cara divortex. Lalu untuk melisiskan sel Tambahkan 200 µl FABG *buffer* Kemudian diinkubasi pada suhu 60ºC selama 15 menit. (setiap 5 menit vortex) Setelah itu, Tambahkan 200 µl *etanol absolut* (96-100%) lalu vortex selama 10 detik. kemudian Masukkan ke dalam GS Column yang diwadahi dengan *Collection tube*. Sentrifugasi 6.000 rpm selama 1 menit. Buang cairan pada *collection tube*. Tambahkan 400 µl *W1 Buffer* sentrifugasi dengan kecepatan 6.000 rpm selama 1 Menit. Buang cairan pada *collection tube*, Tambahkan 750 µl *Wash Buffer*. Sentrifugesi pada kecepatan 6.000 rpm selama 30 detik. Ganti *collection tube* dengan yang baru, Sentrifugasi dengan kecepatan 6.000 rpm selama 1 menit, Pindahkan GS Column ke tabung ependorf steril, Tambahkan 200 µl *Elution Buffer.* Sentrifugasi dengan kecepatan 6.000 rpm selama 1 menit untuk mengelusi DNA total. Kemudian simpan DNA total pada suhu 4° C.

b. Amplifikasi PCR

Sebelum masuk ke tahap PCR, terlebih dahulu dilakukan PCR mix dengan memipet enzim masing-masing yaitu Red Mix sebanyak 12,5

µl. Kemudian ditambahkan primer masing-masing F&R ke dalam tube sebanyak 0,5 µl. Kemudian ditambahkan *Nuclease free water* sebanyak 11,5 µl lalu di vortex. Disiapkan 11 tube PCR dengan kode sampel K1 sampai 10 kemudian dimasukkan mix PCR masing-masing. Dimasukkan 5 µl sampel ke masing-masing tube setelah itu dibuat kontrol positif dengan memasukkan sampel sampel 5 µl dan mix PCR sebanyak 10 µl dan untuk kontrol negatif, dimasukkan mix PCR sebanyak 10 µl dan Nuclease free water sebanyak 5 µl.

Setelah itu di spin semua sampel selama 5-20 detik lalu dimasukkan sampel ke dalam alat PCR, pada tahap amplifikasi DNA dilakukan dengan menggunakan mesin *Thermal Cycler*, Siklus termal pada setiap protokol PCR terdiri dari 3 tahap yaitu: tahap 1 terdiri dari denaturasi dengan menggunakan suhu 46°C selama 30 detik. Tahap *anealing* menggunakan suhu 72°C selama 10 menit. Tahap *exention* menggunakan suhu 72°C selama 10 menit dengan jumlah siklus 32.

b. Elektroforesis Gel Agarosa

Prosedur diawali dengan pembuatan gel agarosa. Sebanyak 2 gram serbuk agarosa ditimbang dan dilarutkan dalam 50 mL larutan *TBE buffer* 0,5x. Campuran ini kemudian dipanaskan menggunakan *Hot Plate* hingga larut sempurna. Setelah larutan hangat atau suhu larutan menurun, ditambahkan 3 µl *Ethidium Bromide*. Setelau itu, larutan agarosa yang telah mengandung pewarna kemudian dituangkan ke dalam cetakan gel dan dibiarkan sampai mengeras pada suhu ruang

selama 20-30 menit. Setelah gel mengeras, dipindahkan ke dalam alat elektroforesis dan direndam dalam larutan TBE hingga seluruh permukaan gel tertutup cairan. Sampel hasil PCR sebanyak 10 µl kemudian di masukkan ke dalam sumur gel yang telah terbentuk. Kemudian ditambahkan pula 3 µl DNA marker ke salah satu sumur.

Proses elektroforesis dilakukan dengan mengalirkan aliran listrik sebesar 100 volt selama kurang lebih 80 menit. DNA bermuatan negatif akan menuju ke kutub positif melalui matriks gel dengan kecepatan migrasi yang bergantung pada ukuran fragmen DNA semakin kecil fragmen, semakin cepat bergerak. Setelah selesai, gel diangkat dan diletakkan di atas UV transilluminator atau alat dokumentasi gel untuk melihat hasil visualisasi pita pada DNA.

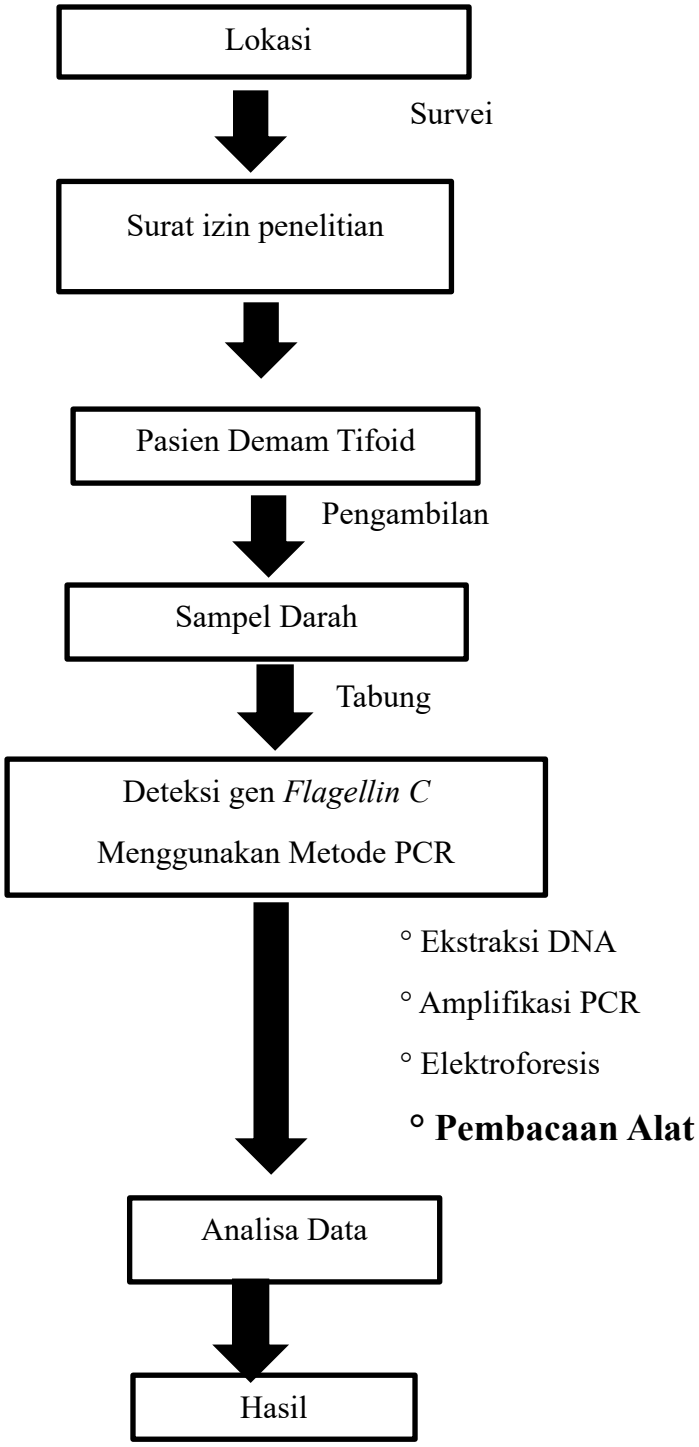
G. Teknik Analisa Data

Data sekunder didapatkan dari dokumen-dokumen yang berasal dari Laboratorium Rumah Sakit Lakipadada Kabupaten Tana Toraja yang terkait dengan penelitian ini.

H. Teknik Analisa Data

Hasil deteksi elektroforesis gel agarosa akan ditandai dengan 1500 bp dan dilihat pemotongan fragmen DNA pada Gel Doc yang disajikan dalam bentuk tabel dan gambar.

I. Alur Penelitian



J. Etika Penelitian

Penelitian ini melibatkan manusia sebagai subjek sehingga dalam pelaksananya tidak boleh bertentangan dengan etika penelitian

1. *Informed consent* (Lembar Persetujuan)

   Informed Consent adalah lembar persetujuan yang diberikan kepada subjek penelitian. Peneliti menjelaskan manfaat, tujuan, prosedur, dan dampak dari penelitian yang akan dilakukan. Setelah dijelaskan lembar *Informed Consent* diberikan kepada subjek penelitian, jika setuju maka *Informed Cons nt* harus ditanda tangani oleh subjek penelitian.

2. *Anonimity* (Tanpa Nama)

   Anonimity adalah tindakan menjaga kerahasiaan subjek penelitian dengan tidak mencantumkan nama pada *Informed consent* dan kuesioner, cukup dengan inisial dan memberi nomor atau kode pada masing-masing lembar tersebut.

3. *Confidentiality (*Kerahasiaan)

   Confidentiality adalah tindakan menjaga kerahasiaan subjek penelitian semua informasi yang didapat dari subjek penelitian. Beberapa kelompok data yang diperlukan akan dilaporkan dalam hasil penelitian. Data yang dilaporkan berupa data yang menunjang hasil penelitian. Semua data dan informasi yang terkumpul dijamin kerahasiaannya oleh peneliti.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Karakteristik Penelitian

Beberapa karakteristik subjek penelitian pada kelompok penderita demam tifoid menggambarkan sebaran rerata jenis kelamin, usia, hasil pemeriksaan uji widal, lama demam dan penggunaan antibiotik. Sebaran rerata jenis kelamin untuk laki-laki sebanyak 2 orang (20%) dan untuk perempuan sebanyak 8 orang (80%). Sebaran rerata usia 18-65 sebanyak 6 orang (60%) dan 65 tahun ke atas sebanyak 4 orang (40%). Kemudian selanjutnya karakteristik subjek penelitian menggunakan uji widal Seluruh pasien menjalani pemeriksaan serologis menggunakan uji Widal. Hasil pemeriksaan menunjukkan bahwa seluruh pasien memiliki titer antibodi yang sama, yaitu sebesar 1/320. Selanjutnya karakteristik subjek berdasarkan lama demam sebanyak 3 pasien yang mengalami lama demam 4-5 hari dan sebanyak 7 pasien yang mengalami lama demam 6-7 hari dan karakteristik subjek penelitian pada penggunaan antibiotik. Namun Pada penelitian ini, data mengenai penggunaan antibiotik tidak tersedia, sehingga tidak dilakukan analisis lebih lanjut terhadap variabel tersebut

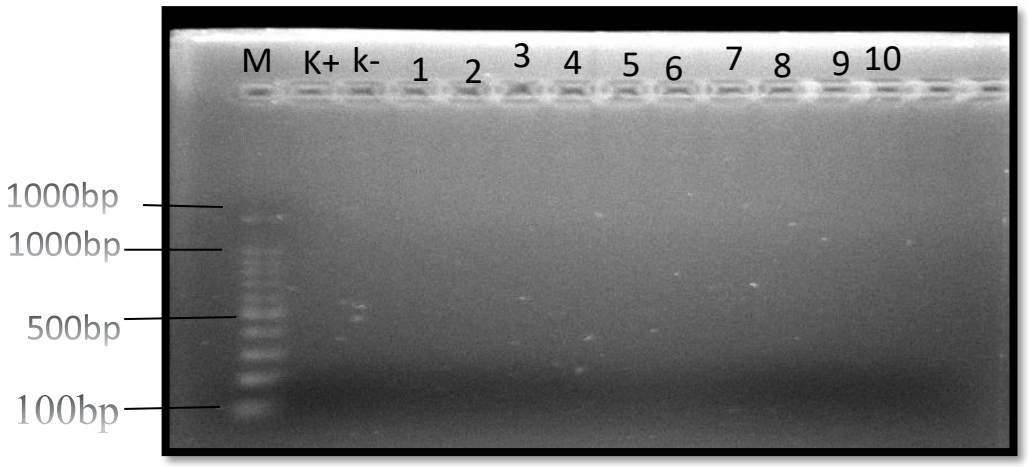
Tabel 4.1 Karakteristik Subjek Penelitian

Variabel	**N**	**%**
Jenis Kelamin		
- Laki – laki	2	18%
- Perempuan	8	82%
Total	10	100%
Usia		
Dewasa Muda (18-65 tahun)	6	60%
Lanjut Usia (65 tahun ke atas)	4	40%
Total	10	100%
Hasil Pemeriksaan Widal		
1/20	0	0
1/40	0	0
1/80	0	0
1/160	0	0
1/320	100	100%
Total	10	100%
Distribusi Lama Demam		
1-3 hari	0	0
4-5 hari	3	30%
6-7 hari	7	70%
Total	10	100%
Penggunaan Antibiotik		
	10	100%

2. Hasil Pemeriksaan Deteksi Gen Flagellin dari Penderita Demam tifoid

Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu sampel darah pada pasien penderita demam tifoid yang ada di Rumah Sakit Lakipadada Kabupaten Tana Toraja. Sampel yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 10 orang dan menggunakan 2 control yaitu control positif dan control negatif.

Pada pemeriksaan gen hasil ekstraksi DNA yang dilanjutkan dengan proses PCR (*Polymerase Chain Reaction)* dengan menggunakan primer spesifik *gen flagellin* C dengan target 1500 bp. Kemudian divisualisasi dengan elektroforesis seperti gambar 4.1



Gambar 4.1 Hasil visualisasi elektroforesis gen Flagellin C

Keterangan:

M = Marker

K+ = Kontrol Positif

K- = Kontrol Negatif

B1-B10 = Kode Sampel

Hasil visualisasi elektroforesis dengan primer spesifik *gen Flagellin C* seperti gambar 4.1 dapat dilihat dari semua sampel tidak terbentuk pita pada DNA gen *Flagellin C* pada target 1500 bp.

Tabel 4.2 Hasil Deteksi Gen Flagellin C Pada 10 Sampel Menggunakan Metode PCR

Kode Sampel	Hasil	Keterangan
B1	Tidak Terdapat Pita DNA	Negatif
B2	Tidak Terdapat Pita DNA	Negatif
B3	Tidak Terdapat Pita DNA	Negatif
B4	Tidak Terdapat Pita DNA	Negatif
B5	Tidak Terdapat Pita DNA	Negatif
B6	Tidak Terdapat Pita DNA	Negatif
B7	Tidak Terdapat Pita DNA	Negatif
B8	Tidak Terdapat Pita DNA	Negatif
B9	Tidak Terdapat Pita DNA	Negatif
B10	Tidak Terdapat Pita DNA	Negatif

Berdasarkan tabel 4.2 hasil pemeriksaan deteksi gen Flagellin C pada 10 sampel (B1-B10) didapatkan hasil bahwa seluruh sampel menunjukkan hasil negatif, yaitu tidak terdapat pita DNA yang menunjukkan adanya *gen flagellin C*. Hasil negatif ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor, seperti tidak adanya bakteri *Salmonella* pada sampel, kualitas sampel yang buruk, atau kesalahan dalam proses PCR

B. Pembahasan

Pada Penelitian ini dilakukan pada tanggal 4 Juli – 9 Juli 2025 di Laboratorium Biologi Molekuler DIV TLM Universitas Mega Rezky Makassar. Proses pengumpulan Sampel pasien penderita demam tifoid di

Rumah Sakit Lakipadada Kabupaten Tana Toraja. Sampel yang digunakan berupa darah pasien demam tifoid yang di rawat inap sebanyak 10 sampel. Penelitian ini menggunakan metode PCR konvesional untuk mendeteksi adanya band DNA target target yang terbentuk yang terlihat dari pembacaan visualisasi melalui *gel doc.*

Adapun tujuan dari penelitian ini ialah untuk mendeteksi Gen *Flagellin C* Pada *Salmonella typhi* penderita demam tifoid menggunakan metode PCR Demam tifoid merupakan penyakit infeksi akut sistem pencernaan yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi*. Untuk mengetahui jenis mikroorganisme yang menjadi penyebab infeksi maka harus dilakukan pemeriksaan salah satunya secara molekuler.

Pemeriksaan molekuler dapat membantu mendeteksi gen *flagellin* C pada *Salmonella typhi* secara cepat dapat menjadi salah satu cara untukm mendiagnosis demam tifoid secara akurat dan tepat yaitu melalui metode PCR. *Polymerase Chain Reaction* (PCR) merupakan teknik memperbanyak sekuens DNA Secara in vitro. Metode ini memiliki 3 tahapan utama pada prosesnya yaitu terdiri dari Ekstraksi/Isolasi DNA, PCR mix/Amplifikasi PCR, dan elektroforesis.

Berdasarkan distribusi jenis kelamin berdasarkan karakteristik jenis kelamin pada penderita demam tifoid. Pada Sebaran jenis kelamin ditemukan lebih banyak yang berjenis kelamin perempuan dibandingkan dengan laki-laki. Pada kelompok kasus didapatkan sebanyak 8 orang (80%) berjenis kelamin perempuan, sedangkan laki-laki sebanyak 2 orang (20%). Hal

ini sesuai dengan teori bahwa Demam tifoid dapat terjadi pada semua jenis kelamin baik pada perempuan maupun laki- laki. Tetapi berdasarkan dari tahan tubuh, perempuan lebih berpeluang untuk terkena dampak yang lebih berat atau mendapat dari komplikasi dari demam tifoid. Salah satu teori yang menunjukkan hal tersebut adalah ketika *Salmonella typhi* masuk ke dalam sel-sel hati maka hormon estrogen pada perempuan akan bekerja lebih berat karena menangani dua hal sekaligus (Pratiwi Gali, *et al* 2022).

Pada jenis kelamin perempuan jika dilihat dari penyakit ini sangat erat kaitannya dengan kebersihan perorangan dan kebersihan memilih makanan, lingkungan yang kumuh dan biasanya transmisi terjadi melalui air yang tercemar *Salmonella typhi,* makanan atau makanan yang tercemar *carrier* merupakan sumber penularan utama Demam Tifoid sehingga kejadian Demam Tifoid dapat terjadi kepada siapa saja terutama pada pasien yang belum memahami kebersihan memilih makanan dan kebersihan perorangan

Berdasarkan distribusi usia berdasarkan kelompok kasus dibagi menjadi beberapa kelompok usia dan didapatkan usia terbanyak ditemukan pada kelompok usia dewasa muda 18-65 tahun dengan 6 orang (60%) dan kelompok usia lanjut usia 65 tahun ke atas dengan 4 orang (40%). Hal ini sesuai dengan teori Karakteristik responden berdasarkan hasil penelitian menunjukkan pasien demam *tifoid* terbanyak diusia 18-65 tahun.. Pada usia tersebut merupakan prevalensi demam *tifoid* paling tinggi karena masyarakat condong memiliki kegiatan fisik yang tinggi, sehingga sedikit menaruh perhatian terhadap pola makan, alhasil mereka condong lebih mencari

makan di luar rumah dan mereka banyak tidak mengawasi *higienitas* dan insidens banyak terjadi pada anak usia sekolah. Hal ini sejalan dengan faktor kebersihan yaitu pada saat makan di luar, terutama di tempat umum biasanya ditemukan lalat yang terbang dimana-mana bahkan menghinggapi makanan. Adapun Faktor lainnya yang berperan adalah sanitasi lingkungan yang buruk, kualitas sumber air bersih buruk , dan *personal hygiene* apalagi berkaitan dengan kebersihan tangan dan lingkungan, sanitasi yang bagus, dan tersedianya air bersih setiap hari. Langkah pencegahan ini sangat penting sejalan dengan timbulnya kasus terjadinya demam tifoid (Khalizah Nur Khadijah, *et al,* 2024).

Pada penelitian ini seluruh pasien demam tifoid melakukan pemeriksaan widal. Hasil pemeriksaan uji Widal, di mana seluruh sampel menunjukkan hasil serologi dengan titer 1/320. Nilai ini menunjukkan adanya reaksi serologis yang cukup tinggi dan mengindikasikan adanya infeksi aktif *Salmonella typhi* pada seluruh responden. Keseragaman hasil Widal ini memperkuat gambaran bahwa seluruh responden memang sedang berada dalam fase infeksi. Jika ditinjau dari lama demam, sampel penelitian menunjukkan variasi antara 4–5 hari hingga 6–7 hari. Lama demam ini penting karena dapat menggambarkan fase perjalanan penyakit demam tifoid, di mana pada awal infeksi biasanya gejala masih ringan, sedangkan semakin lama demam berlangsung dapat menunjukkan progresivitas penyakit.

Pada penelitian ini karakteristik subjek penelitian berdasarkan lama demam pasien penderita demam tifoid di RS Lakipadada. Diketahui bahwa

rata-rata lama demam pada 10 sampel penelitian 6,2 hari dengan lama demam lama sebesar 7 hari. Distribusi lama demam menunjukkan bahwa Sebagian besar sampel 70**%** memiliki lama demam**.**

Penelitian ini sesuai dengan Hadi,dkk (2020) yaitu lama rawat rata-rata adalah 5 hari dan lama rawat yang paling lama yaitu 20 hari. Penelitian ini juga sesuai dengan Virdania K *et al* (2020) yaitu demam *tifoid* lebih banyak mendapatkan rawat inap singkat yaitu <6 hari karena faktor imunitas yang belum optimal terutama pasien dengan usia sekolah. Penelitian oleh Utami,dkk (2022) menyatakan bahwa lama perawatan pasien selama 1 – 14 hari karena durasi rata-rata penyakit Demam *tifoid* yaitu <3,3 hari dan durasi terpanjang 5 – 17 hari.

Lama demam penderita demam tifoid dilakukan untuk menghentikan invasi kuman, memperpendek perjalanan penyakit mencegah terjadinya komplikasi, dan mencegah terjadinya kekambuhan. Pasen dinyatkan boleh pulang oleh dokter apabila keluhan pasien dan gejala demam tifoid berupa demam, mual, muntah, kesadaran menurun sudah mulai berkurang. Pengobatan pasien kemudian dilanjutkan dengan memberikan obat pulang dan pasien melakukan rawat jalan sampai tidak ada keluhan lagi (Pratiwi Gali, *et al* 2022).

Pada penelitian ini seluruh pasien menggunakan antibiotik digunakan karena memiliki manfaat yang luas dan pada umunya digunakan sebagai terapi empiris untuk pengobatan demam tifoid. Antibiotik dianggap sebagai yang

efektif dan paten untuk mengobati demam tifoid dalam waktu yang singkat serta dapat merusak struktur bakteri tanpa menganggu sel tubuh manusia (Pratiwi Gali, *et al* 2022).

Berdasarkan tabel 4.2 hasil pemeriksaan deteksi gen Flagellin C pada 10 sampel (B1-B10) didapatkan hasil bahwa seluruh sampel menunjukkan hasil negatif, yaitu tidak terdapat pita DNA yang menunjukkan adanya *gen flagellin C*. Hasil negatif ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor, seperti tidak adanya bakteri *Salmonella* pada sampel, kualitas sampel yang buruk, atau kesalahan dalam proses PCR.

Pemeriksaan ini dilakukan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). *Polimerase Chain Reaction* (PCR) adalah teknik sintesis dan amplifikasi DNA in vitro yang terdiri dari beberapa tahap ulang berulang (Siklus) dan jumlah target berlipat ganda untai DNA di setiap siklus. PCR telah digunakan untuk mendiagnosis demam tifoid dengan tingkat keberhasilan yang bervariasi.

Tahapan pertama yang dilakukan yaitu ekstraksi/Isolasi DNA dengan menggunakan metode spin column. Prinsip dari isolasi DNA adalah proses pelisisan pada sel, ekstraksi, dan pengendapan. Pelisisan merupakan proses lisis atau penghancuran sel menggunakan protoase, dilanjutkan proses ekstraksi yaitu mengeluarkan materi di dalam organel sel dengan menghancurkannya baik secara kimia atau fiisik.

Tahapan kedua yaitu PCR mix merupakan proses pencampuran template DNA murni yang telah diisolasi/ekstraksi menggunakan dua

macam primer yaitu primer forward dan reverse. Selanjutnya proses amplifikasi yang bertujuan untuk memperbanyak jumlah DNA proses PCR menggunakan *thermal cycler* dengan reagen master mix. Amplifikasi PCR melibatkan beberapa tahapan, yaitu pradenaturasi dan denaturasi untuk memisahkan rantai DNA, *annealing* untuk penempelan primer pada rantai tunggal DNA, dan tahapan terakhir *extension* untuk memanjangkan untaian baru DNA. Hasil PCR dilanjutkan dengan proses elektroforesis yang bertujuan untuk memvisualisasi ukuran dan bentuk partikel DNA dengan bantuan sinar UV. . .

Pada penelitian ini dilakukan optimasi suhu *annealing* pada primer yang digunakan yaitu sebagai langkah awal untuk melakukan analisis atau deteksi *gen flagellin C*. Optimasi suhu *annealing* suatu primer dapat dilakukan dengan cara mengurangi dan menjumlahkan nilai T_m dengan 5°C. Untuk mendapatkan suhu *annealing* spesifik dan optimun maka dilakukanlah optimalisasi dengan menggunakan gradien suhu yang terdapat di mesin PCR. Selain itu faktor lain yang bisa menyebabkan pita DNA pada band target tidak muncul yaitu optimasi suhu PCR. Suhu *anealing* dapat menjadi faktor yang menentukan keberhasilan amplifikasi PCR optimasi suhu *anealing* diperlukan agar diperoleh suhu yang optimal bagi primer untuk menempel pada DNA target.

Maka dari itu, diperlukan optimasi suhu annealling pada proses PCR untuk mendapatkan pita DNA dan keberhasilan identifikasi DNA. Optimasi suhu sangat berpengaruh pada pada proses PCR agar dapat menghasilkan

produk PCR yang spesifik yaitu terbentuknya pita DNA yang tebal. Suhu annealing yang terlalu tinggi akan menyebabkan primer yang sudah menempel pada DNA cetakan akan terlepas sehingga produk PCR tidak akan terbentuk, sebaliknya suhu annealing yang terlalu rendah akan menyebabkan terjadinya penempelan primer yang tidak spesifik pada DNA cetakan.

Salmonella typhi memiliki berbagai macam gen mutasi salah satunya adalah *gen Flagellin C* yang merupakan faktor virulensi penyebab demam tifoid. Gen yang dihasilkan oleh *Salmonella typhi* itu bukan hanya *gen flagellin C* tetapi ada beberapa gen yang lainnya. *Gen Flagellin C* mungkin tidak efektif sebagai target PCR untuk mendeteksi *Salmonella typhi* dalam sampel darah dalam penelitian ini. Antigen lain seperti O dan Vi mungkin lebih tepat untuk digunakan sebagai target PCR. Oleh karena itu, perlu dilakukan evaluasi lebih lanjut untuk menentukan apakah target gen yang digunakan sudah tepat. Kesalahan teknis dalam proses PCR juga dapat menjadi penyebab hasil negatif, sehingga perlu dilakukan pengecekan terhadap prosedur PCR dan pengolahan pada sampel.

Dari hasil yang diperoleh pada saat penelitian berlangsung yang dimana menggunakan 10 sampel serta kontrol positif didapatkan hasil negatif tidak membentuk pita band. Sebagian besar faktor ketidakmunculan fragmen DNA disebabkan oleh kesalahan teknis saat isolat, adanya senyawa pengotor isolasi, dan ketidaksesuaian suhu *annealing* saat PCR, variasi suhu dan waktu *annealing* saling berhubungan dengan tebal dan tipisnya pita

DNA yang terbentuk akibat kualitas DNA hasil isolasi sehingga apabila DNA t*emplate* tidak murni atau banyak terdapat kontaminan maka akan menganggu penempelan primer pada siklusnya yang menghambat aktivitas enzim *polymerase*.

Kekurangan dalam penelitian melibatkan beberapa faktor yang dialami yaitu pada saat penggunaan primer *forward* dan *reverse* tidak terlebih dahulu diencerkan sebelum digunakan, suhu yang digunakan pada saat amplifikasi tidak sesuai jadi hasil PCR seluruhnya menunjukkan hasil negatif, pemipetan mikropipret pada sampel dan *buffer t*idak sesuai dengan volume ada yang melebihi dan kemungkinan ada kontaminasi pada sampel pada saat proses ekstraksi DNA maupun PCR mix.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap 10 sampel darah penderita demam tifoid menunjukkan tidak terdeteksi adanya Gen *Flagellin C* yang dilakukan dengan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) seluruh sampel menunjukkan hasil negatif.

B. Saran

Untuk penelitian selanjutnya, disarankan:

1. Menggunakan metode PCR lain yang memiliki tingkat sensitivitas lebih tinggi, seperti *nested* PCR, *real-time* PCR (qPCR), atau PCR OmpA (*Outer Membrane* Protein A) yang telah terbukti lebih akurat dalam mendeteksi DNA *Salmonella Typhi*.
2. Meningkatkan jumlah dan variasi sampel sehingga hasil yang diperoleh lebih representatif.
3. Mengoptimalkan tahap ekstraksi DNA agar kualitas dan kuantitas DNA target lebih baik sehingga dapat meningkatkan kemungkinan amplifikasi.
4. Mengombinasikan metode PCR dengan metode diagnostik lain, seperti kultur bakteri atau serologi, untuk memperkuat validitas hasil penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

Brocket, S., Wolfe M, K., Hamot A., Mintz, E, D.,(2020) Associations Among Water Sanitation, and hygiene, and food exposures and Tifoid Fever In Casecontrol Studies: a systematic review and meta-analysis. AMJ Trop Med Hyg, 103, 1020-31.

Chatterjee, R., Chowdhury, A, R., Mukherjee D., & Chakravorty, D., 2023. From Eberthella typhi To Salmonella Typhi: The Fascinating Journey Of The Virulence and Pathogenicit Of Salmonella Typhi. ACS Journal 8, 25674-25697

Crump, J. A., Sjölund-Karlsson, M., Gordon, M. A., & Parry, C. M. (2015). *Epidemiology, clinical presentation, laboratory diagnosis, antimicrobial resistance, and antimicrobial management of invasive Salmonella infections. In Clinical Microbiology Reviews*. https://doi.org/10.1128/CMR.00002-15

Darmawati, S., & Maharani, E. T. (2015). *Daya hambat daun asam jawa (Tamarindus indica) terhadap pertumbuhan Salmonella typhi penyebab demam tifoid*. Dalam *Prosiding Student Paper Presentation: The 2nd University Research Colloquium (URECOL)* (pp. 45–50). LPPM Universitas Muhammadiyah Semarang.

Dr. Moh Fairuz, 2022. Lebih Mudah Memahami Biologi Molekuler. CV: Jejak:Sukabumi

Hajam, I, A., Dar, P, A., Shahnawaz, I., Jaume, J, C., Lee, J, H., 2017. Bacterial Flagellin - a potent Immunomodulatory agent. Officially Journal Of The Korean Society For Biochemistry and Molecular Biology

Hariharan, 2023. Phop Maintains the Enviromental Persistence and Virulence Of Pathogenic In Bacteria In Mechanically Stressed Desicated, i science

Imara, F. (2020). Salmonella typhi Bakteri Penyebab Demam Tifoid. *Prosiding Seminar Nasional Biologi Di Era Pandemi COVID-19*, *6*(1), 1–5. http://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/psb/

Jahan, N., Huq, N., Yusuf, M. A., Morshed, M. S., Chhobi, F. K., & Shamsuzzaman, S. M. (2023). *Diagnostic validity of flagellin gene (fliC) in urine for the detection of typhoid fever*. Bangladesh Journal of Medical Microbiology, 17(1), 34–39.

Khazaal, S. S. (2019). *Detection of flagellin gene of enteric isolates of Salmonella typhi using PCR in Baghdad Governorate*. Al-Mustansiriyah Journal of Science, *30*(3), 9–11.

kementerian Kesehatan Republik Indonesia.(2023). Pedoman Pengendalian Demam Tifoid. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.

Lestari, A, A, W., Sukrama I, D, M & Nurmansyah, D., (2019) *The earth worm*

(Lumricus Tubellus) extract descreased amino transminase enzyme level and number of bacterial colony in wale wistar rate infected with Salmonellatyphimurium. Biomedical & pharmacology . Journal 12(1)

Levani, Y., & Prastya, A. D. (2020). Demam Tifoid: Manifestasi Klinis, Pilihan Terapi dan Pandangan Dalam Islam. *3*(1), 10–16.

Murzalina, C. (2019). *Pemeriksaan laboratorium untuk penunjang diagnostik demam tifoid*. Jurnal Kesehatan Cehadum, *1*(3), 61–68.

Nasution, S. (2022). *uji efektivitas daya hambat ekstrak cacing tanah Lumbricus Rubelus dan pherettima sp terhadap bakteri salmonella typhi dan staphylococcus aureus* (Issue August).

Normansyah & Normaidah. (2020). *Efektivitas Antigen Lokal LPS Salmonella typhi untuk Serodiagnosis Demam Tifoid Dengan Metode ELISA dan Passive Bacterial Agglutination* (PBA). Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Univeristas Hasanuddin, Makassar

Nuruzzaman, H & Syahrul, F. (2016). Analisis Risiko Kejadian Demam Tifoid Berdasarkan Kebersihan Diri dan Kebiassan Jajan di Rumah. Jurnal Berkala Epidemiologi. Vol 4 No. 1 Januari 2016. Surabaya:FKM UA Unair.

Riandini, 2019. Biologi Molekuler. Muhammadiyah UniversitynPres: Surakarta

Saptaningtyas, R., Darmawati, S., & Dewi, S. S. (2015). *Haemagglutination activity of Salmonella typhi flagellin protein based on ABO blood group*. Dalam *Prosiding Student Paper Presentation: The 2nd University Research Colloquium (URECOL)*. LPPM Universitas Muhammadiyah (Muhammadiyah Universities).

Susanto, A. (2020). Buku Ajar" Bakteriologi (Carrier Penyakit Typus). In *E-Book Penerbit STIKes Majapahit*. http://ejournal.stikesmajapahit.ac.id/index.php/EBook/article/view/663

Tobing, J, F, J., 2024. Demam Tifoid. Departemen Ilmu THT-KL., Fakultas Kedokteran Methodist Indonesia

Virdania KV, Laksemi DAAS, Damayanti PAA. Hubungan Umur Dengan Jenis Rawat Dan Lama Hari Rawat Inap Pasien Demam Tifoid Di Rsup Sanglah Denpasar Tahun 2014. E-Jurnal Med. 2018;7(7):1–7.

Vivien, N. (2020). *peran imunitas pada infeksi salmonella typhi*.24843.metamorfosa.2018.v05.i01.p16 ,

Word Health Organiation (WHO). 2024. Typhoid 2024. Geneva: World Health Organization

Wijayanti, T., & Susanti, D., 2019, Gambaran Manusia Tentang HIV/AIDS Di Universitas Pasir Pengaraian Kabupaten Rokan Hulu. Jurnal Maternal Dan Neonatal, 2(6), 341-349

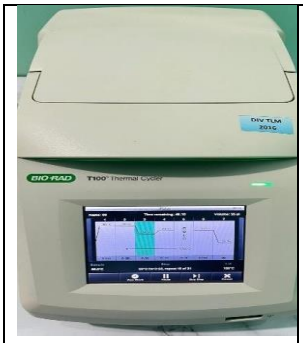
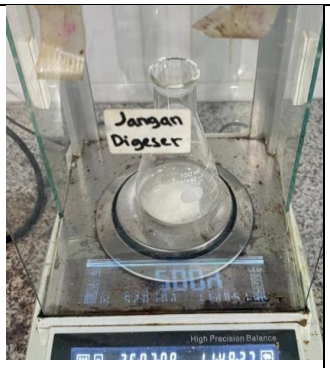
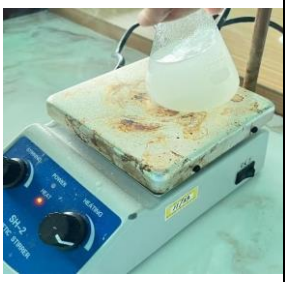
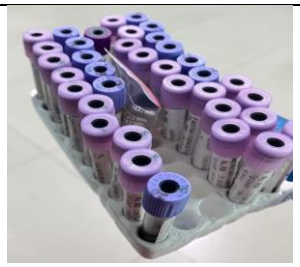
Yustinadewi, P, D., Yustiantara, P, S., & Narayani, I., 2018. Mdr-1 Gene 1199 Variant Primer Design Techn iques in Pediatric Patient Buffy Coat Samples With Lla. Metamorfosa: Journal of Biological Sciences, 5(1), 105. https://doi.org/10.

LAMPIRAN

Lampiran. 1 Data Subjek Penelitian

No	Kode Sampel	Nama Pasien (Inisial)	Usia	Jenis Kelamin L/P	Titer Widal	Keterangan
1.	**B1**	**CT**	**79 T**	**P**	**1/320**	**Demam Tifoid**
2.	**B2**	**EM**	**75 T**	**P**	**1/320**	**Demam Tifoid**
3.	**B3**	**SB**	**59 T**	**L**	**1/320**	**Demam Tifoid**
4.	**B4**	**A**	**34 T**	**L**	**1/320**	**Demam Tifoid**
5.	**B5**	**USL**	**31 T**	**P**	**1/320**	**Demam Tifoid**
6.	**B6**	**EM**	**75 T**	**P**	**1/320**	**Demam Tifoid**
7.	**B7**	**HS**	**65 T**	**P**	**1/320**	**Demam Tifoid**
8.	**B8**	**EE**	**36 T**	**P**	**1/320**	**Demam Tifoid**
9.	**B9**	**Y**	**53 T**	**P**	**1/320**	**Demam Tifoid**
10.	**B1O**	**MRD**	**47 T**	**P**	**1/320**	**Demam Tifoid**

Lampiran. 2 Alat dan Bahan Penelitian

Lampiran. 3 Insert Kit Protokol KIT

FAVORGEN FavorPrep™ Kit Ekstraksi DNA Genomik Darah Mini Kode Produk: FABGK FAC[illegible]

FABGK 001 (50 persiapan)
FABGK 001-1 (100 persiapan)
FABGK 00J-2 (300 persiapan)
· (Hanya untuk Penelitian)

Isi Kit:	F- ABGK 00 O 4 persiapan	FABGK 001 (50 preparat)	FABGK 001-1 (100 preparat)	FABGK 001-2
FABG Buffer WI Buffer *	1,5 ml	15 ml 22	30 ml 44	70 ml 124
(Konsentrat) Buffer Pencucian **	1,3 ml	ml 10 ml	ml 20 ml	ml 50 ml 90
(Konsentrat) Buffer Elusi . Proteinase K (Cair)	· 1 ml 1	15 ml	30 ml 1050	· (300 persiapan)
Tabung Pengumpulan	ml 100	1050 pl	pl x 2 100	ml 1600 ul x
Kolom Mini FABG Tabung	l 4 pos	50 buah	pcs 200	4 300 pcs
Elusi Panduan Pengguna	8 pcs	100 buah	pcs 100	600 pcs
	4 pcs	50 buah	pcs 1	300 pcs
	1	1		1

* Persiapan Buffer Wi dan Buffer Cuci untuk penggunaan pertama: Nomor Kata	FABGK000 (4 persiapan)	FABGK001 (50 persiapan)	FABGKO01-1 (100 persiapan)	FABGK001 -2 (300 preparat) 45
Volume etanol untuk Buffer W1 *	0,5 ml	8 ml 40 ml	16 ml 80 ml	ml 200 ml
Volume etanol untuk Buffer Cuci **	4 ml			

Spesifikasi: Prinsip: kolom putar (membran silika)
. Sampel: hingga 200 ul darah utuh, serum, plasma, cairan tubuh hingga 5x10° sel yang dibudidayakan
Waktu operasi: <30 menit Kapasitas ikatan: hingga 60 g/kolom. Hasil DNA: 4~8 ug/200 ul darah utuh
Volume elusi: 50~200 pl



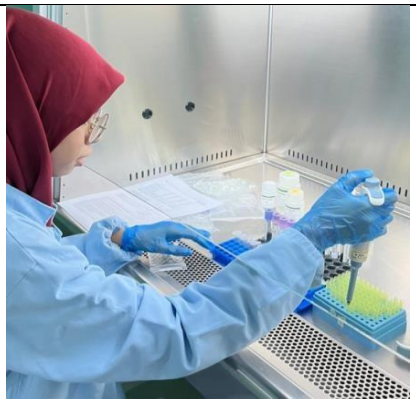
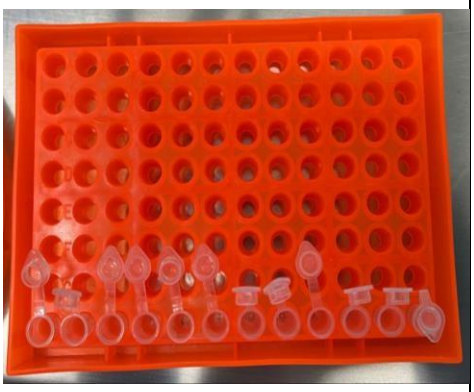
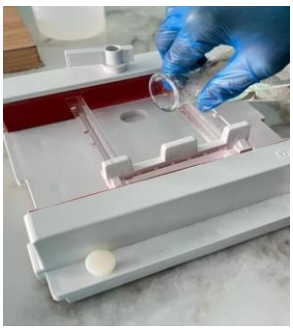
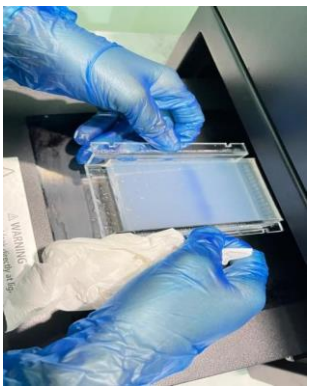
Catatan Penting:
1. Buffer yang disediakan dalam sistem ini mengandung bahan iritan. Gunakan sarung tangan dan jas laboratorium saat menangani buffer ini.
2. Tambahkan volume etanol yang diperlukan (96~100%) ke Buffer W1 dan Buffer Pencucian pada penggunaan pertama.
3. Panaskan terlebih dahulu bak kering atau bak air hingga 60°C dan 65°C sebelum memulai operasi.
4. Semua langkah sentrifugasi dilakukan pada kecepatan penuh (~18.000 x g) dalam sentrifugasi mikro.

Protokol Umum:

Petunjuk: Siapkan bak air kering atau bak air panas hingga 60°C untuk langkah 4. Panaskan larutan elusi hingga 65°C untuk langkah 13 (langkah elusi). Silakan baca catatan penting sebelum memulai langkah-langkah berikut.
1. Pindahkan hingga 200 ul sampel (darah utuh, serum, plasma, cairan tubuh, lapisan lemak) ke tabung mikrosentrifugasi (tidak disediakan).
- Jika volume sampel kurang dari 200 ul, tambahkan volume PBS yang sesuai.
2. (Opsional): Jika diperlukan DNA genomik bebas RNA, tambahkan 4 ul RNase A 100 mg/ml ke sampel dan inkubasi selama 2 menit pada suhu ruangan.
3. Tambahkan 20 ul Proteinase K dan 200 ul FABG Buffer ke dalam sampel. Aduk secara menyeluruh dengan cara pulse-vortexing.
- Jangan tambahkan Proteinase K langsung ke dalam Buffer FABG.
4. Inkubasi pada 60°C selama 15 menit untuk melisiskan sampel. Selama inkubasi, aduk sampel setiap 3-5 menit.
5. Putar tabung sebentar untuk menghilangkan tetesan yang menempel di dalam tutup.
6. Tambahkan 200 ul etanol (96–100%) ke dalam sampel. Aduk secara menyeluruh dengan metode pulse-vortexing selama 10 detik.
7. Putar tabung sebentar untuk menghilangkan tetesan yang ada di dalam tutup.
8. Letakkan FABG Mini Column ke dalam tabung pengumpulan. Pindahkan campuran (termasuk endapan) dengan hati-hati ke FABG Mini Column. Sentrifugasi pada 6.000 x g selama 1 menit, lalu pindahkan FABG Mini Column ke tabung pengumpulan baru.
9. Tambahkan 400 ul Buffer W1 ke kolom FABG Mini dan sentrifugasi pada kecepatan maksimum selama 30 detik, lalu buang aliran keluar.
- Pastikan etanol telah ditambahkan ke dalam Buffer W1 pada pembukaan pertama.
10. Tambahkan 750 ul Buffer Cuci ke kolom FABG Mini, sentrifugasi pada kecepatan maksimum selama 30 detik, lalu buang aliran keluar.
- Pastikan etanol telah ditambahkan ke dalam Buffer Cuci pada pembukaan pertama.
11. Sentrifugasi pada kecepatan maksimum selama 3 menit tambahan untuk mengeringkan kolom. Langkah Penting! Langkah ini akan mencegah cairan sisa mengganggu reaksi enzimatik selanjutnya.
12. Letakkan FABG Mini Column ke dalam tabung elusi.
13. Tambahkan 50-200 ul Buffer Elusi yang dipanaskan atau ddH_2O (pH 7,5-9,0) ke pusat membran Kolom Mini FABG. Diamkan Kolom Mini FABG selama 3 menit.
- Langkah Penting! Untuk elusi yang efektif, pastikan larutan elusi diteteskan ke pusat membran dan diserap sepenuhnya.
14. Sentrifugasi pada kecepatan maksimum selama 1 menit untuk mengelusi DNA total.
15. Simpan DNA total pada suhu 4°C atau -20°C.

1

Lampiran. 4 Dokumentasi Penelitian

<table>
<tr>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td></td>
</tr>
</table>

Lampiran. 6 Surat Izin Penelitian

PEMERINTAH PROVINSI SULAWESI SELATAN
DINAS PENANAMAN MODAL DAN PELAYANAN TERPADU SATU PINTU
Jl.Bougenville No.5 Telp. (0411) 441077 Fax. (0411) 448936
Website : http://simap-new.sulselprov.go.id Email : ptsp@sulselprov.go.id
Makassar 90231

Nomor : **10284/S.01/PTSP/2025**
Lampiran : -
Perihal : **Izin penelitian**

Kepada Yth.
Rektor Universitas Megarezky
Makassar

di-
Tempat

Berdasarkan surat Kepala LPPM Univ. Megarezky Makassar Nomor : 1360/07.091056/V/2025 tanggal 30 April 2025 perihal tersebut diatas, mahasiswa/peneliti dibawah ini:

N a m a	: **NURHAERATI**
Nomor Pokok	: B1D324086
Program Studi	: Teknologi Laboratorium Medis
Pekerjaan/Lembaga	: Mahasiswa (D4)
Alamat	: Jl. Antang Raya No. 43, Makassar

ptsp
PROVINSI SULAWESI SELATAN

Bermaksud untuk melakukan penelitian di daerah/kantor saudara dalam rangka menyusun KARYA TULIS, dengan judul :

" DETEKSI Gen Flagellin C DARI Salmonella typhi PADA PENDERITA DEMAM TIFOID MENGGUNAKAN METODE PCR "

Yang akan dilaksanakan dari : Tgl. ***16 Mei s/d 12 Juli 2025***

Sehubungan dengan hal tersebut diatas, pada prinsipnya kami ***menyetujui*** kegiatan dimaksud dengan ketentuan yang tertera di belakang surat izin penelitian.

Demikian Surat Keterangan ini diberikan agar dipergunakan sebagaimana mestinya.

Diterbitkan di Makassar
Pada Tanggal 16 Mei 2025

KEPALA DINAS PENANAMAN MODAL DAN PELAYANAN TERPADU SATU PINTU PROVINSI SULAWESI SELATAN

ASRUL SANI, S.H., M.Si.
Pangkat : PEMBINA TINGKAT I
Nip : 19750321 200312 1 008

Tembusan Yth
1. Kepala LPPM Univ. Megarezky Makassar di Makassar;
2. *Pertinggal.*

Dipindai dengan CamScanner

Lampiran 7. Surat Keterangan Selesai Meneliti

	UNIVERSITAS MEGAREZKY **LABORATORIUM MIKROBIOLOGI** **PROGRAM STUDI D-IV TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS** Jl. Antang Raya No. 43 Telp. (0411) 492401 – 496401 Web : http://universitasmegarezky.ac.id Email :d4anakes.mrm@gmail.com	Kode/No : UNIMERZ.11.32.4/FM Tanggal : 07 Januari 2020 Revisi : 01 Halaman : 3 dari

SURAT KETERANGAN TELAH MELAKUKAN PENELITIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini Laboran Laboratorium D-IV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Megarezky, dengan ini menerangkan bahwa :

Nama	: Nurhaerati
Nim	: B1D324086
Program studi	: Teknologi Laboratorium Medis
Judul penelitian	: Deteksi Gen Flagellin C Pada *Salmonella typhi* Penderita Demam Tifoid Menggunakan Metode PCR

Bahwa nama tersebut di atas telah melakukan penelitian di Laboratorium Mikrobiologi D-IV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Megarezky yang dilaksanakan pada tanggal 2 Juli - 9 Juli 2025.

Demikian surat keterangan ini kami buat dengan sebenarnya agar dipergunakan sebagaimana mestinya.

Makassar, 15 Agustus 2025
Laboran

Habibah Gali, S.Tr.Kes

Dipindai dengan CamScanner

LEMBAR PERSETUJUAN

(*Informed Consent*)

Pernyataan persediaan menjadi subjek penelitian yang bertanda tangan dibawah ini

Nama (Inisial) :

Jenis kelamin ;

Umur :

Alamat :

Menyatakan bahwa saya memberikan persetujuan kepada responden. bersedia dijadikan subjek penelitian dengan judul **“** Deteksi *Gen Flagellin C* dari *Salmonella typhi* Pada Penderita Demam Tifoid Menggunakan Metode PCR” Apabila dalam proses pelayanan terjadi hal-hal yang tidak diinginkan maka itu menjadi tanggung jawab saya.

Demikian surat ini saya buat dengan sukarela tanpa adanya paksaan dari pihak lain dan kiranya dipergunakan sebagaimana mestinya.

Makassar, ...2025

Subjek peneliti

( )

KUESIONER PENELITIAN

❝ Deteksi *Gen Flagellin C* dari *Salmonella typhi* Pada Penderita Demam Tifoid Menggunakan Metode PCR”

A. Identitas Responden

1. No. sampel :
2. Inisial :
3. Umur :
4. Jenis kelamin :
5. Alamat :

B. Pilih dan jawablah pertanyaan di bawah ini

1. Apakah Anda didiagnosis demam tifoid?
   a. Ya
   b. Tidak
2. Berapa lama Anda mengalami demam tifoid ?
   a. ≤ 7 hari
   b. ≥ 7 hari
3. Apakah Anda mengalami gejala demam tifoid seperti demam, sakit kepala, dan nyeri perut ?
   a. Ya
   b. Tidak
4. Apakah Anda sering mengkomsumsi makanan siap saji (Instan)?
   a. Ya

b. Tidak

5. Apakah Anda memiliki riwayat demam tifoid sebelumnya?

   a. Ya

   b. Tidak

6. Apakah Anda memiliki riwayat penggunaan antibiotik sebelumnya??

   a. Ya

   b. Tidak

7. Apakah Anda tahu penyebab utama penyakit demam tifoid ?

   a. Ya

   b. Tidak

8. Apakah Anda mengetahui pencegahan yang tepat mengenai penyakit demam tifoid ini ?

   a. Ya

   b. Tidak

9. Apakah Anda mengetahui komplikasi-komplikasi yang akan terjadi bila penyakit demam tifoid ini tidak segera ditangani?

   a. Ya

   b. Tidak

10. Apakah anda pernah melakukan uji Widal sebelumnya dan hasilnya positif

   a. Ya

   b. tidak