SKRIPSI

DETEKSI GEN *ALGINATE* (*algD*) PADA *Pseudomonas aeruginosa* DARI SAMPEL SWAB ULKUS DIABETIKUM PASIEN DIABETES MELITUS MENGGUNAKAN *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR)

Diajukan Sebagai Syarat Dalam Meraih Gelar Sarjana Terapan Kesehatan
(S.Tr.Kes) Pada Program Studi Diploma Empat (DIV) Teknologi
Laboratorium Medis, Fakultas Teknologi Kesehatan
Universitas Megarezky

TASYA NATALIA
B1D121184

PROGRAM STUDI DIV TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
FAKULTAS TEKNOLOGI KESEHATAN
UNIVERSITAS MEGAREZKY
MAKASSAR
2025

HALAMAN JUDUL

SKRIPSI

DETEKSI GEN *ALGINATE* (*algD*) PADA *Pseudomonas aeruginosa* DARI SAMPEL SWAB ULKUS DIABETIKUM PASIEN DIABETES MELITUS MENGGUNAKAN *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR)

DETECTION OF THE *ALGINATE* (*algD*) GENE IN *Pseudomonas aeruginosa* FROM SWAB SAMPLES OF DIABETIC ULCERS IN DIABETES MELLITUS PATIENTS USING *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR)

TASYA NATALIA
B1D121184

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

Wahdaniar, S.Si.,M.Si
Pembimbing 2

Penguji
Nurlaela Alydrus, S.Si.,M.Kes

PROGRAM STUDI DIV TEKNOLOGI LABORATOTIUM MEDIK
FAKULTAS TEKNOLOGI KESEHATAN
UNIVERSITAS MEGAREZKY
MAKASSAR
2025

LEMBAR PENGESAHAN

SKRIPSI

DETEKSI GEN *ALGINATE* (*algD*) PADA *Pseudomonas aeruginosa* DARI SAMPEL SWAB ULKUS DIABETIKUM PASIEN DIABETES MELITUS MENGGUNAKAN *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR)

Disusun dan diajukan oleh

TASYA NATALIA

Nomor Induk Mahasiswa B1D121184

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi

Pada tanggal 20 JUNI 2025

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Tim Penguji	Tanda Tangan
1. Nurlaela Alydrus, S.Si.,M.Kes	( )
2. Dr. Nirmawati Angria, S.Si.,M.Kes	( )
3. Wahdaniar, S.Si.,M.Si	( )

Mengetahui,

Dekan	Ketua Program Studi
Fakultas Teknologi Kesehatan	DIV Teknologi Laboratorium Medis
Prof. Dr. Dr. apt. Hj. Asnah Marzuki, M.Si	Dr. Nirmawati Angria, S.Si., M.Kes
NUPTK : 1350727628230013	NUPTK : 6950765666230332

SURAT KETERANGAN LOLOS TURNITING

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 - 452 401 - 496401 Fax. 496614 Website : http://universitasmegarezky.ac.id E-mail: info@universitasmegarezky.ac.id

KETERANGAN LOLOS UJI TURNITIN

No. ٥٥٦ /T/07.091056/ VI /2025

Yang bertanda tangan di bawah ini,

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

NIDN : 0915118602

Jabatan : Ketua LPPM

Menyatakan bahwa :

Nama : Tasya Natalia

NIM : B1D121184

Prodi : DIV Teknologi Laboratorium Medis

Judul Skripsi/KTI : Deteksi Gen *Alginate* (*algD*) Pada *Pseudomonas aeruginosa* Dari Sampel Swab Ulkus Diabetikum Pasien Diabetes Melitus Menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Telah melalui uji *similarity* dengan software *Turnitin* dan dinyatakan lolos dengan **persentase 21%** sesuai bukti terlampir.

Demikian Surat Keterangan ini di buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Makassar, 16 Juni 2025

Ketua,

Ns. Syamsyuriyana Sabar, M.Kep

NIDN: 09 151186 02

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulilah, segala puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufiq dan hidayahnya yang sangat banyak dalam hidup saya. Sholawat serta salam selalu terlimpahkan kepada Nabi Muhammad SAW. Skripsi ini saya persembahkan sebagai bukti semangat usahaku serta cinta dan kasih sayangku kepada orang-orang yang berharga dalam hidup saya.

1. Cinta pertama dan panutanku, Ayahanda Baharudin dan pintu surgaku Ibunda Zumia. Terimakasih atas segala pengorbanan dalam mengusahakan putri kecil ini dalam menempuh pendidikan yang setinggi-tingginya meskipun ayah dan bunda tidak sempat merasakan pendidikan bangku perkuliahan. Kepada ayah saya terimakasih atas setiap cucuran keringat dan kerja keras yang engkau tukarkan menjadi sebuah nafkah demi anakmu bisa sampai ketahap ini. Teruntuk bunda saya terimakasih atas segala motivasi, doa, pesan dan harapan yang selalu mendampingi setiap langkah anakmu untuk menjadi seseorang yang berpendidikan, terimakasih atas kasih sayang tanpa batas yang tak pernah lekang oleh waktu.
2. Kepada kaka tercinta saya Melan Sagita, S.AK terimakasih telah memberikan semangat, motivasi dan menjadi tempat keluh kesah penulis serta menjadi salah satu donatur penulis dalam menjalani masa perkuliahan hingga sampai ditahap ini.
3. Kepada adik-adik saya Gina Aprilia, Melsa Novita dan Muhammad Al Arsya yang saya sayangi, terimakasih selalu memberikan motivasi, semangat dan menjadi salah satu alasan kaka Tasya bertahan dan menyelesaikan studi ini, kaka berharap kalian tumbuh lebih baik dari kaka.

MOTTO

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya”

(Q.S Al-Baqarah:286)

“Sesungguhnya Allah tidak pernah meninggalkanmu dan tidak pernah membencimu”

(Q.S Ad-Duha:286)

“Maka, sesungguhnya beserta kesulitan ada kemudahan”

(Q.S Al-Insyirah:5-6)

“Orang-orang tidak peduli prosesmu, bagaiamana kau berusaha mencapai tujuanmu karena bila gagal kau akan dipandang remeh jadi tunjukkan saja pencapaianmu”

(Tasya Natalia)

“Semua butuhh waktu dan usaha. Kamu tidak sedang tertinggal dari siapapun. Kamu sudah melakukan segalanya. Tanganmu memang membisu, tapi Tuhan tahu bagaimana hari-harimu yang selalu penuh”

(Indra Sugiarto)

CURRICULUM VITAE



TASYA NATALIA

B1D121184

Program Studi : DIV Teknologi Laboratorium Medis

Alamat : Kampung Iriati

Riwayat Pendidikan

a. Pendidikan Dasar : SD Inpres Wasior

b. Pendidikan Menengah Pertama : SMP Negeri Wasior

c. Pendidikan Menengah Atas : SMA Negeri 1 Wondama

Orang Tua

a. Ayah : Baharudin

b. Ibu : Zumia

c. Alamat : Kampung Iriati

Prinsip Hidup : Dimana ada kemauan di situ ada jalan

Kesan Disaat Kuliah : saya sangat bangga dan bersyukur atas nikmat yang Allah SWT berikan kepada saya sampai saat ini, pertama saya banyak terimakasih kepada dosen yang selama ini memberikan motivasi, pengetahuan serta selalu membimbing saya selama 4 tahun ini. Kemudian untuk teman-teman saya, saya sangat senang bertemu dengan kalian di kampus ini khususnya 2021D.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadiran Allah Subhanahu Wa Ta'ala karena atas rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan Skripsi ini yang berjudul "**Deteksi Gen *Alginate* (*algD*) Pada *Pseudomonas aeruginosa* Dari Sampel SWAB Ulkus Diabetikum Pasien Diabetes Melitus Menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)**"

Penyusunan karya tulis ini merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan tugas akhir pendidikan di Jurusan D-IV Teknologi Laboratorium Medis Fakultas Teknologi Kesehatan Universitas Megarezky Makassar. Penulis menyadari bahwa tanpa bimbingan, bantuan, dan dukungan dari berbagai pihak, karya tulis ini tidak akan dapat terselesaikan dengan baik.

Dengan penuh rasa hormat dan cinta, penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang tak terhingga kepada kedua orang tua tercinta Ayahanda **Baharudin** dan Ibunda **Zumia,** yang senantiasa mendoakan, mendampingi, serta memberikan semangat, kasih sayang, dan dukungan moral maupun materil tanpa henti. Tanpa keikhlasan dan doa dari Ayah dan Ibu yang senantiasa memberikan semangat selalu mendoakan Kesehatan dan keberhasilan peneliti penyusunan Skripsi ini tidak akan pernah terwujud. Serta terima kasih kepada saudara-saudara peneliti yaitu **Melan Sagita, S.AK, Gina Aprilia, Melsa Novita, Muhammad Al Arsya** yang selalu memberikan semangat dan selalu mendukung peneliti untuk segera menyelesaikan pendidikan ini.

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 kontribusi luar biasa dalam mendirikan lembaga pendidikan yang menjadi wadah pengembangan ilmu dan karakter.
3. **Bapak Moch. Noer Alim Qolby, S.H., LLM 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 Megarezky**, 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 Megarezky**, atas kesempatan dan dukungan yang diberikan selama masa studi.
6. **Ibu Dr. Nirmawati Angria S.SI. M. Kes sebagai Ketua Program Studi D-IV Teknologi Laboratorium Medis** atas bimbingan akademik yang berkelanjutan dan inspiratif.
7. **Dosen Pembimbing Dr. Nirmawati Angria S.SI. M. Kes**, yang telah memberikan arahan, saran, dan evaluasi dalam penyusunan karya tulis ini dengan penuh kesabaran dan keikhlasan.
8. **Dosen Pembimbing Wahdaniar, S.Si.,M.Si**, yang telah memberikan arahan, saran, dan evaluasi dalam penyusunan karya tulis ini dengan penuh kesabaran dan keikhlasan.
9. **Dosen Penguji Nurlaela Alydrus S.Si.,M.Kes selaku penguji** yang telah banyak memberikan arahan dan masukan selama ujian
10. **Ibu Dr. Handayani H, Si., M. Kes sebagai Pembimbing Akademik (PA),** atas pendampingan dan bimbingan akademik selama masa studi penulis
11. **Seluruh Dosen dan Staf Akademik Universitas Megarezky**, atas ilmu, perhatian, dan pelayanan yang diberikan selama proses studi.
12. **Hasanuddin University Medical-Research Center (HUM-RC)** Makassar atas izin, dukungan, dan kerja samanya selama pelaksanaan penelitian.
13. **Tim Laboratorium/Perpustakaan** atas bantuan teknis dan fasilitas yang diberikan selama proses penelitian.
14. Terakhir, penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada satu sosok yang selama ini diam-diam berjuang tanpa henti, seorang perempuan sederhana dengan impian yang tinggi, namun sering kali sulit ditebak isi pikiran dan hati. Terimakasih kepada

penulis skripsi ini yaitu diriku sendiri, **Tasya Natalia**. Anak kedua yang yang dikenal keras kepala namun terkadang sifatnya seperti anak kecil pada umumnya. Terima kasih telah turut hadir didunia ini, terimakasih telah bertahan walau kegagalan sering kali dialami dan terus berjalan melewati segala tantangan yang semesta hadirkan. Terimakasih karena tetap menjadi dirimu sendiri. Aku bangga atas setiap langkah kecil yang kau ambil, atas pencapaian yang mungkin tak selalu dirayakan. Walau terkadang harapanmu tak sesuai dengan apa yang semesta berikan, tetaplah belajar menerima dan mensyukuri apapun yang kamu dapatkan. Jangan pernah menyerah, berbahagialah dimanapun kamu berada. Rayakan apapun dalam dirimu dan jadikan dirimu bersinar dimanapun tempatmu bertumpu. Aku berdoa, semoga langkah dari kaki kecilmu selalu diperkuat, dikelilingi oleh orang-orang yang hebat, serta mimpimu satu persatu akan terjawab

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan karya ilmiah ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan karya ini di masa mendatang.

Akhir kata, semoga karya ilmiah ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca, serta menjadi kontribusi yang berarti dalam pengembangan ilmu pengetahuan

Makassar, 24 September 2025

Penulis

Tasya Natalia

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL……..……i
HALAMAN PENGESAHAN……...……....ii
SURAT KETERANGAN LOLOS TURNITIN…….iii
HALAMAN PERSEMBAHAN……...iv
MOTTO……..v
CURICULUM VITAE…….vi
KATA PENGANTAR……..……vii
DAFTAR ISI…….....x
DAFTAR GAMBAR……..…....xiii
DAFTAR SINGKATAN……....…..……xiiiv
ABSTRAK……....xv
BAB I PENDAHULUAN……...1
A. Latar Belakang **.....1**
B. Rumusan Masalah **.....5**
C. Tujuan Penelitian**.....5**
D. Manfaat Penelitian **.....5**
BAB II TINJAUAN PUSTAKA……6
A. Tinjauan Umum Diabetes Melitus **.....6**
1. Definisi Diabetes Melitus 6
2. Epidemiologi 8
3. Klasifikasi Diabetes Melitus.....9
4. Manifestasi Klinis.....12
5. Patogenesis Diabetes Melitus.....14
6. Faktor Resiko Diabetes Melitus.....15
B. Tinjauan Umum Ulkus Diabetes Melitus **.....18**
1. Definisi Ulkus Diabetes Melitus.....18
2. Epidemiologi Ulkus Diabetes Melitus 20
3. Patogenesis Ulkus Diabetes Melitus.....21
4. Komplikasi Ulkus Diabetes Melitus.....23

5. Faktor Resiko Ulkus Diabetes Melitus....23
C. Tinjauan Umum *Pseudomonas aeruginosa* **24**
1. Definisi *Pseudomonas aeruginosa* 24
2. Taksonomi *Pseudomonas aeruginosa*....25
3. Karakteristik *Pseudomonas aeruginosa*....26
4. Patogenesis *Pseudomonas aeruginosa*....27
D. Gen *algD*....**29**
E. Tinjauan Umum *Polymerase Chain Reaction* (PCR)....**31**
1. Definisi Polymerase Chain Reaction (PCR)....31
2. Prinsip *Polymerase Chain Reaction* (PCR)....32
3. Tahapan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) 32
4. Komponen – Komponen *Polymerase Chain Reaction* (PCR)....33
F. Elektroforesis....**33**
G. Kerangka Teori....**36**
H. Kerangka Konsep....**37**
I. Definisi Operasional **37**
BAB III METODE PENELITIAN 40
A. Jenis Penelitian....**40**
B. Lokasi dan Waktu Penelitian....**40**
C. Populasi dan Sampel....**40**
D. Kriteria Sampel....**41**
E. Alat dan Bahan....**41**
F. Prosedur Kerja....**42**
G. Analisis Data....**46**
H. Etika Penelitian....**46**
I. Alur Penelitian....**47**
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN……..48
A. Hasil Penelitian……..…….48
B. Pembahasan……....50
BAB V PENUTUP……57
A. Kesimpulan……57

B. Saran……..……..57
DAFTAR PUSTAKA
LAMPIRAN

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Diabetes Melitus Tipe 1…….10
Gambar 2.2 Diabetes Melitus Tipe 2……..11
Gambar 2.3 *The Egregious Eleven*……15
Gambar 2.4 Hasil Pewarnaan Gram *Pseudomonas aeruginosa*…… 27
Gambar 2.5 Komponen dan Tahapan PCR……34
Gambar 2.6 Rangkaian Alat Elektroforesis……...36
Gambar 2.7 Kerangka Teori……...37
Gambar 2.8 Kerangka Konsep……...38
Gambar 2.9 Alur Penelitian……46
Gambar 4.1 Hasil Visualisasi Elektroforesis Produk PCR Menggunakan Geldoc Pada Sampel Ulkus Diabetes……49

DAFTAR SINGKATAN

WHO	: *World Health Organization*
DM	: Diabetes Melitus
PCR	: *Polymerase Chain Reaction*
ADA	: *American Diabetes Association*
DNA	: *Deoxyribo Nucleic Acid*
dNTP	: Deoksiribosanukleotida Trifosfat
EtBr	: Etidium Bromida
IDF	: *International Diabetes Federation*
PERKENI	: Perkumpulan Endokrinologi Indonesia
PTM	: Penyakit Tidak Menular
TBE	: *Tris Borate EDTA*
NFW	: *Nuclease Free Water*
HUM-RC	: *Hasanuddin University Medical-Research Center*
bp	: Band Pita

ABSTRAK

Tasya Natalia, B1D121184, Deteksi Gen *Alginate* (*algD*) Pada *Pseudomonas aeruginosa* Dari Sampel SWAB Ulkus Diabetikum Pasien Diabetes Melitus Menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Dibimbing oleh Dr. Nirmawati Angria S.Si. M. Kes dan Wahdaniar, S.Si.,M.Si

Salah satu komplikasi penyakit diabetes melitus yang utama adalah ulkus diabetikum. Ulkus diabetes mudah berkembang menjadi infeksi karena masuknya bakteri dan adanya gula darah yang tinggi menjadi tempat yang strategis untuk pertumbuhan bakteri salah satunya *Pseudomonas aeruginosa*. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* mensintesis eksopolisakarida yang disebut *alginate* (*algD*). Gen *algD* mengkode GDP *mannose dehydrogenase* merupakan suatu enzim penting dari jalur biosintetik *alginate* dan polimer yang mewakili mekanisme perlindungan penting bagi bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi gen *alginate* (*algD*) pada *Pseudomonas aeruginosa* dari sampel swab ulkus diabetikum pasien diabetes melitus menggunakan *polymerase chain reaction* (PCR). Jenis penelitian yang digunakan adalah observasi laboratorium dengan pendekatan *cross sectional study*. Sampel ulkus pasien diabetes melitus. Hasil penelitian dari 14 sampel ulkus ditemukan pita DNA pada target 593 bp sebanyak 5 sampel. Kesimpulan di temukan 5 (36%) positif gen *alginate* (*algD*) dari sampel swab ulkus diabetikum pasien diabetes melitus.

Kata Kunci : Ulkus Diabetikum, Gen *Alginate* (*algD*), PCR

ABSTRACT

Tasya Natalia (BID121184). Detection of the Alginate (algD) Gene in Pseudomonas aeruginosa from Diabetic Ulcer Swab Samples of Diabetes Mellitus Patients Using the Polymerase Chain Reaction (PCR) Method. Supervised by Nirmawati Angria and Wahdaniar.

One of the major complications of diabetes mellitus is diabetic ulcer. Diabetic ulcers are prone to infection due to bacterial entry and the presence of high blood glucose levels, which create a favorable environment for bacterial growth, including Pseudomonas aeruginosa. This bacterium synthesizes an exopolysaccharide known as alginate (algD). The algD gene encodes GDP-mannose dehydrogenase, an essential enzyme in the alginate biosynthetic pathway, and this polymer plays a crucial role in bacterial protection mechanisms.

This study aimed to detect the alginate (algD) gene in Pseudomonas aeruginosa from diabetic ulcer swab samples of diabetes mellitus patients using the Polymerase Chain Reaction (PCR) method. The type of research used was a laboratory observational study with a cross-sectional approach.

From 14 ulcer samples, DNA bands were detected at the 593 bp target region in five samples.

In conclusion, 5 samples (36%) were found to be positive for the alginate (algD) gene in Pseudomonas aeruginosa isolated from diabetic ulcer swab samples of diabetes mellitus patients.

Keywords: Diabetic Ulcer, Alginate Gene (algD), PCR



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Diabetes melitus (DM) juga disebut sebagai "kencing manis" adalah suatu kondisi yang disebabkan oleh hiperglikemia dan metabolisme protein, karbohidrat, dan lemak yang abnormal bersamaan dengan sekresi insulin. Gejala diabetes melitus antara lain kesemutan, polidipsia, poliuria, polifagia, dan penurunan berat badan (Zuliana dkk, 2023).

World Health Organization (WHO) menyatakan bahwa diabetes melitus (DM) termasuk penyakit yang paling banyak diderita oleh orang di seluruh dunia dan berada di urutan keempat dari prioritas penelitian penyakit degeneratif di seluruh negara. WHO memperkirakan lebih dari 346 juta orang di seluruh dunia mengidap diabetes (WHO, 2022).

International Diabetes Federation (IDF) dalam atlas edisi ke-10 pada akhir tahun 2021 terdapat 537 juta orang dan jumlah ini diperkirakan akan terus meningkat sekitar 643 juta orang pada tahun 2030, lalu pada tahun 2045 diperkirakan akan mencapai 783 juta orang. Diabetes melitus tidak hanya mempengaruhi orang dewasa namun juga anak-anak dan remaja yang berusia 19 tahun, dimana jumlah penyandang diabetes pada kelompok ini juga meningkat setiap tahunnya diperkirakan lebih dari 1,2 juta anak dan remaja mengalami diabetes melitus tipe 1 (Nina dkk, 2024).

Jumlah pasti angka kejadian penderita luka kaki diabetes belum tercatat dengan pasti di dunia maupun negara berkembang seperti Indonesia. Diperkirakan sebanyak 15-25 % pasien DM mengalami luka kaki diabetes, 40-80% diantaranya mengalami risiko Infeksi pada luka kakinya serta 10-20 % pasien dengan luka kaki diabetes memerlukan amputasi. Sebanyak 85% amputasi ekstremitas dilakukan pada kaki yang mengalami luka. Penelitian menyebutkan setiap 30 detik akan ada satu kaki yang dilakukan amputasi karena diabetes di seluruh dunia. Pada dua tahun pertama setelah amputasi, terdapat 50% risiko dilakukannya amputasi kembali dan tiga tahun setelahnya, 50 % diantara pasien tersebut akan mengalami kematian (Suparwati dkk, 2022).

Menurut Dinas Kesehatan, (2021) Untuk Tahun 2020 terlihat penderita DM yang mendapatkan pelayanan kesehatan sesuai standar sebanyak 80.788 penderita, dengan kasus terbanyak di Kota Makassar 18.305 orang dan Kabupaten Bone sebanyak 7.445 orang. Sedangkan kasus terendah terdapat di Kabupaten Barru sebanyak 881 orang, dan Kabupaten Selayar 927 orang. Dari segi persentase tersebut Kota Parepare urutan pertama pelayanan kepada penderita DM sesuai standar sebesar 2.793. Profil Dinas Kesehatan Provinsi Sulawesi Selatan Tahun 2021 penderita (113,4%) melebihi dari estimasi jumlah penderita DM yang seharusnya yang hanya 2.463 orang. Kemudian Kabupaten Maros memberikan pelayanan kepada penderita DM sesuai standar sebesar 4.526 penderita (100,82%) melebihi estimasi jumlah penderita DM yang seharusnya hanya 4.489 orang. Persentase Kota Makassar merupakan yang terendah dalam pelayanan DM sesuai standar hanya 18.305 penderita (22,99%)

kurang dari yang ditargetkan sebanyak 79.608 orang, meskipun demikian Kota Makassar melayani pasien DM yang terbesar di antara seluruh kabupaten/ kota.

Menurut Irjayanti dkk, (2022), menyatakan bahwa faktor yang menjadi penyebab kenaikan kasus DM tiap tahunnya yaitu usia, riwayat keluarga pola makan dan aktivitas fisik sehingga dapat menyebabkan timbulnya berbagai komplikasi.

Salah satu komplikasi diabetes yang sering dijumpai adalah ulkus diabetes. Ulkus Diabetes merupakan luka terbuka pada permukaan kulit yang disebabkan adanya makroangiopati sehingga terjadi vaskuler insufisiensi dan neuropati. Ulkus diabetes mudah berkembang menjadi infeksi karena masuknya bakteri dan adanya gula darah yang tinggi menjadi tempat yang strategis untuk pertumbuhan bakteri. Ulkus Diabetes kalau tidak segera mendapatkan pengobatan dan perawatan, maka akan mudah terjadi infeksi yang segera meluas dan dalam keadaan lebih lanjut memerlukan tindakan amputasi (Azahra & Novalina, 2021).

Bakteri yang terdapat dalam ulkus diabetes berupa gabungan antara bakteri Aerob dan Anaerob. Dimana bakteri yang sering muncul pada ulkus yaitu *Staphylococcusa aureus*, dan *Pseudomonas* sp. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri patogen oportunistik manusia, bakteri Gram negatif, yang bersifat inpasif dan toksigenik, yang dapat menyebabkan infeksi pada tubuh. Bakteri ini menghasilkan sejumlah faktor virulensi setelah proses kolonisasi yang menyebabkan kerusakan jaringan luas, invasi aliran darah dan penyebaranya. Faktor virulensi menyebabkan patogenitas dan dapat

mempengaruhi dalam respon imun. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* mensintesis eksopolisakarida yang disebut *alginate* (*algD*) (Suparwati dkk, (2022); Shafira dkk, (2022).

Alginat adalah polimer yang meliputi asam α -L-guluronat dan asam β -D-mannuronat dan memiliki peran penting dalam perlindungan dan stabilitas struktural biofilm. Sebagian besar gen penghasil *alginat* terletak pada operon besar. Gen pertama dalam operon ini adalah *algD* , yang diperlukan untuk produksi *alginat*, dan ekspresinya sepenuhnya dikendalikan (Rajabi *et al*., 2022).

Gen *algD* memiliki peran penting bagi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Gen *algD* mengkode GDP *mannose dehydrogenase* merupakan suatu enzim penting dari jalur biosintetik *alginate* dan polimer yang mewakili mekanisme perlindungan penting bagi bakteri (Shafira dkk, 2022).

Pada penelitian (Poornakal *et al*., 2022) sebanyak 52 isolat *pseudomonas aeruginosa* dengan prevelensi gen *algD*, *PslD*, dan *PelF* masing-masing adalah 75%, 11,53%, dan 1,92%. Hal ini sejalan dengan penelitian (Georgescu *et al*., 2016) menunjukan keberadaan gen *algD* sebanyak 92,3% pada isolat *Pseudomonas aeruginosa* yang diisolasi dari ulkus kaki kronis. Dalam penelitian ini gen *algD* diidentikasi menggunakan PCR. Dan pada penelitian (Al-Draghi & Saeed, 2020) mengenai deteksi gen berbasis PCR pada *Pseudomonas aeruginosa* diketahui bahwa (98%) dari total isolat *Psedomonas aeruginosa* ditemukan gen *algD*.

Pseudomonas aeruginosa menginfeksi orang dengan sistem kekebalan yang lemah. Bakteri ini tumbuh lebih mudah ketika kadar gula darah tinggi serta sirkulasi darah yang buruk di kaki menjadi penyebab *Pseudommonas aeruginosa* terdapat di ulkus diabetes melitus (Zuliana dkk, 2023).

Berdasarkan penjelasan tersebut maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai Deteksi Gen *Alginate* (*algD*) pada *Pseudomonas aeruginosa* dari Sampel Swab Ulkus Diabetikum Pasien Diabetes Melitus Menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah "Apakah terdeteksi gen *alginate* (*algD*) pada *Pseudomonas aeruginosa* dari sampel swab ulkus diabetikum pasien diabetes melitus menggunakan *polymerase chain reaction* (PCR)?"

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendeteksi gen *alginate* (*algD*) pada *Pseudomonas aeruginosa* dari sampel swab ulkus diabetikum pasien diabetes melitus menggunakan *polymerase chain reaction* (PCR).

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis

   Sebagai pengetahuan baru serta sumber informasi bacaan dan referensi bagi masyarakat.

2. Manfaat Praktis

   Dapat dijadikan sebagai acuan untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai deteksi gen *alginate* (*algD*) pada *Pseudomonas*

aeruginosa dari sampel swab ulkus diabetikum pasien diabetes melitus menggunakan *polymerase chain reaction* (PCR).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Umum Diabetes Melitus

1. Definisi Diabetes Melitus

Dabetes melitus adalah penyakit tidak menular yang mengganggu metabolisme tubuh selama bertahun-tahun yang ditandai dengan tingginya kadar gula di dalam darah karena hormon insulin yang diproduksi oleh tubuh. yang meningkatkan konsentrasi gula dalam darah dan tidak dapat digunakan secara efektif untuk menjaga keseimbangan gula darah (Hartono & Ediyono, 2024).

Diabetes melitus (DM) disebabkan oleh gangguan metabolisme yang terjadi pada organ pankreas yang ditandai dengan peningkatan gula darah atau sering disebut dengan kondisi hiperglikemia yang disebabkan karena menurunnya jumlah insulin dari pankreas. Penyakit DM dapat menimbulkan berbagai komplikasi baik makrovaskuler maupun mikrovaskuler. Penyakit DM dapat mengakibatkan gangguan kardiovaskular yang dimana merupakan penyakit yang terbilang cukup serius jika tidak secepatnya diberikan penanganan sehingga mampu meningkatkan penyakit hipertensi dan infark jantung (Lestari dkk, 2021).

Diabetes melitus merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan adanya kenaikan gula darah disebabkan oleh terganggunya hormon insulin yang memiliki fungsi untuk menjaga homeostasis tubuh dengan cara menurunkan kadar gula dalam darah. Masih tingginya angka

kejadian diabetes melitus juga diperkuat dari hasil penelitian yang pernah ada, yang mana diabetes melitus adalah penyakit dari gangguan metabolisme kronis ditandai oleh peningkatan kadar gula darah. Pola makan yang buruk, meliputi waktu makan yang tidak tepat serta jumlah konsumsi makanan yang tidak teratur akan mempengaruhi kadar gula darah dalam tubuh. Aktivitas fisik juga merupakan faktor yang berisiko menyebabkan diabetes melitus dikarenakan oleh aktivitas fisik yang kurang dapat memicu terjadinya resistensi insulin sehingga meningkatkan kadar gula darah (Astutisari dkk, 2022).

Diabetes melitus merupakan suatu penyakit atau gangguan metabolisme kronis dengan multi etiologi yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa darah dan disertai dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lipid, dan protein sebagai akibat insufisiensi fungsi insulin. Diabetes melitus suatu penyakit menahun yang ditandai oleh kadar glukosa darah yang melebihi nilai normal (*hiperglikemia*) secara menahun (Nina dkk, 2024).

Diabetes Melitus (DM) merupakan suatupenyakit menahun yang ditandai dengan kadar glukosa darah (gula darah) melebihi normal yaitu kadar gula darah sewaktu sama atau lebih dari 200 mg/dl, dan kadar gula darah puasa di atas atau sama dengan 126 mg/dl. DM dikenal sebagai silent killer karena sering tidak disadari oleh penyandangnya dan saat diketahui sudah terjadi komplikasi. DM dapat menyerang hampir seluruh sistem

tubuh manusia, mulai dari kulit sampai jantung yang menimbulkan komplikasi (Hestiana, 2017).

2. Epidemiologi

Kasus diabetes melitus umumnya lebih sering terjadi di negara berkembang dari pada negara maju. Menurut *International Diabetes Federation* (2017) terdapat 425 juta jiwa penderita diabetes melitus di dunia. Untuk wilayah Asia Tenggara terdapat 82 juta kasus diabetes melitus pada tahun 2017 dan diperkirakan akan bertambah menjadi 151 juta pada tahun 2045 (Astutisari dkk, 2022).

International Diabetes Federation (IDF) dalam atlas edisi ke-10 pada akhir tahun 2021 terdapat 537 juta orang dan jumlah ini diperkirakan akan terus meningkat sekitar 643 juta orang pada tahun 2030, lalu pada tahun 2045 diperkirakan akan mencapai 783 juta orang. Diabetes melitus tidak hanya mempengaruhi orang dewasa namun juga anak-anak dan remaja yang berusia 19 tahun, dimana jumlah penyandang diabetes pada kelompok ini juga meningkat setiap tahunnya diperkirakan lebih dari 1,2 juta anak dan remaja mengalami diabetes melitus (Nina dkk , 2024).

Peningkatan kasus tersebut terus terjadi setiap tahunnya dimana wilayah Asia Tenggara menduduki posisi ketiga di dunia. Di Indonesia kasus diabetes melitus ini juga sering terjadi, hal ini menyebabkan Indonesia menduduki peringkat ke 6 dari 10 negara besar dengan kasus diabetes melitus terbanyak di Asia. Provinsi di Indonesia dengan tingkat prevalensi diabetes melitus paling banyak terdapat di daerah DKI Jakarta (3,4%) dan yang terkecil di NTT (0,9%) (Astutisari dkk, 2022).

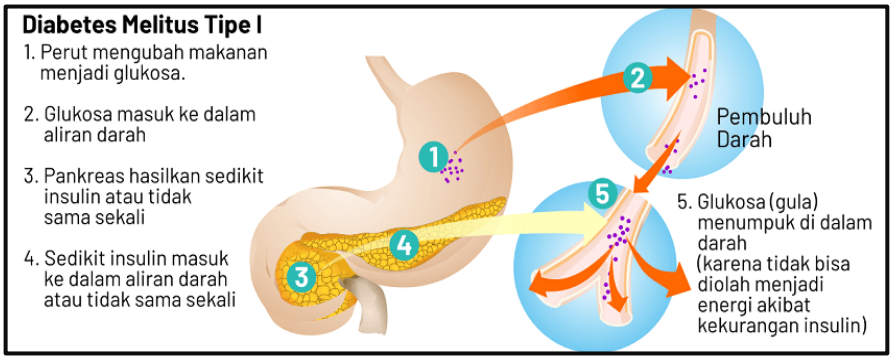
Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) yang dilaksanakan pada tahun 2018 melakukan pengumpulan data penderita diabetes melitus pada penduduk berumur 15 tahun. Kriteria diabetes melitus pada Risksesdas 2018 mengacu pada konsensus Perkumpulan Endokrinologi Indonesia (PERKENI) yang mengadopsi kriteria *American Diabetes Association* (ADA) Menurut kirteria tersebut diabetes molitus ditegakkan bila kadar glukosa darah puasa 125 mg/dl, atau glukosa darah 2 jam panca pembebanan 200 mg/dl atau glukosa darah sewaktu 200 mg/dl dengan gejala sering lapar, sering haus, sering buang air kecil dan dalam jumlah banyak dan berat badan turun (Kementerian Kesehatan RI., 2020).

Peningkatan kasus diabetes di Indonesia terjadi di berbagai provinsi salah satunya adalah provinsi Sulawesi Selatan yang menempati urutan ke 4 sebagai penyakit yang tidak menular dengan presentase 6,65% dan urutan kelima sebagai penyebab kematian di Sulawesi Selatan begitu pula pada Kota Makassar diabetes melitus menjadi salah satu penyebab kasus kematian dengan urutan kelima dari 10 kasus terbanyak bahkan pada tahun 2011 jumlah penderita diabetes melitus sudah mencapai 5700 dan meningkat 1300 kasus pada tahun 2012 atau 7000 kasus (Kurnia dkk, 2024).

3. Klasifikasi Diabetes Melitus

Menurut Kementerian Kesehatan RI, (2020) penyebab kenaikan kadar gula darah tersebut menjadi landasan pengelompokkan jenis diabetes melitus yaitu:

a. Diabetes Melitus Tipe 1

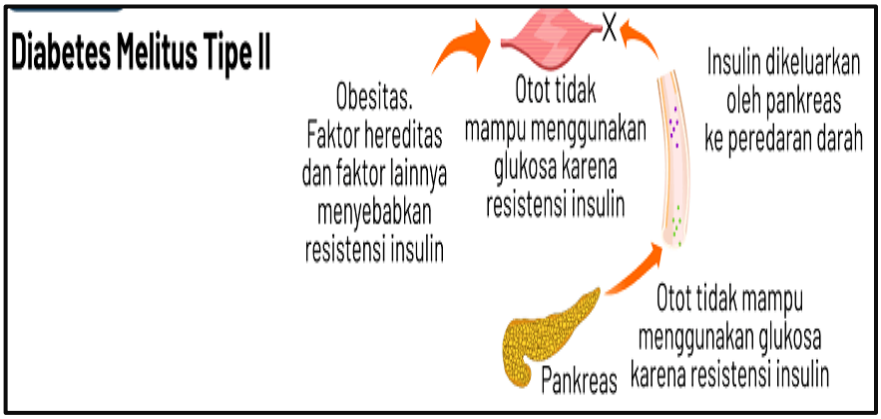


Gambar 2.1 Diabetes Melitus Tipe 1 (Kementerian Kesehatan RI.,2020).

Diabetes yang disebabkan kenaikan kadar gula darah karena kerusakan sel beta pankreas sehingga produksi insulin tidak ada sama sekali, Insulin adalah hormon yang dihasilkan oleh pankreas untuk mencerna gula dalam darah. Penderita diabetes tipe ini membutuhkan asupan insulin dari luar tubuhnya.

Diabetes tipe 1 biasanya muncul pada usia anak-anak atau remaja, dan dapat didiagnosis pada pria maupun wanita. Gejalanya sering muncul dengan cepat, dan jika tidak diobati dengan suntikan insulin segera, kondisi ini dapat menjadi sangat parah hingga penderitanya koma (Hartono & Ediyono, 2024).

b. Diabetes Melitus 2



Gambar 2.2 Diabetes Melitus Tipe 2 (Kementerian Kesehatan RI.,2020).

Diabetes yang disebabkan kenaikan gula darah karena penurunan sekresi insulin yang rendah oleh kelenjar pankreas.

Diabetes tipe 2 adalah jenis diabetes yang paling umum, dengan 90-95% penderita berada di atas 40 tahun. Diabetes tipe 2 meskipun pankreas masih dapat membuat insulin, kualitasnya buruk dan tidak berfungsi dengan baik, yang menyebabkan peningkatan gula darah. Meskipun pasien biasanya tidak memerlukan suntikan insulin, mereka harus mengonsumsi obat oral, atau tablet, yang berfungsi untuk meningkatkan fungsi insulin, mengurangi jumlah gula dalam darah, dan meningkatkan bagaimana hati mengolah gula (Hartono & Ediyono, 2024).

c. Diabetes Gestational

Diabetes tipe gestasi atau gestational diabetes adalah kondisi yang disebabkan oleh perkembangan hormone pada wanita hamil, yang menyebabkan resistensi insulin. Diabetes melitus gestasional dapat didiagnosis pada trimester kedua atau ketiga kehamilan tanpa gejala diabetes kehamilan yang jelas (Hartono & Ediyono, 2024).

4. Manifestasi Klinis

Menurut Lestari dkk, (2021), Gejala dari penyakit DM yaitu antara lain:

a. Poliuri (sering buang air)

Buang air kecil lebih sering dari biasanyaterutama pada malam hari (poliuria), hal ini dikarenakan kadar gula darah melebihi ambang ginjal (>180mg/dl), sehingga gula akan dikeluarkan dikeluarkan melalui urine. Guna menurunkan konsentrasi urine yang dikeluarkan, tubuh akan menyerap air sebanyak mungkin ke dalam urine sehingga urine dalam jumlah besar dapat dikeluarkan dan sering buang air kecil. Dalam keadaan normal, keluaran urine harian sekitar 1,5 liter, tetapi pada pasien DM yang tidak terkontrol, keluaran urine lima kali lipat dari jumlah ini. Sering merasa haus dan ingin minum air putih sebanyak mungkin (poliploidi). Dengan adanya ekskresi urine, tubuh akan mengalami dehidrasi atau dehidrasi. Untuk mengatasi masalah tersebut maka tubuh akan menghasilkan rasa haus sehingga penderita selalu ingin minum air terutama air dingin, manis, segar dan air dalam jumlah banyak.

b. Polifagi (cepat merasa lapar)

Nafsu makan meningkat (polifagi) dan merasa kurang tenaga. Insulin menjadi bermasalah pada penderita DM sehingga pemasukan gula ke dalam sel-sel tubuh kurang dan energi yang dibentuk pun menjadi kurang. Ini adalah penyebab mengapa penderita merasa kurang tenaga. Selain itu, sel juga menjadi miskin gula sehingga otak

juga berfikir bahwa kurang energi itu karena kurang makan, maka tubuh kemudian berusaha meningkatkan asupan makanan dengan menimbulkan alarm rasa lapar.

c. Berat Badan Menurut

Ketika tubuh tidak mampu mendapatkan energi yang cukup dari gula karena kekurangan insulin, tubuh akan bergegas mengolah lemak dan protein yang ada di dalam tubuh untuk diubah menjadi energi. Dalam sistem pembuangan urine, penderita DM yang tidak terkendali bisa kehilangan sebanyak 500 gr glukosa dalam urine per 24 jam (setara dengan 2000 kalori perhari hilang dari tubuh). Kemudian gejala lain atau gejala tambahan yang dapat timbul yang umumnya ditunjukkan karena komplikasi adalah kaki kesemutan, gatal-gatal, atau luka yang tidak kunjung sembuh, pada wanita kadang disertai gatal di daerah selangkangan (*pruritus vulva*) dan pada pria ujung penis terasa sakit (*balanitis*).

Penderita DM tipe 1 juga akan mengalamai anoreksia dan polifagia (rasa lapar yang berlebih) yang terjadi karena glukosuria yang

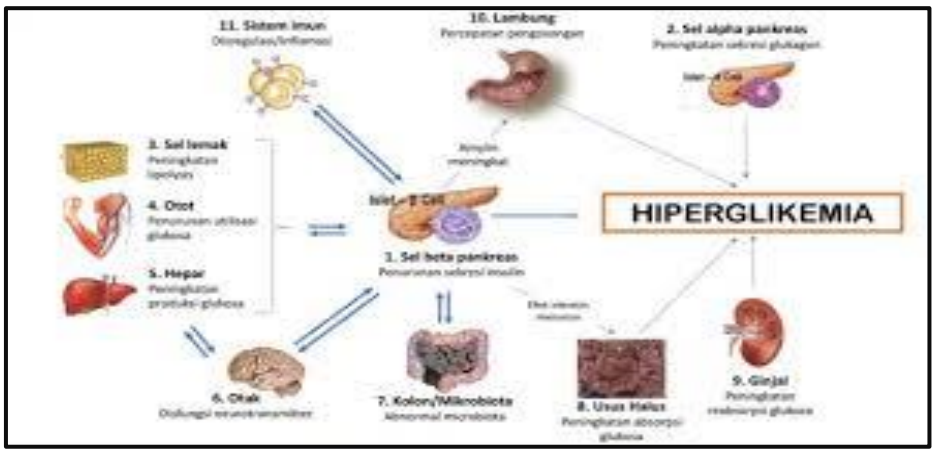
menyebabkan keseimbangan kalori negatif. Penderita DM tipe 1 akan mengalami keletihan (rasa cepat lelah) dan kelemahan yang disebabka penggunaan glukosa oleh sel menurun. Pada kulit pasien DM tipe 1 akan mengalami kering, lesi kulit atau luka yang lambat sembuhnya, dan rasa gatal pada kulit. Sakit kepala, mengantuk, dan gangguan pada aktivitas disebabkan oleh kadar glukosa intrasel yang rendah, kram pada otot, iritabilitas, serta emosi yang labil akibat ketidak seimbangan elektrolit merupakan. Gangguan penglihatan seperti pemandangan kabur yang disebabkan karena pembengkakan akibat glukosa dan sensasi kesemutan atau kebas di tangan dan kaki yang disebabkan kerusakan jaringan saraf juga sering di alami oleh penderita DM tipe . Gangguan rasa nyaman dan nyeri pada abdomen pada penderita DM tipe 1 disebabkan karena neuropati otonom yang akan menimbulkan konstipasi (Marzel, 2021).

5. Patogenesis Diabetes Melitus

Patogenesis diabetes melitus merupakan Resistensi insulin pada sel otot dan hati, serta kegagalan sel beta pankreas. Hasil penelitian terbaru telah diketahui bahwa kegagalan sel beta ter jadi lebih dini dan lebih berat dari yang diperkirakan sebelumnya. Organ lain yang juga terlibat pada DM tipe 2 adalah jaringan lemak (meningkatnya lipolisis), gastrointestinal (defisiensi inkretin), sel alfa pankreas (hiperglukagonemia), ginjal (peningkatan absorpsi glukosa), dan otak (resistensi insulin), yang ikut berperan menyebabkan gangguan toleransi glukosa. Saat ini sudah ditemukan tiga jalur patogenesis baru dari *ominous octet* yang

memperantarai terjadinya hiperglikemia pada DM tipe 2 (Soelistijo dkk, 2019).

Schwartz pada tahun 2016 menyampaikan, bahwa tidak hanya otot, hepar, dan sel beta pankreas saja yang berperan sentral dalam patogenesis penyandang DM tipe 2 tetapi terdapat delapan organ lain yang berperan, disebut sebagai *the egregious eleven.*



Gambar 2.3 *The Egregious Eleven* (Schwartz,SS *et al*., 2016)

Diabetes melitus tipe 1 dapat terjadi karena gangguan terhadap produksi insulin akibat kerusakan sel beta pankreas. Patofisiologi dari DM tipe 1 yakni adanya reaksi autoimun akibat peradangan pada sel beta. Hal ini menyebabkan timbulnya antibodi terhadap sel beta yang disebut *Islet Cell Antibody* (ICA). Reaksi antigen (sel beta) dengan antibodi ICA yang ditimbulkannya menyebabkan hancurnya sel beta (Marzel, 2021).

6. Faktor Resiko Diabetes Melitus

Diabetes sering disebabkan oleh faktor genetik dan perilaku atau gaya hidup seseorang. Selain itu faktor lingkungan sosial dan pemanfaatan pelayanan kesehatan juga menimbulkan penyakit diabetes dan komplikasinya. Diabetes dapat memengaruhi berbagai sistem organ tubuh manusia dalam jangka waktu tertentu, yang disebut komplikasi. Komplikasi diabetes dapat dibagi menjadi pembuluh darah mikrovaskular dan makrovaskuler. Komplikasi mikrovaskuler termasuk kerusakan sistem saraf (neuropati), kerusakan sistem ginjal (nefropati) dan kerusakan mata (retinopat) (Lestari dkk, 2021).

Diabetes diperkirakan terjadi karena beberapa faktor risiko seperti asam urat serum tingkat tinggi, kualitas/kuantitas tidur yang buruk, merokok, depresi, penyakit kardiovaskular, dislipidemia, hipertensi, penuaan, etnis, riwayat keluarga diabetes, ketidak aktifan fisik, dan obesitas. Keseimbangan kalori yang tidak baik dari kebiasaan diet yang tidak sehat, penurunan aktivitas fisik, dan peningkatan kegiatan yang menggunakan energi yang sedikit menyebabkan peningkatan adipositas, yang pada akhirnya menyebabkan pembentukan kembali jaringan adiposa dan obesitas. Kelebihan adipositas ini, pada gilirannya, secara nyata meningkatkan risiko penyakit kardiometabolik, terutama diabetes melitus tipe 2. Selain itu, kebiasaan merokok juga berhubungan, perokok aktif dan pasif sangat terkait dengan kejadian diabetes tipe 2 (Widiasari dkk, 2021).

Menurut Hartono & Ediyono (2024), beberapa keadaan yang menyebabkan timbulnya penyakit diabetes melitus adalah :

a. Usia

Masuk usia lanjut, diabetes pasti akan muncul jika tubuh terus dipenuhi dengan makanan berkalori tinggi atau menu karbohidrat. Ini karena kemampuan insulin dan pankreas melemah.

b. Ras atau Etnis

Diabetes lebih sering didiagnosis pada orang berkulit hitam daripada orang berkulit putih. Orang Asia juga lebih rentan terhadap diabetes.

c. Gaya Hidup

Tidak sarapan, makan hingga larut malam, tidak bisa tidur jika makan makanan berat, gemar merokok, kurang bergerak, dan menjadi gemuk. Semua hal ini dapat menyebabkan resistensi insulin, yang dapat menyebabkan diabetes. Lebih dari 80 persen orang gemuk akan mengalami diabetes. Selain itu, risiko terkena sakit jantung atau stroke meningkat sebanyak dua hingga empat kali lipat. Semakin banyak lemak yang tertimbun di perut, insulin menjadi lebih sulit untuk bekerja, yang menyebabkan peningkatan gula darah menjadi lebih mudah.

d. Obat - Obatan Steroid

Penderita asma atau rematik yang sering mengonsumsi steroid memiliki efek counter-insulin, yang menyebabkan gula darah naik. Dengan cara yang serupa, beberapa obat, seperti penyekat beta dan diuretik, obat tuberkulosa (INH), obat asma (salbutamol dan

terbutaline), obat HIV (pentamidin, protease inhibitor), dan obat menurunkan kolesterol (niacin).

e. Infeksi Pada Pankreas

Diabetes dapat disebabkan oleh pankreatitis atau penyakit yang menyerang menyerang kelenjar hipofisis seperti akromegali

f. Kehamilan

Diabetes dapat terjadi pada 2-5% wanita hamil.

g. Keturunan

Jika seseorang dalam keluarganya menderita diabetes, anngota keluarga yang lain juga berisiko menderita diabetes.

h. Stres

Dalam situasi ini menyebabkan hormon counter insulin, yang bekerja berlawanan dengan insulin, menjadi lebih aktif, menyebabkan peningkatan gula darah.

B. Tinjauan Umum Ulkus Diabetes Melitus

1. Definisi Ulkus Diabetes Melitus

Ulkus diabetikum merupakan kerusakan yang terjadi sebagian (*Partial Thickness*) atau keseluruhannya (*Full Thickness*) pada daerah kulit yang meluas kejaringan bawah kulit, tendon, otot, tulang atau persendian yang terjadi pada seseorang yang menderita penyakit Diabetes Melitus (DM), kondisi ini timbul akibat dari peningkatan kadar gula darah yang tinggi. Apabila ulkus kaki berlangsung lama, tidak dilakukan penatalaksanaan dan tidak sembuh, maka luka akan menjadi terinfeksi (Wulan dkk, 2024).

Masalah kaki diabetik adalah salah satu efek samping dari diabetes melitus. Kaki diabetik rentan mengalami luka dan akan cepat berubah menjadi ulkus kaki diabetik jika tidak dirawat. Luka terbuka yang terbentuk di permukaan kulit akibat infeksi dikenal sebagai ulkus kaki akibat diabetes. Sirkulasi darah yang buruk di kaki adalah penyebabnya dari kerusakan pembuluh darah dan saraf. Bakteri dapat tumbuh lebih mudah ketika kadar gula darah tinggi. Diabetes juga menghambat kapasitas tubuh untuk menyembuhkan dirinya sendiri. Jika kaki diabetik tidak dirawat dengan baik, gangren dan ulkus diabetik dapat terbentuk, dan kaki juga dapat menjadi rapuh dan rentan terhadap infeksi (Zuliana dkk, 2023).

Ulkus kaki diabetikum adalah lesi non traumatis pada kulit (sebagian atau seluruh lapisan) pada kaki penderita diabetes melitus. Ulkus kaki diabetikum biasanya disebabkan oleh tekanan berulang (geser dan tekanan) pada kaki dengan adanya komplikasi terkait diabetes melitus dari neuropati perifer atau penyakit arteri perifer, dan penyembuhannya sering dipersulit oleh perkembangan infeksi (Trisnawati dkk, 2023).

Kejadian *diabetic foot* saat ini masih cukup tinggi dan dialami oleh 85% pasien dengan diabetes melitus (DM). Satu dari setiap 20 pasien DM rawat inap menderita *diabetic foot* menurut tinjauan sistematis pasien dengan diabetes. Anggota tubuh bagian bawah hilang karena diabetes setiap 20 detik (Hadrianti dkk, 2022).

Adanya *diabetic foot* mengakibatkan adanya penurunan kualitas hidup dan meningkatkan ketergantungan terhadap keluarga dan pelayanan kesehatan. Faktor risiko utama diabetic foot adalah neuropati diabetik, vaskular penyakit, kelainan bentuk kaki dan penurunan resistensi terhadap infeksi. Akhir dari perjalanan penyakit ulkus kaki pada pasien diabetes melitus adalah amputasi yang memiliki banyak efek pada kualitas hidup pasien diabetes. Tingkat kelangsungan hidup untuk pasien yang menjalani amputasi adalah sekitar 50% setelah tiga tahun. Risiko amputasi pada pasien dengan diabetes adalah 15 kali lebih besar dari pada pasien tanpa diabetes (Hadrianti dkk, 2022).

2. Epidemiologi Ulkus Diabetes Melitus

Tingkat morbiditas ulkus kaki diabetik sangat tinggi demikian juga dengan angka mortalitas 5 tahun setelah amputasi ekstremitas bawah. Lebih dari setengah ulkus kaki akan terinfeksi dan membutuhkan rawat inap, dan 20% dari infeksi ekstremitas bawah akan berakhir dengan amputasi. Prevalensi ulkus kaki diabetik bervariasi dari sekitar 1% Eropa dan lebih dari 11% di beberapa negara Afrika. Di negara-negara berkembang, ulkus kaki dan amputasi masih sangat umum terjadi. Kemiskinan, kurangnya sanitasi dan kebersihan, dan berjalan kaki tanpa alas kaki sering berinteraksi menambah dampak kerusakan ulkus kaki diabetik (Decroli, 2019).

Menurut *International Diabetes Federation* (IDF) tahub 2019 diperkirakan bahwa 19-34% pasien diabetes cenderung terkena ulkus diabetik di hidup mereka dan dilaporkan bahwa 9,1 sampai 26,1 juta orang

dengan DM berpotensi mengembangkan ulkus diabetik setiap tahun (Dharmayanti dkk, 2024).

Prevalensi penderita ulkus diabetikum di Indonesia sekitar 15%, angka amputasi 30%, selain itu angka kematian 1 tahun pasca amputasi sebesar 14,8%. Hal ini didukung oleh data Riskesdas (2018) bahwa kenaikan jumlah penderita ulkus diabetikum di Indonesia dapat terlihat dari kenaikan prevelensi sebanyak 11% (Yanti dkk, 2023).

3. Patogenesis Ulkus Diabetes Melitus

Faktor yang berperan pada patogenesis Ulkus Kaki Diabetik (UKD) meliputi hiperglikemia kronik, neuropati perifer, keterbatasan sendi dan deformitas. Perubahan fisiologis yang diinduksi oleh "hiperglikemia jaringan" ekstremitas bawah termasuk penurunan potensial pertukaran oksigen dengan membatasi proses pertukaran atau melalui induksi kerusakan pada sistem saraf otonom yang menyebabkan shunting darah yang kaya oksigen menjauhi permukaan kulit. Sistem saraf dirusak oleh keadaan hiperglikemia melalui berbagai cara sehingga lebih mudah terjadinya cedera pada saraf tersebut. Sedikitnya ada 3 mekanisme kerusakan saraf yang disebabkan oleh hiperglikemia, yaitu efek metabolik, kondisi mekanik, dan efek kompresi kompartemen tungkai bawah. Penurunan kadar oksigen jaringan, yang digabung dengan fungsi saraf sensorik dan motorik yang terganggu bisa menyebabkan UKD (Decroli, 2019).

Kerusakan saraf pada diabetes mengenai serat motorik, sensorik, dan otonom. Neuropati motorik menyebabkan kelemahan otot, atrofi, dan

paresis. Neuropati sensorik menyebabkan hilangnya sensasi nyeri, tekanan, dan panas yang protektif. Neuropati otonom yang menyebabkan vasodilatasi dan pengurangan keringat juga bisa menyebabkan kehilangan integritas kulit, yang membentuk lokasi ideal untuk invasi mikrobial (Decroli, 2019).

Keterbatasan mobilitas sendi pada sendi subtalar dan metatarsalphalangeal sangat sering terjadi pada pasien diabetes melitus tipe 2 berhubungan dengan glikosilasi kolagen yang menyebabkan penebalan struktur periartikuler, seperti tendon, ligamen, dan kapsul sendi. Hilangnya sensasi karena neuropati pada sendi menyebabkan artropati kronik, progresif, dan destruktif. Glikosilasi kolagen ikut memperburuk penurunan fungsi tendon Achilles pada pasien diabetes melitus tipe 2 sehingga pergerakan tendon Achilles menyebabkan deformitas. Pada keadaan di atas bila kaki mendapat tekanan yang tinggi maka memudahkan terjadinya ulserasi pada pasien diabetes melitus tipe 2 (Decroli, 2019).

Ulkus kaki diabetik juga dapat terjadi oleh karena adanya gangguan pada aliran darah pembuluh darah tungkai yang merupakan manifestasi dari penyakit arteri perifer. Penyakit arteri perifer pada pembuluh darah tungkai didasari oleh hiperglikemia kronik, kerusakan endotel dan terbentuknya plak aterosklerosis (Decroli, 2019).

4. Komplikasi Ulkus Diabetes Melitus

Komplikasi ulkus kaki diabetik menjadi hal yang menakutkan bagi penderita diabetes melitus, dan disebutkan bahwa ulkus memberikan dampak yang buruk terhadap kualitas hidup penderita diabetes. Kejadian amputasi serta luka berulang sering kali dialami oleh penderita diabetes dengan ulkus kaki diabetik. Hal ini tentunya harus mendapatkan perhatian yang khusus, dimana perlu adanya kajian yang mendalam untuk mendeteksi penyebab-penyebab terjadinya komplikasi tersebut. Banyak faktor yang menyebabkan terjadinya komplikasi yang dialami oleh penderita ulkus kaki diabetik, diantaranya seperti yang telah diteliti oleh peneliti sebelumnya tentang analisis faktor yang menyebabkan terjadinya komplikasi ulkus kaki diabetik yaitu perawatan luka yang tidak adekuat, pengendalian infeksi, vaskularisasi, usia, nutrisi, penyakit komplikasi, adanya riwayat merokok, pengobatan, dan psikologis (Pratama dkk, 2024).

5. Faktor Resiko Ulkus Diabetes Melitus

Faktor terjadinya ulkus diabetik yaitu neuropati, lama menderita diabetes, *peripheral artery disease*, perawatan kaki tidak teratur, penggunaan alas kaki yang tidak tepat, trauma kaki (kaki lecet), kurang latihan fisik, dan kadar glukosa tidak terkontrol (Dharmayanti dkk, 2024).

Terdapat bebarapa faktor resiko yang menyebabkan ulkus kaki diabetikum yang lebih lanjut disebabkan oleh umur lebih dari 60 tahun, diabetes melitus yang sudah lebih dari 10 tahun, obesitas, hypertensi, neuropati, glikolisasi hemoglobin, kolesterol total, kebiasaan merokok, ketidak patuhan diet diabetes melitus, pengobatan tidak teratur, kurangnya

aktivitas fisik, perawatan kaki tidak teratur, penggunaan alas kaki yang tidak tepat (Trisnawati dkk, 2023).

Bakteri anaerob dan aerob sama-sama memiliki kemampuan untuk berkembang menjadi patogen dan mengakibatkan ulkus diabetik. Bakteri patogen aerob gram positif yang sering menimbulkan kontaminan antara lain *Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus aureus*, dan *Streptococcus* sp.. Bakteri gram negatif termasuk *Enterobacter* sp. dan *Citrobacter* sp., *Klebsiella* sp., *Proteus mirabilis*, *Eschericia coli, Proteus vulgaris,* dan *pseudmonas aeruginosa* (Zuliana dkk, 2023).

C. Tinjauan Umum *Pseudomonas aeruginosa*

1. Definisi *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri gram negatif yang paling umum sebagai penyebab penyakit infeksi kaki diabetik. Bakteri ini menyebabakan cedera serius pada pasien dengan ulkus kaki diabetik dan tidak dapat dianggap kontaminasi atau flora alami, karena mikroorganisme ini selalu menjadi patogen pada populasi pasien dan penyebab utama sepsi dan amputasi terkait diabetes (Garousi *et al*., 2023).

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri batang gram negatif, aerobik, tidak membentuk spora, mampu menyebabkan berbagai infeksi baik pada host/inang yang *immunocompetent* maupun yang *immunocompromised* serta banyak ditemukan di lingkungan dan merupakan patogen oportunistik. *Pseudomonas aeruginosa* tidak dapat memfermentasi karbohidrat, memiliki aktivitas oksidase dan bau yang khas, tumbuh dengan baik pada suhu 250ºC-350ºC dan juga dapat tumbuh pada suhu

420ºC sehingga menjadikan karakter pembeda dengan spesies lainnya (Scania & Ningsih, 2023).

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri patogen oportunistik dimana bakteri tersebut berkemampuan sebagai patogen ketika mekanisme pertahanan inang diperlemah dengan memanfaatkan kerusakan pada mekanisme pertahanan inang untuk memulai suatu infeksi. Bakteri ini dapat menyebabkan infeksi pada saluran kemih, infeksi saluran pernapasan, dermatitis, infeksi jaringan lunak, bakteremia, infeksi tulang dan sendi, infeksi pencernaan, dan berbagai macam infeksi sistemik terutama pada penderita luka bakar berat, kanker, serta penderita AIDS yang mengalami penurunan sistem imun (Scania & Ningsih, 2023).

Bakteri ini umumnya didapatkan pada luka superfisial, paling sering pada penderita yang telah menerima terapi antibiotik. Infeksi oleh *Pseudomonas Aeruginosa* memberikan dampak yang besar dalam proses penyembuhan luka. Bakteri ini membuat penyembuhan luka sangat tertunda karena infeksi oleh bakteri ini seringkali membentuk biofilm yang mengakibatkan tidak optimalnya penggunaan antibiotik. Bakteri ini dapat meningkatkan terjadinya resistensi antibiotik pada luka. Amputasi menjadi konsekuensi umum dari perparahan kondisi (Suparwati dkk, 2022).

2. Taksonomi *Pseudomonas aeruginosa*

Menurut Scania & Ningsih (2023), klasifikasi *Pseudomonas aeruginosa* yaitu:

Kingdom : Bacteria

Subkingdom : Negibacteria

Filum : Proteobacteria

Kelas : Gammaproteobacteria

Ordo : Pseudomonadales

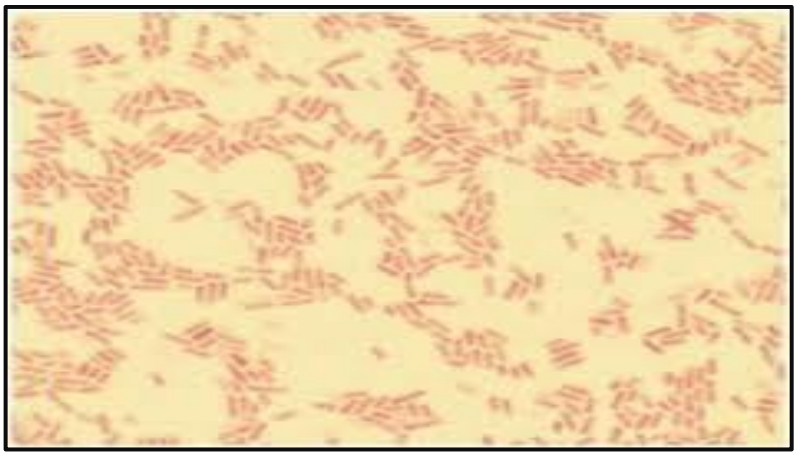
Famili : Pseudomonadaceae

Genus : *Pseudomonas*

Spesies : *Pseudomonas aeruginosa*

3. Karakteristik *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri Gram negatif aerob, berbentuk batang, bergerak dengan alat gerak/flagel monotrik (memiliki satu flagel pada bagian ujung badan bakteri), mampu memanfaatkan sumber karbon dan energi yang sangat beragam, tidak membentuk spora, tidak dapat memfermentasi karbohidrat, memiliki aktivitas oksidase dan bau yang khas seperti anggur. Bakteri ini tumbuh dengan baik pada suhu 25ºC-35ºC dan juga dapat tumbuh pada suhu 42ºC sehingga menjadikan karakter pembeda bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan spesies lainnya dan berukuran sekitar 0,6 × 2 µm (Scania & Ningsih, 2023).



Gambar 2.4 Hasil Pewarnaan Gram *Pseudomonas aeruginosa*, berukuran sekitar 0,6x2 µm. Perbesaran 100x (Scania & Ningsih, 2023).

Pseudomonas aeruginosa mampu mendegradasi hidrokarbon polisiklik aromatik dan menghasilkan lektin, rhamnolipid, quino- lone, hidrogen sianida, dan fenazin bila ditemukan di tanah. *Strain Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan 4 jenis pigmen yaitu *Pyocyanin* (pigmen hijau-biru turunan fenazon yang larut dalam lemak dan berperan dalam metabolisme Fe. Pigmen ini membantu dalam menjaga keseimbangan redoks di sekitar bakteri dan komunikasi antar sel), Pigmen *pyoverdine* (pigmen fluorescen hijau-kuning yang larut dalam air, pigmen ini diproduksi oleh 70-80% isolat *Pseudomonas* sp. dan bertindak sebagai siderofor (senyawa organik dengan massa molekul rendah yang diproduksi oleh mikroba dan tanaman yang tumbuh dalam kondisi besi/Fe rendah), *Pyorubin* (pigmen merah-coklat yang larut dalam air. Pigmen ini dihasilkan oleh 2-3% isolat *Pseudomonas* sp. dan berfungsi dalam menjaga keseimbangan redoks), dan *Pyomelanin* (pigmen coklat-hitam yang larut dalam air dan bersifat asam). *Pseudomonas aeruginosa* dapat tumbuh di berbagai lingkungan, sumber nutrisi dan menjadi patogen oportunistik, mampu membentuk biofilm, resisten terhadap antibiotik, menghasilkan faktor virulensi dan dapat berkembang pesat menjadi infeksi kronis (Scania & Ningsih, 2023).

4. Patogenesis *Pseudomonas aeruginosa*

Ulkus kaki diabetik disebabkan oleh infeksi berulang dari mikroorganisme aerobik, anaerobik, dan jamur, baik sendiri-sendiri maupun dalam kombinasi. Menurut *American Infectious Disease Society*,

DFU dibagi menjadi tiga subkategori: infeksi ringan dengan gejala superfisial, infeksi sedang dengan gejala yang lebih dalam dan jelas, dan infeksi berat dengan gejala sistemik atau kelainan metabolik (Chatterjee & Sivashanmugam, 2024).

Luka infeksi sedang terutama dikolonisasi oleh basil Gram-negatif aerobik, non-fermentasi yaitu, *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli, Morganella morganii, Klebsiella pneumonia, Proteus mirabilis*) , *Acinetobacter* sp*,Citrobacter* sp., *Enterobacter* sp. Dan *Pseudomonas aeruginosa*. Dalam beberapa penelitian, isolat Gram-negatif (50%) ditemukan lebih tinggi daripada isolat Gram-positif (30%). *Pseudomonas aeruginosa*, yang mencakup 14% dari isolat, adalah patogen yang mengerikan dan vital dengan resistensi antibiotik yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan yang signifikan dan menyebabkan sepsis dan amputasi (Chatterjee & Sivashanmugam, 2024).

Saat bakteri aerobik berkembang biak, mereka menggunakan oksigen dan meningkatkan kondisi pertumbuhan bakteri anaerob, membantu anaerob dalam mengatasi efek berbahaya dari oksigen. Lebih jauh lagi, isolat mikroba dari luka ditemukan dapat menoleransi dan tumbuh subur pada kisaran pH yang lebih luas, yang membantu mereka menghindari keterbatasan lingkungan makro eksternal dan meningkatkan pertumbuhan dan kelangsungan hidup komunitas mikroba. Akibatnya, produksi faktor virulensi seperti hemolisin, kolagenase, proteinase, dan asam lemak rantai pendek meningkat, yang meningkatkan peradangan dan menghambat

penyembuhan luka. Sifat patogenik tambahan dari banyak organisme adalah kemampuannya untuk terbungkus dalam biofilm. Karena kondisi hiperglikemik, *Pseudomonas aeruginosa* mensintesis biofilm tebal, yang menurunkan kerentanan antibiotik dan menghambat penyembuhan luka. Biofilm ini berfungsi sebagai penghalang yang menghambat difusi antibiotik, protein antimikroba, lisozim, dan defensin, sekaligus melindungi organisme dari fagositosis dan meningkatkan resistensi antibiotik (Chatterjee & Sivashanmugam, 2024).

Menurut penelitian Rajabi *et al* (2022) menyatakan pembentukan biofilm merupakan salah satu faktor virulensi utama pada infeksi *Pseudomonas aeruginosa.* Pada penelitian tersebut bertujuan untuk menyelidiki keberadaan gen yag terlibat dalam pembentukan biofilm pada isolat klinis *Pseudomonas aeruginosa.* Dimana, hasil penelitian itu menunjukkan frekuansi gen yang terlibat dalam pembentukan biofilm diantara semua isolat adalah sebagai berikut: *pelF* (70,5%), *pslD* (36,6%), *Ppgl* (0%), *PAPI-1* (77,6%) dan *algD* (78,6%).

D. Gen *algD*

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* mensintesis eksopolisakarida yang disebut *alginate* (*algD*). *Alginate* merupakan lapisan eksopolisakarida berlendir yang mengelilingi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang dapat memfasilitasi kolonisasi bakteri dan memiliki peran dalam perlindungan sel-sel yang menginfeksi dari pertahan kekebalan inang dan terapi antibiotik. Transkripsi gen biosintetik alginate diinduksi oleh perekatan substrat dan

mengarah pada peningkatan produksi *alginate* pada permukaan biofilm (Shafira dkk, 2022).

Alginat adalah polimer yang meliputi asam α -L-guluronat dan asam β -D-mannuronat dan memiliki peran penting dalam perlindungan dan stabilitas struktural biofilm. Sebagian besar gen penghasil *alginat* terletak pada operon besar. Gen pertama dalam operon ini adalah *algD* , yang diperlukan untuk produksi *alginat*, dan ekspresinya sepenuhnya dikendalikan (Rajabi *et al*., 2022).

Gen *algD* mengkode GDP *mannose dehydrogenase*, suatu enzim penting dari jalur biosintetik *alginate* dan polimer yang mewakili mekanisme perlindungan penting bagi bakteri. Gen *algD* bertanggung jawab untuk sintesis *polisakarida alginate* kapsul dan faktor virulensi dalam kasus *cystic fibriosis*. Gen *algD* memiliki peran dalam adhesi bakteri dan resistensi terhadap antibiotik dan melindungi dari proses dehidrasi, bekerja sebagai kapsul menghangatkan bakteri dalam proses fagositosis dalam jaringan dan mengurangi efektivitas respon imun.. Transkripsi gen biosintetik *alginate* diinduksi oleh perekatan substrat dan mengarah pada peningkatan produksi *alginate* pada permukaan biofilm (Shafira dkk, 2022).

Biofilm merupakan polisakarida ekstraseluler yang melumpuhkan bakteri di dalamnya , sehingga melindunginya dari antimikroba. Penghentian antibiotik menyebabkan bakteri dalam biofilm tumbuh dan berkembang biak, sehingga menyebabkan kembalinya penyakit. Biofilm bertindak sebagai penghalang pelindung dan agen adhesi bagi bakteri (Issazadeh *et al*., 2023).

E. Tinjauan Umum *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

1. Definisi Polymerase Chain Reaction (PCR)

PCR dikembangkan pada tahun 1984 oleh seorang biokimiawan bernama Kary Mullis. PCR atau reaksi berantai polimerase adalah suatu metode enzimatis dalam bidang biologi molekuler yang bertujuan untuk melipat gandakan secara eksponensial suatu sekuen nukleotida tertentu dengan jumlah kelipatan ribuan hingga jutaan salinan secara in vitro. Ketika awal perkembangannya, metode ini hanya digunakan sebagai metode untuk melipat gandakan DNA. Kemudian, metode ini dikembangkan untuk melipat gandakan dan melakukan kuantitasi molekul mRNA (Feranisa, 2016).

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah suatu teknik sintesis dan amplifikasi DNA. Teknik PCR dapat digunakan untuk mengamplifikasi segmen DNA dalam jumlah jutaan kali hanya dalam beberapa jam. Sebelum dilakukan PCR dengan sampel penelitian, perlu dilakukan optimasi agar didapatkan komposisi dan kondisi PCR yang sesuai sehingga mendapatkan hasil PCR yang optimal (Setyawati & Zubaidah, 2021).

PCR adalah teknik sintesis dan amplifikasi DNA in vitro yang terdiri dari beberapa tahap berulang (siklus) dan jumlah target berlipat ganda untai DNA di setiap siklus. Ada beberapa tahap proses PCR yaitu: Pra-denaturasi DNA templat, denaturasi DNA templat , penempelan primer pada templat (*annealing*), pemanjangan primer (*extension*) dan pemantapan (*post- extension*) (Siallagan dkk, 2022).

2. Prinsip *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Prinsip kerja PCR didasarkan pada kemampuan enzim DNA polimerase untuk mensintesis untai DNA baru yang merupakan komplementer dari DNA cetakan (Purwakasih & Achyar, 2021).

Prinsip dari teknik PCR adalah memperbanyak bagian spesifik dengan enzim DNA polimerase yang diinisiasi oleh pelekatan primer dengan menghubungkan deoksiribonukleotida trifosfat (dNTP) dalam reaksi termal (Yustinadewi dkk, 2018).

3. Tahapan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Menurut Feranisa (2016), ada tiga tahapan penting dalam proses PCR yang selalu terulang dalam 30 – 40 siklus dan berlangsung dengan cepat :

a. *Denaturasi* (Pemisahan DNA)

Tahap denaturasi merupakan tahapan pemisahan kedua untai DNA pada temperatur tinggi. DNA akan terdenaturasi pada temperatur 90 hingga 97ºC. Pada teknik PCR, denaturasi optimum terjadi pada temperatur 95ºC selama 30 detik.

b. *Annealing* (Penempelan Primer)

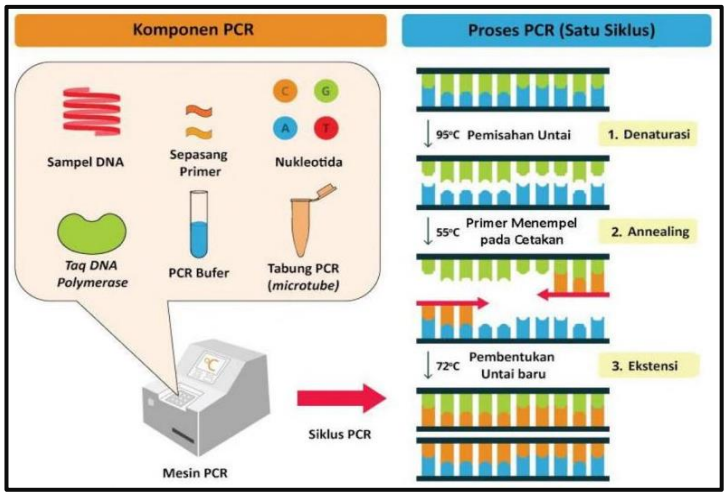
Tahap *annealing* yaitu tahap penempelan primer pada pita DNA yang sesuai, pada suhu 55ºC hingga 60ºC selama 30 detik.

c. *Extention* (Pemanjangan Primer)

Tahap *extention* oleh enzim DNA polimerase pada suhu 72ºC dalam waktu yang disesuaikan dengan panjang atau pendeknya ukuran DNA yang diharapkan sebagai produk amplifikasi. Umumnya, waktu yang digunakan untuk *extention* DNA pada PCR yaitu 2 - 3 menit.

4. Komponen – Komponen *Polymerase Chain Reaction* (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 (MgCl2) dan enzim polimerase DNA. Primer mempengaruhi spesifitas dan sensitivitas reaksi PCR. Rancangan suatu 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 3' yang diperlukan untuk proses eksistensi DNA (Yustinadewi dkk, 2018).



Gambar 2.5 Komponen dan Tahapan PCR (Kusnadi & Ayumingtyas, 2020)

F. Elektroforesis

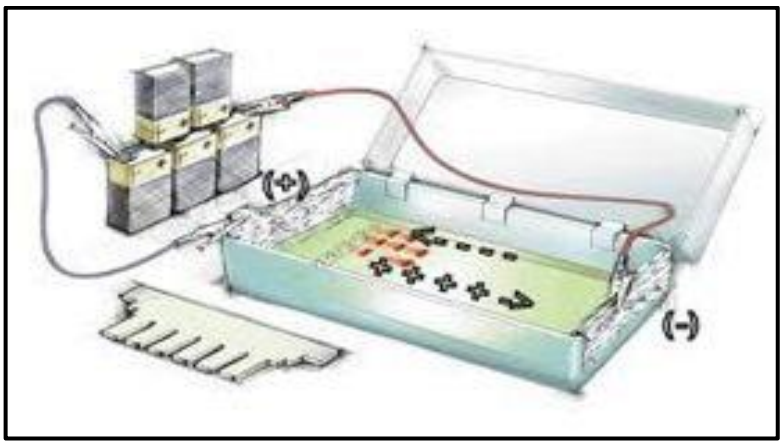
Elektroforesis merupakan suatu metode pemisahan yang memanfaatkan medan listrik yang dihasilkan dari elektroda-elektroda untuk memisahkan senyawa-senyawa yang memiliki muatan berupa kation ataupun anion.

Memiliki perbedaan yang cukup jelas dengan sel elektrokimia, elektroforesis memanfaatkan medan listrik (Harahap, 2018).

Elektroforesis DNA gel merupakan sebuah metode untuk memisahkan molekul DNA berdasarkan ukurannya. Proses interpretasi gambar DNA sendiri secara manual untuk mendapatkan hasil yang akurat sangat susah, membutuhkan waktu, dan kemungkinan eror cukup besar. Hal ini bisa disebabkan kompleksitas pergerakan molekul DNA itu sendiri. Molekul yang bergerak dalam DNA akan berhenti pada jarak migrasi tertentu tergantung pada muatan, bentuk, dan ukurannya. Sehingga, kecocokan suatu DNA dapat dianalisa berdasarkan hasil elektroforesis DNA tersebut. Salah satu standar bahan yang digunakan dalam elektroforesis DNA yaitu gel agarosa (Anam dkk, 2021).

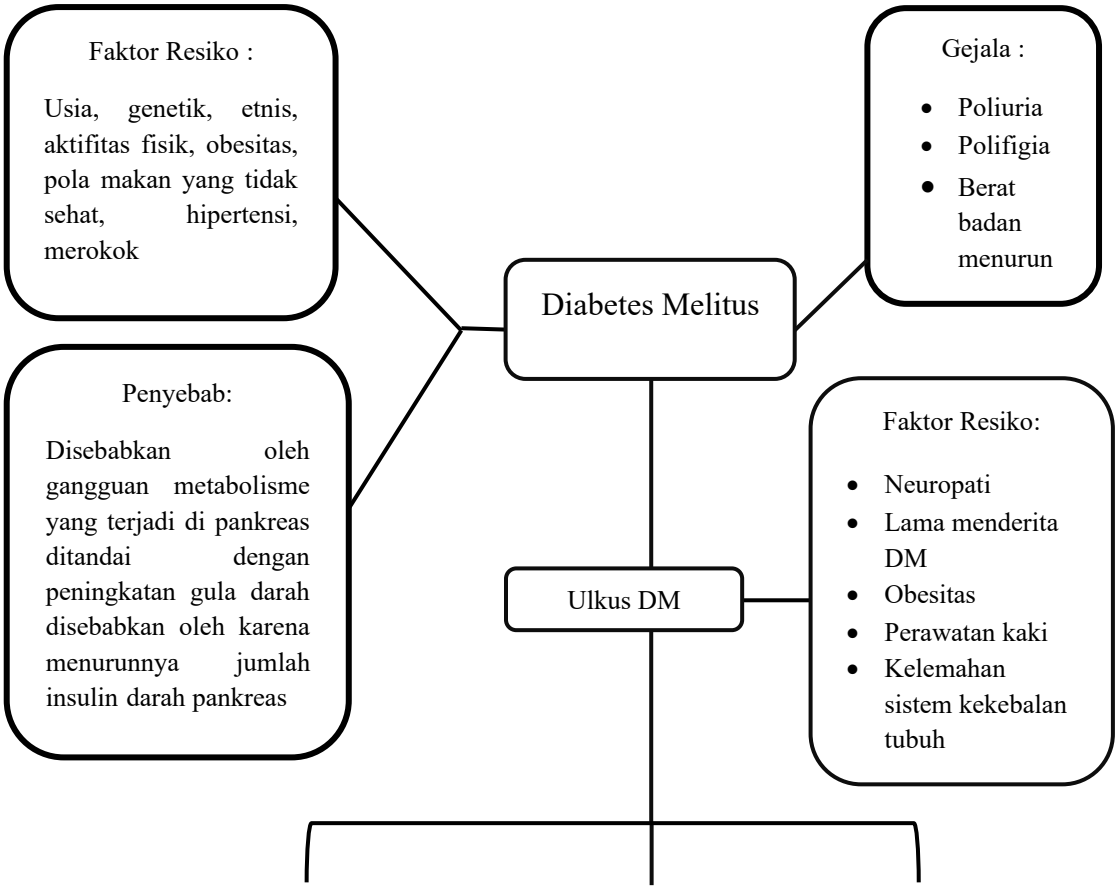
Elektroforesis terdiri dari beberapa komponen utama dalam penggunaanya. Yang pertama adalah larutan elektrolit yang berfungsi sebagai pembawa komponen. Umumnya berupa larutan *buffer* dengan pH tertentu sesuai dengan karakteristik senyawa yang akan dipisahkan. Berikutnya media pemisah merupakan tempat proses pemisahan terjadi. Media pemisah ini berupa kertas (selulosa asetat, selulosa nitrat), gel kanji, gel polikrilamid, busa poliuretan atau agar-agar. Selanjutnya yang paling penting adalah elektroda yang berfungsi sebagai penghubung arus listrik dengan media pemisah dan baterai atau arus listrik sebagai sumber energi (*source*) pada rangkaian alat (Harahap, 2018).

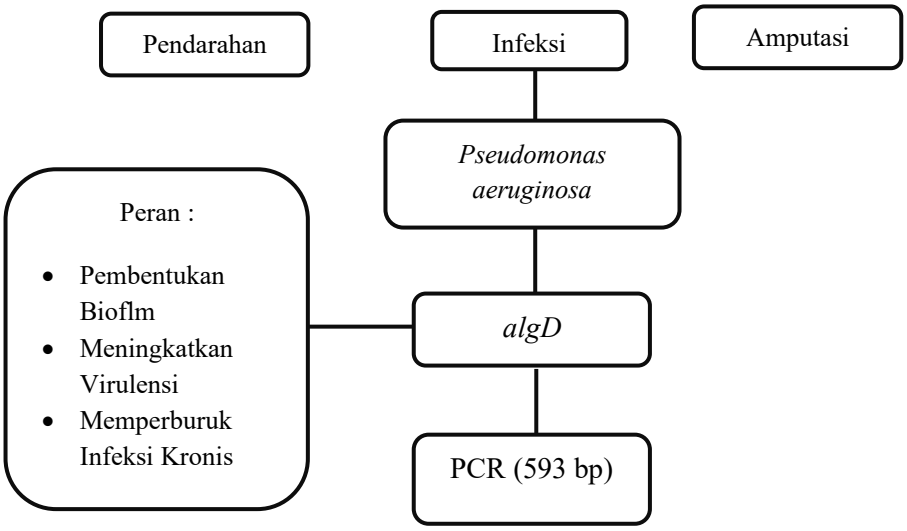
Keberhasilan dari teknik elektroforesis dipengaruhi pemilihan medium pemisahnya. Ada dua medium yang sering digunakan dalam menggunakan elektroforesis. Yang pertama gel Agarosa. Merupakan metode standar untuk mengidentifikasi serta memurnikan fragmen-fragmen *Deoxyribo Nucleic Acid* (DNA) dan *Ribose Nucleic Acid*. Senyawaan tersebut merupakan pembawa genetika pada makhluk hidup-dilakukan pada medan listrik horizontal. Kelebihan dari gel ini lebih mudah, sederhana dan laju pemisahannya lebih cepat membentuk fragmen - fragmen dan tidak bersifat toksik. Hanya saja kelemahannya gel ini memiliki sensitifitas tinggi dan mudah rusak sehingga memerlukan ketelitian dan kehati-hatian pada proses pengerjaannya. Yang kedua gel poliakrilamida. Gel ini memiliki memiliki resolusi tinggi pada hasil pemisahannya. Membutuhkan tegangan listrik yang tinggi pada pengerjaannya dan dilakukan pada medan listrik vertical. Persiapan pengerjaan membutuhkan waktu relatif lama, mahal dan memiliki laju pemisahan yang lebih lambat dibandingkan gel Agarosa (Harahap, 2018).



Gambar 2.6 Rangkaian Alat Elektroforesis (Harahap, 2018).

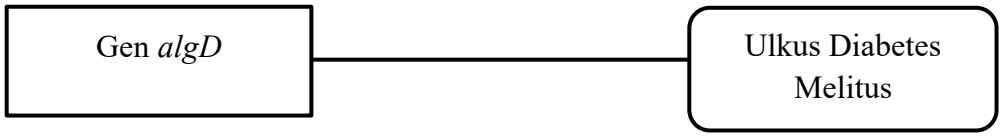
G. Kerangka Teori





Gambar 2.7 Kerangka Teori

H. Kerangka Konsep



Keterangan :

: Variabel Independen

: Variabel Dependen

Gambar 2.8 Kerangka Konsep

I. Definisi Operasional

1. Diabetes melitus adalah gangguan metabolik yang ditandai dengan kadar gula darah yang tinggi akibat ketidakmampuan tubuh dalam memproduksi atau merespons insulin secara efektif. Penyakit ini terbagi menjadi dua

jenis yaitu DM tipe 1yang disebabkan oleh kerusakan sel penghasil insulin, dan DM tipe 2, yang disebabkan oleh resistensi insulin.

2. Ulkus diabetes melitus adalah luka terbuka pada kulit atau jaringan tubuh yang terjadi akibat gangguan peredaran darah, kerusakan saraf pada penderita dan infeksi bakteri.
3. *Pseudomonas aeruginosa* adalah bakteri gram negatif yang bersifat oportunistik dan dapat menyebabkan infeksi pada ulkus diabetes melitus.
4. Gen *algD* adalah gen yang ditemukan pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan bertanggung jawab untuk produksi *alginate***,** suatu polisakarida yang digunakan oleh bakteri untuk membentuk biofilm serta menghambat penyebuhan luka pada ulkus diabetes melitus.
5. *Polymerase Chain Reaction* (PCR) adalah suatu metode enzimatis untuk amplifikasi DNA atau perbanyakan DNA dengan cara in vitro.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah observasi laboratorium untuk mendeteksi keberadaan gen *Alginate* (*algD*) pada *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan metode PCR. Desain penelitian ini menggunakan pendekatan *cross sectional study* yaitu, dimana observasi dan analisis data dari seluruh populasi sampel yang diteliti dilakukan dalam satu waktu yang sama.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi Penelitian

   Pengambilan sampel dilakukan di beberapa instansi kesehatan yang berada di Makassar Sulawesi Selatan. Penelitian dilakukan di laboratorium Hasanuddin *University Medical-Research Center* (HUM-RC) Makassar.

2. Waktu Penelitian

   Penelitian ini telah dilaksanakan pada 24 April – 17 Mei 2025

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

   Populasi sampel dalam penelitian ini adalah pasien diabetes melitus di klinik Medis Rumah Perawatan Luka ETN *Center* Makassar, Klinik Isam Cahaya *Holistic Care* BTP Makassar dan klinik Rumat (Aeropala, Antang dan Mamajang) yang memiliki komplikasi yaitu adanya ulkus diabetikum serta memenuhi kriteria penelitian.

2. Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel swab ulkus pada penderita diabetes melitus yang diambil berdasarkan total sampling yang sesuai dengan kriteria inklusi.

3. Teknik Pengumpulan Sampel

Pengumpulan sampel dilakukan dengan teknik *Purposive sampling*. *Purposive sampling* merupakan metode yang digunakan untuk memilih sekelompok subjek berdasarkan ciri-ciri tertentu yang berkaitan dengan ciri-ciri populasi yang sudah diketahui sebelumnya. Adapun sampel yang digunakan sebanyak 14 sampel.

D. Kriteria Sampel

Adapun kriteria sampel pada penelitian ini yaitu :

1. Kriteria Inklusi
   a. Pasien diabetes melitus yang mengalami ulkus
   b. Ulkus yang bernanah
2. Kriteria Ekslusi
   a. Pasien yang memiliki riwayat hipertensi
   b. Ulkus yang sudah kering

E. Alat dan Bahan

Adapun alat yang digunakan pada penelitian ini adaah neraca analitik, mikropipet, mikrosentrifus, vortex, *microwave*,freezer, kulkas, gelas ukur, coolbox, rak tabung eppendorf, UV Gel dock, tangki larutan penyangga elektroda, botol scott, ice pack, chamber elektroforesis, sisir cetakan, cetakan gel agarose, *geldoc transluminator*, alat PCR, *laminar air flow*.

Adapun bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu sampel swab ulkus, kit ekstraksi (GENEID), etanol 96%, bubuk gel *agarose moleculer grade*, Ethidium Bromida (EtBr), loading dye, larutan *buffer Tris Borate EDTA* (TBE), marker DNA, DNA leader, filter tip, tabung mikrosentrifus 1,5 ml, tabung eppendorf, tabung spin column, *Phospate Buffered Saline* (PBS), aquadest, *flocked swab* dan primer gen *algD* Forward (5'CTACATCGAGAC CGTCTGCC-3') Reverse ('5-GCATCAACGAACCGAGCATC3') dengan target 593 bp (Rajabi *et al*., 2022).

F. Prosedur Kerja

1. Pengumpulan Sampel

   Peneliti melakukan pengambilan swab steril pada ulkus kemudian dimasukkan hasil swab ulkus ke dalam tabung eppendorf yang berisi larutan *Phospate Buffered Saline* (PBS) pH 7.0 sebanyak 500 µl, lalu ditutup tabung dan diberi label kode nama pasien. Setelah semua sampel terkumpul selanjutnya hasil swab ulkus dibawa ke laboratorium menggunakan coolbox untuk dilakukan ekstraksi.

2. Deteksi Gen *Alginate* (*algD*) pada *Pseudomonas aeruginosa*

   a. Ekstraksi DNA

      Sampel swab ulkus diekstraksi sesuai protocol DNA kit. Dalam proses ekstraksi DNA tahapan yang pertama yang dilakukan yaitu pelisisan sel, dimana dipipet sebanyak 200 µl sampel dimasukkan kedalam tabung mikrosentrifus 1,5 ml steril lalu ditambahkan 20 µl *Proteinase K* lalu vortex selama 10 detik kemudian diinkubasi pada 60ºC selama 5 menit. Selanjutnya tambahkan 200 µl *buffer* GSB lalu

vortex kemudian diinkubasi kembali pada pada suhu 60ºC selama 2 menit. Tahapan yang kedua yaitu pengikatan DNA (DNA binding) , ditambahkan *ethanol* absolut sebanyak 200 µl dan vortex selama 10 detik. Selanjutnya dipindahkan semua campuran tersebut ke dalam tube spin column lalu sentrifugasi selama 1 menit pada kecepatan 14.000 rpm kemudian buang collection tube yang berada dibawah spin column lalu di ganti collection tube yang baru. Tahapan yang ketiga yaitu pencucian (*washing*), dilakukan dengan menambahkan 400 µl W1 buffer ke dalam tube lalu sentrifus selama 30 detik dengan kecepatn 14.000 rpm, lalu buang cairan sisa yang berada pada collection tube, kemudian ditambahkan 600 µl *wash buffer* lalu sentrifus kembali selam 30 detik dengan keceptan 14.000 rpm lalu buang cairan pada collection tube dan sentrifus kembali selama 3 menit pada kecepatan 14.000 rpm. Tahapan yang terakhir yaitu elution, dibuang collection tube dan letakkan mikrosentrifuge (1,5 ml) steril pada bagian bawah spin column, lalu dimasukkan *elution buffer* sebanyak 100 µl kemudian diamkan selama 3 menit lalu sentifuge selama 30 detik dengan kecepatan 14.000 rpm. Hasil ekstraksi disimpan pada lemari es dengan suhu -4ºC untuk digunakan sebagai template PCR (SOP.Hum-Rc.,2024).

b. Amplifikasi PCR

1) Membuat Mix PCR

Enzim Taq Polymerase :	6,5 µl x 20	= 130 µl
Primer F :	0,5 µl x 20	= 10 µl
Primer R :	0,5 µl x 20	= 10 µl
Nuclease Free Water :	2,5 µl x 20	= 50 µl
Template DNA :	5 µl	
Total :	15 µl	200 µl

Setelah dilakukan perhitungan dipipet enzim *Taq Polymerase* sebanyak 130 µl kedalam tabung mikrosentrifus 1,5 ml kemudian ditambahkan primer gen *algD*Forward (5'CTACATCGAGACCGTC TGCC-3') Reverse ('5-GCATCAACGAACCGAGCATC3') (Rajabi *et al*., 2022) masing – masing sebanyak 10 µl dan yang terakhir ditambahkan *Nuklease Free Water* sebanyak 50 µl kemudian divortex selama 5 detik lalu dipipet Mix PCR masing-masing 10 µl ke dalam tabung PCR kemudian ditambahkan masing-masing 5 µl template DNA hasil ekstraksi kedalam tabung PCR kemudian di spin down.

2) Amplifikasi DNA dengan PCR

Selanjutnya, dimasukkan tabung - tabung yang berisi sampel kedalam alat PCR *Thermocycler*. Proses reaksi PCR terdiri dari tahap *predenaturasi* 94ºC selama 5 menit yang diikuti oleh tahap *denaturasi* 94 ºC selama 30 detik, tahap *anneling* 58ºC selama 30 detik dan tahap *ekstension* 72ºC selama 45 detik dan yang terakhir tahap *post*

ekstension pada suhu 72ºC selama 7 menit. Proses PCR dilakukan secara berulang selama 35 siklus (SOP.Hum-Rc.,2024).

c. Elektroforesis

Hasil amplifikasi kemudian di elektroforesis dengan gel agarose 2% yang dibuat dari 1,5 gram bubuk agarose lalu dicampur 100 ml TBE (*Tris Borate EDTA*) lalu homogenkan dan setelah itu dipanaskan dengan microwave selama 2 menit dengan suhu 100ºC kemudian keluarkan dari microwave, lalu diamkan hingga panasnya sekitar 60ºC dan dipipet Etidium Bromida (EtBr) sebanyak 5 µl dan homogenkan lalu dituang ke dalam pencetak gel yang telah dipasangkan sisiran dan tunggu hingga mengeras. Masukkan gel agarose ke dalam *chamber elektroforesis* lalu ditambahkan larutan buffer TBE ke dalam chamber sampai tanda batas maksimal dan pipet masing-masing sampel DNA sebanyak 10 µl ke dalam sumur kedua sampai sumur keempatbelas lalu pipet control positif pada sumur ke satu dan kelimabelas sedangkan kontrol negative pada sumur berikutnya dan terakhir dipipet 5 µl, ladder marker ke dalam sumur terakhir. Kemudian tutup *chamber* elektroforesis dan atur arus listrik 400 volt selama 100 menit dengan kuat arus 100 mA. Lalu tekan "RUN". Setelah proses elektroforesis selesai gel diangkat kemudian dibaca dengan alat visualisasi Bio-Rad *Geldoc UV-Transilluminator*. (SOP.Hum-Rc.,2024).

G. Analisis Data

Data dari hasil uji laboratorium ini akan disajikan dalam bentuk tabel dan gambar menggunakan pendekatan secara deskriptif.

H. Etika Penelitian

Pada penelitian ini menggunakan manusia sebagai subjek sehingga dalam pelaksanaannya tidak boleh bertentangan dengan etika penelitian.

1. *Informed Consent*

   Lembar persetujuan disampaikan kepada calon responden, penelitian menjelaskan maksud dan tujuan peneliti, apabilah bersedia menjadi responden, maka peneliti memohon kesedian untuk menandatangani lembar persetujuan. Bila calon responden tidak bersedia, peneliti tidak boleh melaksanakan dan harus menghormati calon rasponden.

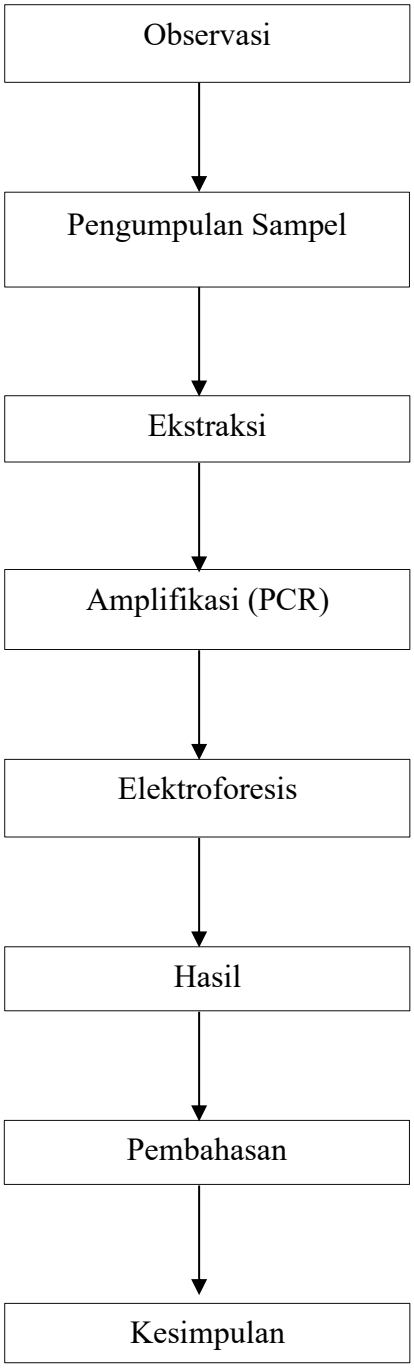
2. *Anonimity*

   Untuk menjaga kerahasiaan peneliti tidak akan mencantumkan nama responden tetapi lembar tersebut diberi kode.

3. *Confidentiality*

   Kerahasiaan informasi responden dijamin oleh peneliti dan hanya kelompok data tertentu akan dilapor sebagai hasil peneliti.

I. Alur Penelitian



Gambar 3.1. Alur Penelitian

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

A. HASIL

Penelitian ini telah dilakukan untuk mengidentikasi gen *Alginate* (*algD*) pada *Pseudomanas aeruginos* dari sampel swab ulkus penderita diabetes melitus pada tanggal 24 April – 17 Mei 2025 yang melakukan perawatan luka di klinik Medis Rumah Perawatan Luka ETN *Center* Makassar, Klinik Isam Cahaya *Holistic Care* BTP Makassar dan klinik Rumat (Aeropala, Antang dan Mamajang) sebanyak 14 sampel dengan karakteristik sampel pada penelitian ini dapat dilihat pada tabel. Sampel yang telah didapat dibawah ke laboratorium *Hasanuddin University Medical-Research Center* (HUM-RC) Makassar menggunakan *coolbox*.

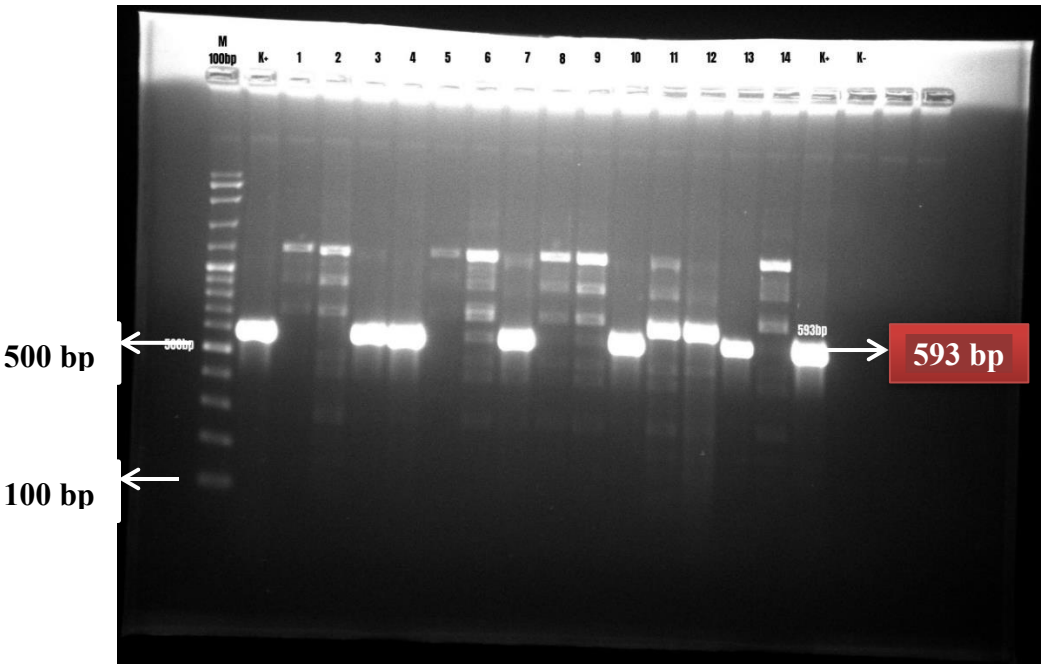
Adapun karakteristik subjek penelitian dalam penelitian ini dapat dilihat pada tabel.

Tabel 1. Distribusi Karakteristik Subjek Penelitian

Karakteristik	Responden	Presentase (%)
Jenis Kelamin		
Laki – Laki	8	57%
Perempuan	6	43%
Usia		
45 - 60 Tahun	10	71%
61 - 75 Tahun	4	29%
Lama Menderita DM		
1 - 5 Tahun	6	43%
6 - 10 Tahun	8	57%
Lama Menderita Ulkus		
≥ 1 Bulan	14	100%
≤ 1 Bulan	0	0%
Total	14	100%

Sumber : Data Penelitian

Pada penelitian ini berdasarkan tabel karakteristik subjek penelitian bahwa jenis kelamin menunjukkan bahwa total responden sebanyak 14 sampel menjadi subjek penelitian yang terdiri dari laki – laki sebanyak 8 orang (57%) dan perempuan sebanyak 6 orang (43%). Berdasarkan usia responden menunjukkan bahwa usia 45 – 60 tahun sebanyak 10 orang (71%) dan usia 61 – 75 tahun sebanyak 4 orang (29%). Berdasarkan lama menderita diabetes melitus menunjukkan bahwa penderita 1- 5 tahun sebanyak 6 orang (43%) dan penderita 6 – 10 tahun sebanyak 8 orang (57%). Berdasarkan lama menderita ulkus menunjukkan bahwa responden yang mengalami ulkus ≥ 1 bulan sebanyak 14 responden (100%).



Gambar 4.1. Hasil Visualisasi Elektroforesis Produk PCR Menggunakan Geldoc Pada Sampel Ulkus Diabetes

Keterangan:M = Marker
1 – 14 = Kode Sampel
K + = Kontrol Positif
K - = Kontrol Negatif
593 = Gen Target

Tabel 2. Hasil Elektroforesis

Hasil Elektroforesis	Jumlah	Presentase (%)	Keterangan
Positif	5	36%	Terbentuk pita DNA pada target 593 bp
Negatif	9	64%	tidak terbentuk pita DNA pada target 593 bp
Total	14	100%	

Sumber : Data Penelitian

Berdasarkan gambar hasil elektroforesis yang telah divisualisasikan dengan *Geldoc UV Transiluminator*, menunjukkan bahwa dari 14 sampel ulkus diabetes melitus yang telah diperiksa dalam penelitian ini terdeteksi (+) adanya gen *Alginate* (*algD*) *Pseudomonas aeruginosa* yaitu 5 (36%) sampel positif dengan ukuran 593 bp sedangkan untuk sampel yang tidak terdeteksi (-) gen *Alginate* (*algD*) *Pseudomonas aeruginosa* yaitu 9 (64%) sampel yang negatif.

B. Pembahasan

Penelitian ini telah dilaksanakan di *Hasanuddin University Medical-Research Center* (HUM-RC) pada bulan Mei 2025. Lokasi pengambilan sampel dilakukan di klinik Medis Rumah Perawatan Luka ETN *Center* Makassar, Klinik Isam Cahaya *Holistic Care* BTP Makassar dan klinik Rumat (Aeropala, Antang dan Mamajang).

Berdasarkan tabel 1. tentang karakteristik subjek penelitian bahwa jenis kelamin menunjukkan total responden sebanyak 14 sampel. Dimana dapat dillihat pada responden penelitian ini didominasi oleh jenis kelamin laki – laki sebanyak 8 orang (57%) dan perempuan sebanyak 6 orang (43%). Berdasarkan usia responden menunjukkan bahwa usia 45 – 60 tahun sebanyak 10 orang (71%) dan usia 61 – 75 tahun sebanyak 4 orang (29%). Berdasarkan lama

menderita diabetes melitus menunjukkan bahwa penderita 1- 5 tahun sebanyak 6 orang (43%) dan penderita 6 – 10 tahun sebanyak 8 orang (57%). Berdasarkan lama menderita ulkus menunjukkan bahwa responden yang mengalami ulkus ≥ 1 bulan sebanyak 14 responden (100%).

Menurut Zikransyah dkk (2023) pada penelitiannya mengatakan bahwa Tidak terdapat hubungan bermakna antara jenis kelamin dengan kejadian ulkus diabetikum. Faktor resiko utama yaitu faktor umur, lama menderita diabetes melitus, dan gaya hidup. Hal ini serupa dengan penelitian oleh Maulidta & Restuning (2018) Karakteristik responden menurut umur menunjukkan sebagian besar berumur >45 tahun. Peningkatan umur menyebabkan seseorang beresiko terhadap peningkatan kejadian DM. hal ini sejalan dengan penelitian oleh Nurhayati (2017) mengatakan bahwa persentase usia terbesar ulkus pasien diabetes melitus oleh usia 45-55 tahun yaitu 67% dari keseluruhan responden, karena semakin bertambahnya usia seseorang maka akan terjadi penurunan pada sistem imunitas atau kekebalan tubuh sehingga mengakibatkan terjadinya ulkus yang sulit untuk sembuh. Hal ini juga sesuai dengan Essien *et al* (2022) yang menyatakan bahwa ulkus diabetik yang sering terjadi pada usia > 50 tahun yang disebabkan oleh penurunan fungsi tubuh fisiologis, misalnya penurunan sekresi atau resistensi insulin. Hal ini karena penuaan memiliki hubungan yang erat dengan kejadian resistensi insulin sehingga kemampuan fungsi tubuh terhadap pengendalian glukosa darah yang tinggi kurang. Peningkatan risiko diabetes seiring dengan umur, khususnya pada usia lebih dari 40 tahun, disebabkan karena pada usia tersebut mulai terjadi peningkatan intolenransi

glukosa. Adanya proses penuaan menyebabkan berkurangnya kemampuan sel β pancreas dalam memproduksi insulin (Maulidta & Restuning, 2018).

Gaya hidup masyarakat diperkotaan dengan pola makan yang tinggi lemak, garam, dan gula mengakibatkan masyarakat cenderung mengkonsumsi makanan secara berlebihan. Selain itu pola makan yang serba instan saat ini memang sangat disukai hampir sebagian masyarakat, misalnya gorengan jenis makanan murah meriah dan mudah didapat karena banyak dijual dipinggir jalan, tetapi mengakibatkan tingginya kadar glukosa darah. Oleh karena itu, Mengatur pola makan yang baik dapat mencegah terjadinya peningkatan kadar glukosa serta mencegah terjadinya komplikasi pada DM seperti ulkus kaki diabetikum (Rasyadi & Mulyaningsih, 2024). Hal ini serupa dengan Cahyaningtyas dan Rini (2022) yang menyatakan bahwa orang yang menderita diabetes melitus ≥ 5 tahun berkemungkinan hampir dua kali untuk menderita ulkus dibandingkan dengan orang yang menderita diabetes melitus kurang dari 5 tahun. Jika semakin lama seseorang menderita diabetes melitus maka semakin besar peluang terjadinya hiperglikemia kronik yang pada akhirnya akan menyebabkan komplikasi diabetes mellitus, salah satunya ulkus diabetik.

Sampel yang diperiksa pada penelitian ini sebanyak 14 sampel dimana kriteria sampel yang diambil yaitu pasien diabetes melitus dengan kriteria memiliki pus/nanah dan diambil sebelum luka dicuci. Swab ulkus yang telah diambil dibawa ke HUM-RC menggunakan c*oolbox* kemudian disimpan kedalam freezer dengan suhu - 20ºC setelah semua sampel telah terkumpul selanjutnya dilakukan pemeriksaan molekuler untuk mengidentifikasi gen

Alginate (*algD*) *Pseudomonas aeruginosa* pada ulkus pasien diabetes melitus. Dalam penelitian ini ada beberapa tahapan yang dilakukan yaitu dimulai dari ekstraksi DNA, amplifikasi DNA dengan teknik PCR dan tahapan elektroforesis untuk analisis DNA.

Ekstraksi DNA adalah tahapan penting untuk mendeteksi gen *algD Pseudomonas aeruginosa* pada sampel swab ulkus pasien diabetes melitus. Dalam ekstraksi DNA terjadi pelepasan untaian materi genetik dari inti sel sehingga didapatkan DNA murni. Ekstraksi DNA ini menggunakan metode spin column yang dimana dalam pengoperasiannya membutuhkan gaya sentrifugal atau membutuhkan alat sentrifuge sehingga nantinya didapatkan DNA murni. Terdapat beberapa tahapan dari ekstraksi DNA yaitu tahapan pertama lisis dimana proses pemecahan sel dengan menambahkan *Proteinase K* yang berfungsi untuk menghilangkan komponen – komponen protein dari sampel swab ulkus pasien diabetes melitus dan penambahan *GSB buffer* pada tahap ini bertujuan untuk melisiskan sel atau menghancurkan membran dan dinding sel sehingga inti dalam sel dapat keluar. Kemudian tahapan kedua yaitu binding dimana proses pengikatan DNA sehingga terpisah dari protein dengan menggunakan *ethanol absolut* yang berfungsi untuk mengendapkan protein. Selanjutnya pada tahapan ketiga yaitu washing atau pencucian materi genetik DNA dengan menggunakan *W1 buffer* yang berfungsi untuk menghilangkan komponen-komponen sisa ekstraksi, dan juga menggunakan *Wash buffer* yang bertujuan untuk menghilangkan sisa-sisa dalam spin column. Lalu tahapan terakhir yaitu elution atau pemisahan DNA dari komponen sel lainnya dengan

menambahkan *Elution buffer* yang berfungsi untuk mengikat DNA agar DNA terpisah sempurna.

Setelah dilakukan ekstraksi DNA kemudian tahap selanjutnya dilakukan proses perbanyakan DNA (amplifikasi) menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). PCR adalah teknik sintesis dan amplifikasi DNA in vitro yang terdiri dari beberapa tahap berulang (siklus) dan jumlah target berlipat ganda untai DNA di setiap siklus. Ada beberapa tahap proses PCR yaitu: Pra-denaturasi DNA templat, denaturasi DNA templat , penempelan primer pada templat (*annealing*), pemanjangan primer (*extension*) dan pemantapan (*post- extension*) (Siallagan dkk, 2022).

Setelah proses PCR selesai dilanjutkan ke tahapan elektroforesis. Elektroforesis merupakan suatu metode pemisahan yang memanfaatkan medan listrik yang dihasilkan dari elektroda-elektroda untuk memisahkan senyawa-senyawa yang memiliki muatan berupa kation ataupun anion. Memiliki perbedaan yang cukup jelas dengan sel elektrokimia, elektroforesis memanfaatkan medan listrik (Harahap, 2018). Setelah dielektroforesis, molekul DNA dapat divisualisasikan dibawah sinar UV menggunakan *Geldoc UV Transilluminator* setelah diwarnai dengan pewarna yang sesuai. Dimana perwarnaan DNA yang dipakai pada elektroforesis yaitu pewarna EtBr (Etidium Bromida) karena EtBr akan berflouresensi bila disinari sinar UV.

Berdasarkan gambar hasil elektroforesis yang telah divisualisasikan dengan *Geldoc UV Transilluminator*, (gambar 4.1) menunjukkan bahwa dari 14 sampel swab ulkus diabetes melitus, untuk mendeteksi gen *algD*

Pseudomonas aeruginosa, terdeteksi 5 (36%) positif adanya gen *algD* yaitu terdapat pada kode sampel 3, 4, 7,10 dan 13 sampel positif yang ditandai dengan terbentuknya pita DNA ukuran 593 bp. Sampel yang positif didapatkan dari pasien yang memiliki luka yang terbuka, merah, dan bernanah. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Herdani dkk (2023) menyatakan bahwa luka yang dialami penderita diabetes melitus yang sudah terinfeksi menjadi ulkus diabetikum yang ditandai dengan adanya eksudat atau cairan pada luka sebagai tempat berkembangnya bakteri. Dimana eksudat ini menandakan adanya perkembangan bakteri. Bukti terdapatnya infeksi pada luka kaki diabetik yaitu timbulnya gejala klasik inflamasi seperti kemerahan, panas dilokasi luka, bengkak, nyeri atau perubahan jaringan granulasi, bau yang tidak sedap, serta maserasi. Hal ini sesuai juga dengan penelitian yang dilakukan oleh Risnawati dkk (2018) bahwa diagnosis klinis dari ulkus diabetes berdasarkan adanya purulen atau nanah dari luka, jaringan nekrosis atau jaringan tubuh yang telah mati dan proses penyembuhan luka yang lama.

Adapun 9 (64%) negatif tidak terdeteksi adanya gen *algD* yang ditandai dengan tidak terbentuknya pita DNA ukuran 593 bp. Hal ini dikarenakan ulkus pada pasien diabetes terdapat nanah namun bukan diakibatkan oleh bakteri *Pseudomonas aruginosa*. Hal ini didukung oleh penelitian Zuliana dkk (2023) menyatakan bahwa adanya peradangan, pembusukan (suatu kondisi dimana sel-sel dalam tubuh rusak dan menyebabkan kematian sel dan jaringan tubuh) dan pembentukan abses bernanah yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*.

Infeksi pada luka kaki diabetik sering disebabkan oleh luka yang kronik sehingga penting untuk mengetahui penyebab, mengidentifikasi, dan mengelola infeksi tersebut. Penyembuhan ulkus merupakan hal yang penting untuk dipahami seperti debrindement, pengendalian infeksi, mengontrol kadar gula darah dan mengurangi risiko tekanan pada kaki. Pengendalian yang buruk dapat meningkatkan risiko terjadinya infeksi pada kulit dan kaki sehingga perawatan kaki juga merupakan hal yang penting dalam proses penyembuhan ulkus. Hal yang perlu dilakukan seperti mencuci kaki dan kulit dengan sabun yang lembab, menggunakan air yang hangat untuk menghindari pertumbuhan bakteri (Herdani dkk, 2023).

Keterbatasan yang dialami peneliti pada penelitian ini yaitu salah satunya populasi sampel yang sedikit dikarenakan pasien diabetes yang mengalami ulkus kaki diabetik sangat susah didapatkan dan kebanyakan pasien yang mengalami ulkus kaki diabetik yang sudah parah rata-rata diamputasi.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, peneliti menyarankan agar penelitian ini dapat dikembangkan dengan memperbanyak populasi atau dapat menggunakan sampel luka lain serta dapat menambahkan bakteri atau gen pada penelitian tersebut.

BAB V
PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ditemukan 5 (36%) sampel positif gen *Alginate* (*algD*) dengan ukuran 593 bp pada *Pseudomonas aeruginosa* dari sampel swab ulkus diabetikum pasien diabetes melitus.

B. Saran

Disarankan untuk dilakukan peneliti selanjutnya dapat mengembangkan penelitian ini dengan menggunakan populasi sampel yang lebih besar dan menambahkan gen atau bakteri yang terdapat pada ulkus diabetikum pasien diabetes melitus.

DAFTAR PUSTAKA

Al-Draghi, W. A. H., & Saeed, R. A. A. K. (2020). Synergistic effect of amikacin and ciprofloxacin on PelA and AlgD genes in pseudomonas aeruginosa. *Indian Journal of Forensic Medicine and Toxicology*, *14*(4), 1608–1614. https://doi.org/10.37506/ijfmt.v14i4.11772

Anam, K., Cahyadi, W., Azmi, I., Senjarini, K., & Oktarianti, R. (2021). Analisis Hasil Elektroforesis DNA dengan Image Processing Menggunakan Metode Gaussian Filter. *IJEIS (Indonesian Journal of Electronics and Instrumentation Systems)*, *11*(1), 37. https://doi.org/10.22146/ijeis.58268

Astutisari, I. D. A. E. C., AAA Yuliati Darmini, A. Y. D., & Ida Ayu Putri Wulandari, I. A. P. W. (2022). Hubungan Pola Makan Dan Aktivitas Fisik Dengan Kadar Gula Darah Pada Pasien Diabetes Melitus Tipe 2 Di Puskesmas Manggis I. *Jurnal Riset Kesehatan Nasional*, *6*(2), 79–87. https://doi.org/10.37294/jrkn.v6i2.350

Azahra, F., & Novalina, D. (2021). Literature Review: Uji Sensitivitas Bakteri Patogen Pada Ulkus Pasien Diabetes Mellitus Tipe-2. *Unisa*.

Chatterjee, D., & Sivashanmugam, K. (2024). Insights on MDR Mechanism of Pseudomonas aeruginosa with Emphasis on Diabetic Foot Ulcer in the Indian Subcontinent. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, *18*(2), 837–852. https://doi.org/10.22207/JPAM.18.2.08

Decroli, E. (2019). *Diabetes Melitus Tipe 2*. Fakultas Kedokteran Universitas Andalas.

Delima, A. A. (2022). Pola Bakteri Pada Ulkus Diabetikum Grade Tiga Di Klinik Luka Diabetes *Pendahuluan Metode Hasil dan Pembahasan*. *1*(2), 691–695.

Dessy Hadrianti, Rohni Taufika Sari, Anita Agustina , Zaqyyah Huzaifah, Linda, Saherna, J. (2022). Edukasi Dan Implementasi Perawatan Luka Klien Dengan Diabetes Melitus Di Kota Banjarmasin. *Kreativitas Pengabdian Kepada Masyarakat (PKM)*, *5*(10), 1–12.

Dharmayanti, N. P. D., Darmini, A. A. A. Y., & Dharmapatni, N. W. K. (2024). Tingkat Pengetahuan Penderita Diabetes Melitus Tentang Pencegahan Ulkus Diabetik Melalui Penyuluhan. *Jurnal Abdimas ITEKES Bali*, *3*(2), 70–74. https://doi.org/10.37294/jai.v3i2.511

Feranisa, A. (2016). Komparasi Antara Polymerase Chain Reaction (Pcr) Dan Loopmediated Isothermal Amplification (Lamp) Dalam Diagnosis Molekuler. *ODONTO : Dental Journal*, *3*(2), 145. https://doi.org/10.30659/odj.3.2.145-151

Garousi, M., Monazamitabar, S., Mirazi, H., Farrokhi, Z., Khaledi, A., &

Shakerimoghaddam, A. (2023). Epidemiology of Pseudomonas aeruginosa in diabetic foot infections: a global systematic review and meta-analysis. *Germs*, *13*(4), 362–372. https://doi.org/10.18683/germs.2023.1406

Georgescu, M., Gheorghe, I., Curutiu, C., Lazar, V., Bleotu, C., & Chifiriuc, M. C. (2016). Virulence and resistance features of Pseudomonas aeruginosa strains isolated from chronic leg ulcers. *BMC Infectious Diseases*, *16*(1), 3–9. https://doi.org/10.1186/s12879-016-1396-3

Harahap, M. R. (2018). Elektroforesis: Analisis Elektronika Terhadap Biokimia Genetika. *CIRCUIT: Jurnal Ilmiah Pendidikan Teknik Elektro*, *2*(1), 21–26. https://doi.org/10.22373/crc.v2i1.3248

Hartono, H., & Ediyono, S. (2024). Hubungan Tingkat Pendidikan, Lama Menderita Sakit Dengan Tingkat Pengetahuan 5 Pilar Penatalaksanaan Diabetes Mellitus Di Wilayah Kerja Puskesmas Sungai Durian Kabupaten Kbu Raya Kalimantan Barat. *The Shine Cahaya Dunia S-1 Keperawatan*, *9*(01), 2018–2022. https://doi.org/10.35720/tscs1kep.v9i01.502

Hestiana, D. W. (2017). Faktor-Faktor Yang Berhubungan Dengan Kepatuhan Dalam Pengelolaan Diet Pada Pasien Rawat Jalan Diabetes Mellitus Tipe 2 Di Kota Semarang. *Jurnal of Health Education*, *2*(2), 138–145. https://doi.org/10.1515/labmed-2018-0016

Irham Saif Rasyadi, M. (2024). *Hubungan Gaya Hidup Dengan Risiko Terjadinya Ulkus Kaki Diabetikum Pada Penderita Diabetes Mellitus Di Puskesmas Kartasura*. *2*(4), 17–23.

Irjayanti P, K., Zaenal, S., & Suhartatik. (2022). Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Terjadinya Peningkatan Diabetes Melitus Tipe 2. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa & Penelitian Keperawatan*, *1*(6), 805–813. https://123dok.com/document/yj7xmxdk-faktor-faktor-mempengaruhi-terjadinya-peningkatan-diabetes-melitus-tipe.html

Issazadeh, Y., Farnaghizad, M., Falsafi, S., Mazaheri, H., Ghazi, S., & Behrouzi, A. (2023). The Inhibitory Effects of Lactobacillus Agilis Against Pseudomonas Aeruginosa Biofilm Formation and Evaluation of PpyR (PA2663) and algD Gene Expression. *International Journal of Medical Laboratory*, *10*(1), 23–34. https://doi.org/10.18502/ijml.v10i1.12422

Kurnia andi, Arman, A. R. A. (2024). Faktor Yang Berhubungan Dengan Kejadian Diabetes Melitus Di Puskesmas Tamamaung Kota Makassar. *Window of Public Health Journa*, *5*(4), 480–491.

Lestari, Zulkarnain, Sijid, & Aisyah, S. (2021). Diabetes Melitus: Review Etiologi, Patofisiologi, Gejala, Penyebab, Cara Pemeriksaan, Cara Pengobatan dan Cara Pencegahan. *UIN Alauddin Makassar*, *1*(2), 237–241. http://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/psb

Marzel, R. (2021). Terapi Pada DM Tipe 1. *Jurnal Penelitian Perawat Profesional*, *3*(1), 51–62.

Maulidta K W, D. R. P. (2018). Lama Menderita Ulkus Dengan Distress Dan Depresi Pada Penderita Diabetes Mellitus. *Jurnal Riset Media Keperawatan*, *1*(2), 24–32. https://doi.org/10.51851/jrmk.v1i2.15

Mita Zuliana, N., Suliati, S., & Endarini, L. H. (2023). Identifikasi Bakteri pada Luka Ulkus Pasien Diabetes Mellitus. *JPP (Jurnal Kesehatan Poltekkes Palembang)*, *18*(2), 205–211. https://doi.org/10.36086/jpp.v18i2.1835

Nina rustiana, Pristiyantoro, S. P. (2024). Analisa Tingkat Pengetahuan Masyarakat tentang Penyakit Diabetes Mellitus di RW 004 Kelurahan Pulogebang Kecamatan Cakung Jakarta Timur Nina. *Jurnal Farmasi IKIFA*, *4*(2), 2020–2025.

Oni Astri Herdani, Nurmainah, R. S. (2023). *Evaluation of The Use of Antibiotic Drugs in Outstanding Patients with Diabetes Mellitus with Complications of Diabetic Ulcus in Clinic X Pontianak*. *3*(1), 155–165. https://doi.org/10.37311/ijpe.v3i1.19277

Poornakala Ramu, M. Udayashri, M. Basheer Ahamed, Nithyagomatheswari Subbiah, T. Jeyamurugan, V. Kalaivani , R. Gopinath, T. S. (2022). Evaluation of Antimicrobial Resistance and Characterization of Virulence Factors of Pseudomonas aeruginosa Isolates with Special Reference to Biofilm Formation. *Biomedical and Biotechnology Research Journal*, *6*(1), 1–8. https://doi.org/10.4103/bbrj.bbrj

Pratama, K., Amrullah, S., Pradika, J., & Kim Jiu, C. (2024). Distress pada pasien ulkus kaki diabetik. *Jurnal Keperawatan*, *16*(4), 1247–1254. http://journal.stikeskendal.ac.id/index.php/Keperawatan

Purwakasih, D. B., & Achyar, A. (2021). Desain primer dan PCR In Silico untuk deteksi Shigella sp. pada sampel air minum isi ulang. *Jurnal Serambi Biologi*, *6*(1), 1–6. http://www.ncbi.nlm.nih.gov

Rajabi, H., Salimizand, H., Khodabandehloo, M., Fayyazi, A., & Ramazanzadeh, R. (2022). Prevalence of algD, pslD, pelF, Ppgl, and PAPI-1 Genes Involved in Biofilm Formation in Clinical Pseudomonas aeruginosa Strains. *BioMed Research International*, *2022*, 7. https://doi.org/10.1155/2022/1716087

Risnawati R, Saldy Yusuf, Y. S. (2018). Identifikasi Jenis Bakteri Pada Luka Kaki Diabetik (Lkd) Berdasarkan Lama Menderita Luka. *Jurnal Kesehatan Manarang*, *4*(2).

Scania, A. E., & Ningsih, I. (2023). Pseudomonas Aeruginosa: Permasalahan, Resistensi Antibiotik dan Pemeriksaan Mikrobiologi. *Pratista Patologi*, *8*(3), 139–147. http://www.majalahpratistapatologi.com/p/index.php/journal/article/view/13

Setyawati, R., & Zubaidah, S. (2021). Optimasi Konsentrasi Primer dan Suhu Annealing dalam Mendeteksi Gen Leptin pada Sapi Peranakan Ongole (PO) Menggunakan Polymerase Chain Reaction (PCR). *Indonesian Journal of Laboratory*, *4*(1), 36. https://doi.org/10.22146/ijl.v4i1.65550

Shafira, L. M., Ethica, N. S., & Ernanto, R. A. (2022). Deteksi Pseudomonas aeruginosa Isolat Pus Luka Berbasis Polymerase Chain Reaction Menggunakan Gen algD. *Prosiding Seminar Nasional UNIMUS*, *5*, 795–806.

Siallagan, C. S., Syafi'i, M., Samaullah, M. Y., Susanto, U., Pramudyawardani, E. furry, & Prastika, D. (2022). Visualisasi Gel Akrilamida Sidik Jari DNA 49 Genotipe Padi (Oryza sative L) Menggunakan Marka SSR (Simple Sequence Repeat). *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*, *8*(8), 32–37. https://doi.org/10.5281/zenodo.6605393

Soebagijo Adi Soelistijo, Dharma Lindarto, Eva Decroli, Hikmat Permana, Krishna W Sucipto, Yulianto Kusnadi, Budiman, Robikhul Ikhsan, Laksmi Sasiarini, H. S. (2019). Pengelolaan Dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 Dewasa di Indonesia. In *PB Perkeni*.

Suparwati, Sukarni, I. F. (2022). Identifikasi Bakteri Pada Luka Kaki Diabetes Yang Mengalami Infeksi: Kajian Literatur. *BIMIKI (Berkala Ilmiah Mahasiswa Ilmu Keperawatan Indonesia)*, *10*(1), 35–43. https://doi.org/10.53345/bimiki.v10i1.235

Trisnawati, Rima Berti Anggraini, R. N. (2023). Faktor-Faktor Yang Berhubungan Dengan Terjadinya Ulkus Diabetikum Pada Penderita Diabetes Melitus. *Indonesian Journal of Nursing and Health Sciences*, *4*(2), 85–94.

Widiasari, K. R., Wijaya, I. M. K., & Suputra, P. A. (2021). Diabetes Melitus Tipe 2: Faktor Risiko, Diagnosis, Dan Tatalaksana. *Ganesha Medicine*, *1*(2), 114. https://doi.org/10.23887/gm.v1i2.40006

Wulan, S. S., Saputra, M. K. F., & Marliyana, M. (2024). Perawatan Luka Modern Pada Pasien Diabetes Mellitus. *SWARNA: Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*, *3*(2), 148–152. https://doi.org/10.55681/swarna.v3i2.1181

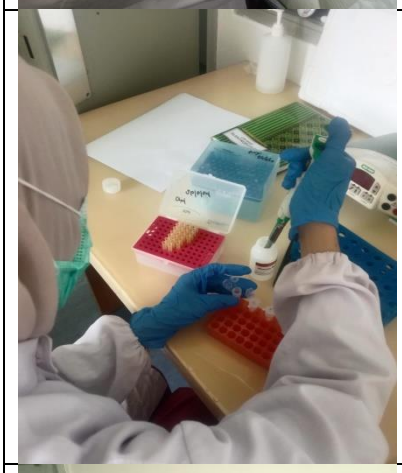
Yanti, A. P., & Hidayat, R. (2023). Analisis Asuhan Keperawatan Luka Kaki Diabetik pada Ny.E Dan Tn.A dengan Penggunaan Zink Krim sebagai Balutan Primer di Wocare Center Bogor. *Jurnal Kreativitas Pengabdian Kepada Masyarakat (PKM)*, *6*(4), 1573–1580. https://doi.org/10.33024/jkpm.v6i4.8804

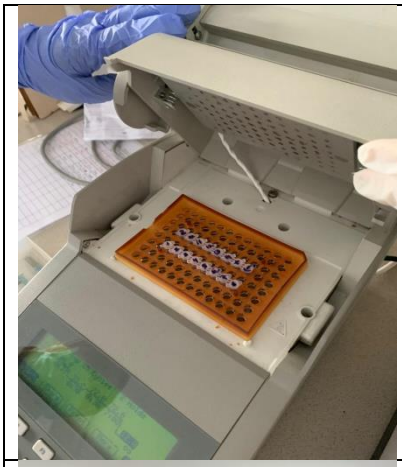
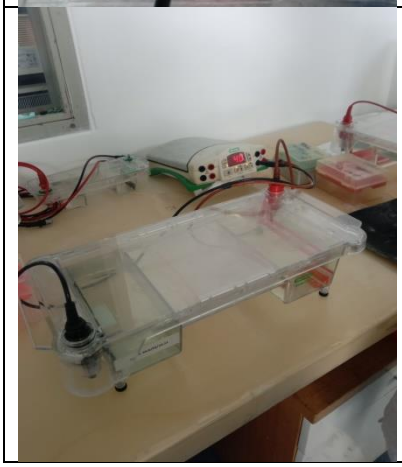
Yustinadewi, P. D., Yustiantara, P. S., & Narayani, I. (2018). Mdr-1 Gene 1199 Variant Primer Design Techniques in Pediatric Patient Buffy Coat Samples With Lla. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, *5*(1), 105. https://doi.org/10.24843/metamorfosa.2018.v05.i01.p16

Zikransyah, T. M. H., Rizal, F., & Mustaqim, M. H. (2023). Hubungan Jenis

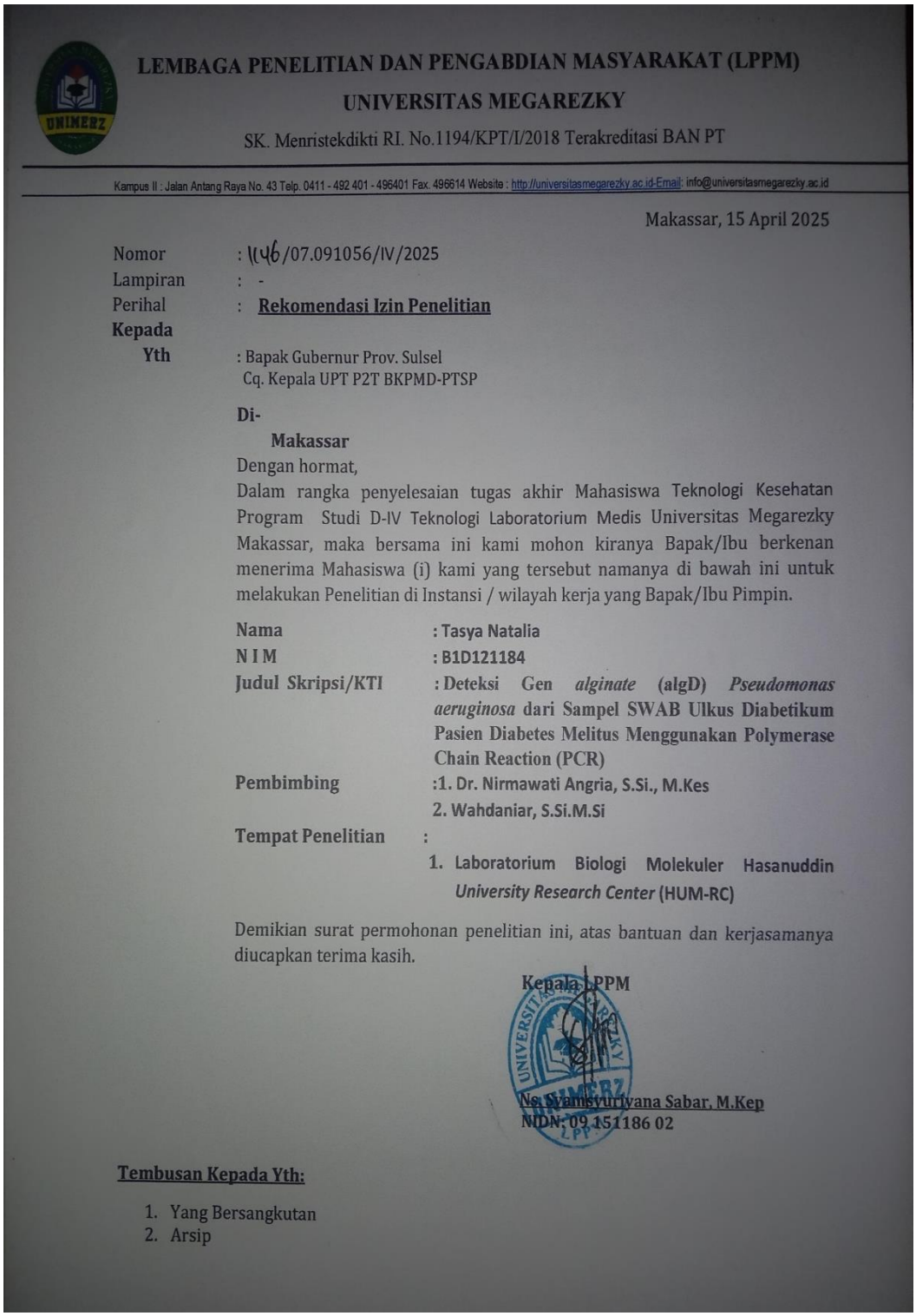
Kelamin dengan Kejadian Ulkus Diabetikum di RSUD Meuraxa Banda Aceh. *Media Kesehatan Masyarakat Indonesia*, *22*(5), 291–295. https://doi.org/10.14710/mkmi.22.5.291-295

DOKUMENTASI PENELITIAN

Gambar	Keterangan
	Pengambilan sampel ulkus diabetes
	Dilakukan ekstraksi DNA
	Melakukan PCR mix

		Amplifikasi menggunakan PCR mix
		Dipipet sampel ke lubang sumuran gel
		Proses elektroforesis

LAMPIRAN – LAMPIRAN



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-Email: info@universitasmegarezky.ac.id

Makassar, 15 April 2025

Nomor : 1146/07.091056/IV/2025
Lampiran : -
Perihal : **Rekomendasi Izin Penelitian**

Kepada Yth : Bapak Gubernur Prov. Sulsel
Cq. Kepala UPT P2T BKPMD-PTSP

Di-
Makassar

Dengan hormat,
Dalam rangka penyelesaian tugas akhir Mahasiswa Teknologi Kesehatan Program Studi D-IV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Megarezky Makassar, maka bersama ini kami mohon kiranya Bapak/Ibu berkenan menerima Mahasiswa (i) kami yang tersebut namanya di bawah ini untuk melakukan Penelitian di Instansi / wilayah kerja yang Bapak/Ibu Pimpin.

Nama	**: Tasya Natalia**
N I M	**: B1D121184**
Judul Skripsi/KTI	**: Deteksi Gen *alginate* (algD) *Pseudomonas aeruginosa* dari Sampel SWAB Ulkus Diabetikum Pasien Diabetes Melitus Menggunakan Polymerase Chain Reaction (PCR)**
Pembimbing	**:1. Dr. Nirmawati Angria, S.Si., M.Kes** **2. Wahdaniar, S.Si.M.Si**
Tempat Penelitian	**:**
	1. Laboratorium Biologi Molekuler Hasanuddin *University Research Center* (HUM-RC)

Demikian surat permohonan penelitian ini, atas bantuan dan kerjasamanya diucapkan terima kasih.

Kepala LPPM

Ns. Syamsyuriyana Sabar, M.Kep
NIDN: 09.151186 02

Tembusan Kepada Yth:

1. Yang Bersangkutan
2. Arsip

LAMPIRAN

LEMBAR PERSETUJUAN MENJADI RESPONDEN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Bapak K

Jenis Kelamin : Laki - laki

Umur : 59 tahun

No. Telpn/HP : -

Alamat : -

Lama Menderita DM : > 5 tahun

Lama Menderita Ulkus : > 1 bulan

Ada Penyakit Lain : -

Konsumsi Antibiotik : -

Setelah mempelajari dan mendapatkan penjelasan yang sejelas-jelasnya mengenai penelitian yang berjudul "Deteksi Gen *Alginate* (*algD*) Pada *Pseudomonas aeruginosa* Dari Sampel Swab Ulkus Diabetikum Pasien Diabetes Melitus Menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)". Dengan ini saya menyatakan bahwa saya bersedia dan sukarela menjadi subjek penelitian pada penelitian ini. Jika sewaktu-waktu ingin berhenti, saya berhak untuk tidak melanjutkan keikutsertaan saya terhadap penelitian ini tanpa adanya sanksi apapun.

Demikian persetujuan ini saya berikan agar dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Makassar, 25 April 2025

Responden

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	: **8531/S.01/PTSP/2025**	**Kepada Yth.**
Lampiran	: -	Direktur HUM-RC RSP Univ. Hasanuddin Makassar
Perihal	: **Izin penelitian**	
		di- **Tempat**

Berdasarkan surat Kepala LPPM Universitas Megarezky, Makassar Nomor : 1146/07.091056/IV/2025 tanggal 15 April 2025 perihal tersebut diatas, mahasiswa/peneliti dibawah ini:

N a m a	: **TASYA NATALIA**
Nomor Pokok	: B1D121184
Program Studi	: D-IV Teknologi Laboratorium Medis
Pekerjaan/Lembaga	: Mahasiswa (D4)
Alamat	: Jl. Antang Raya No. 43, Makassar

dpmptsp
PROVINSI SULAWESI SELATAN

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

" DETEKSI GEN ALGINATE (algD) PADA Pseudomonas aeruginosa DARI SAMPEL SWAB ULKUS DIABETIKUM PASIEN DIABETES MELITUS MENGGUNAKAN POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) "

Yang akan dilaksanakan dari : Tgl. ***30 April s/d 30 Juni 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 30 April 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 Universitas Megarezky, Makassar di Makassar;
2. *Pertinggal.*

Kementerian Kesehatan
Direktorat Jenderal
Sumber Daya Manusia Kesehatan
Politeknik Kesehatan Makassar
Jalan Wijaya Kusuma Raya No. 46 Banta-Bantaeng
Makassar, Sulawesi Selatan 90222
08115566606
https://portal.poltekkes-mks.ac.id

KETERANGAN LAYAK ETIK
DESCRIPTION OF ETHICAL EXEMPTION
"ETHICAL EXEMPTION"
No.: 1007/M/KEPK-PTKMS/V/2025

Protokol penelitian yang diusulkan oleh :
The research protocol proposed by

Peneliti Utama : **Tasya Natalia**
Principal in Investigator

Nama Institusi : **Universitas Megarezky Makassar**
Name of the Institution

Dengan Judul:
Title

"DETEKSI GEN ALGINATE (algD) PADA Pseudomonas aeruginosa DARI SAMPEL SWAB ULKUS DIABETIKUM PASIEN DIABETES MELITUS MENGGUNAKAN POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)"

"DETECTION OF ALGINATE GENE (algD) IN Pseudomonas aeruginosa FROM SWAB SAMPLES OF DIABETIC ULCERS IN DIABETES MELLITUS PATIENTS USING POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)."

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

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

Pernyataan Layak Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 21 Mei 2025 sampai dengan tanggal 21 Mei 2026.

Declaration of ethics applies during the period May 21, 2025 until May 21, 2026.

May 21, 2025
Professor and Chairperson,

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
POLTEKKES MAKASSAR

Hj. Santi Sinala, S.Si, M.Si, Apt
Ketua KEPK Poltekkes Makassar

HUM-RC	ADMINISTRASI	FORMULIR 2
	Nomor : 260/06/FR2/2025	Tanggal : 16 Juni 2025

SURAT KETERANGAN
SELESAI PENGAMBILAN DATA/ ANALISA BAHAN HAYATI

Dengan hormat,

Dengan ini menerangkan bahwa peneliti/mahasiswa berikut ini :

Nama : Tasya Natalia
NIM : B1D121184
Institusi : DIV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Megarezky
Judul Penelitian : **Deteksi Gen Alginate (Algd) Pada Pseudomonas Aeruginosa Dari Sampel Swab Ulkus Diabetikum Pasien Diabetes Melitus Menggunakan Polymerase Chain Reaction (PCR).**

Telah selesai melakukan pengambilan data/ analisa bahan hayati :

Pada tanggal : 12 Juni 2025
Jumlah subjek : ± 15 sampel swab Ulkus
Jenis data : Data Primer

Dengan staf pendamping/pembimbing :

Nama : Muhammad Yusuf Usman, S.Si.
Konsultan : -

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

Demikian surat ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Pendamping/Pembimbing

Muhammad Yusuf Usman, S.Si
NIP

Mengetahui,
Kepala Laboratorium,

HUM-RC
science for a better future

dr. Rusdina Bte Ladju, Ph.D
NIP 198108302012122002