SKRIPSI

DETEKSI GEN *PNEUMOLYSIN* (Ply) *Streptococcus pneumoniae* PADA SPUTUM DENGAN METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR)

Disusun dan Diajukan sebagai salah satu syarat dalam meraih Sarjana Terapan Kesehatan (S.Tr.Kes) Pada Program Studi Diploma Empat (D-IV) Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Teknologi Kesehatan Universitas Megarezky

DIVA PATIUNG

B1D121063

PROGRAM STUDI D-IV TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS

FAKULTAS TEKNOLOGI KESEHATAN

UNIVERSITAS MEGAREZKY

MAKASSAR

2026

HALAMAN JUDUL

SKRIPSI

DETEKSI GEN *PNEUMOLYSIN* (Ply) *Streptococcus pneumoniae* PADA SPUTUM DENGAN METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR)

DETECTION OF THE PNEUMOLYSIN (Ply) Gene of Streptococcus pneumoniae IN SPUTUM USING THE POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) METHOD

Diva Patiung

B1D121063

Dibimbing oleh:

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

Pembimbing I

Dr.Santi, S.Si.,M.Si

Pembimbing II

Zulkifli As, S.Si.,M.Kes

Penguji

PROGRAM STUDI D-IV TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS

FAKULTAS TEKNOLOGI KESEHATAN

UNIVERSITAS MEGAREZKY

MAKASSAR

2026

HALAMAN PENGESAHAN

SKRIPSI

DETEKSI GEN *PNEUMOLYSIN* (Ply) *Streptococcus pneumoniae* PADA SPUTUM DENGAN METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION* (PCR)

Disusun dan diajukan oleh :

DIVA PATIUNG

Nomor Induk Mahasiswa B1D121063

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi

Pada tanggal 23 Juli 2025

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Tim Penguji	**Tanda Tangan**
1. Indas Wari Rahman, S.Si.,M.Kes	(.....)
2. Dr. Santi, S.Si.,M.Si	(.....)
3. A.Zulkifli As, S.Si.,M.Kes	(.....)

Mengetahui,

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

LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN MASYARAKAT (LPPM)

UNIVERSITAS MEGAREZKY

SK. Menristekdikti RI No.1194/KPT/I/2018 Terakreditasi BAN PT

Kampus I : Jalan Antang Raya No 43 Telp. 0411 - 432 401 - 436401 Fax. 436616 Website : http://universitasmegarezky.ac.id/ info@universitasmegarezky.ac.id

KETERANGAN LOLOS UJI TURNITIN

No.[illegible] /T/07.091056/ VII /2025

Yang bertanda tangan di bawah ini,

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

NIDN : 0915118602

Jabatan : Ketua LPPM

Menyatakan bahwa :

Nama : Diva Patiung

NIM : B1D121063

Prodi : DIV Teknologi Laboratorium Medis

Judul Skripsi/KTI : Deteksi Gen *Pneumolysin* (Ply) *Streptococcus Pneumoniae* Pada Pasien Infeksi Saluran Pernapasan Bawah (ISPB) Dengan Metode *Polymerase Chain Reation*

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, 17 juli 2025

Ketua,

Ns. Syamsyuriyana Sabar, M.Kep

NIDN: 09 151186 02

CURRICULUM VITAE



A. Biodata

1. Nama : Diva Patiung
2. Jenis kelamin : Perempuan
3. Tempat tanggal lahir :Palawa, 25 juli 2003
4. Orang tua
   Ayah : Sampe pabalik
   Ibu : Elis patiung
5. Kebangsaan : Indonesia
6. Status : Mahasiswa
7. Tinggi/berat badan : 159/45
8. Agama : Kristen
9. Alamat : Antang
10. No.Hp : 082223825065

B. Riwayat Pendidikan

1. Sekolah dasar : SDN 4 Sesean
2. Sekolah menengah pertama : SMPN 1 Balusu
3. Sekolah menengah atas : SMAN 3 Toraja Utara
4. Perguruan tinggi : Universitas Megarezky Makassar

C. Kesan dan pesan

Selama kuliah, saya mendapatkan banyak pengalaman dan pelajaran berharga Baik dalam bidang akademik maupun kehidupan. Semoga Universitas Megaresky Makassar terus berkembang meningkatkan kualitas pendidikan

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah Subhanahu Wa Ta'ala karena atas rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul: "Deteksi Gen *Pneumolysin* (Ply) *Streptococcus pneumoniae* Pada Sputum Dengan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)"

Penyusunan karya tulis ini merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan Program Sarjana DIV Teknologi Laboratorium Medis pada 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 Ayah Sampe Pabalik dan Ibu Elis Patiung yang senantiasa mendoakan, mendampingi, serta memberikan semangat, kasih sayang, dan dukungan moril maupun materil tanpa henti. Tanpa keikhlasan dan doa dari Ayah dan Ibu, penyusunan Skripsi ini tidak akan pernah terwujud.

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, M.Si** sebagai Dekan Fakultas Teknologi Laboratorium Medis, atas kesempatan dan dukungan yang diberikan selama masa studi.
6. **Ibu Dr. Nirmawati Angria, S.Si., M.Kes** sebagai Ketua Program Studi Program Studi DIV Teknologi Laboratorium Medis, atas bimbingan akademik yang berkelanjutan dan inspiratif.
7. **Dosen Pembimbing I Indas Wari Rahman,S.Si.,M.Kes** yang telah memberikan arahan, saran, dan evaluasi dalam penyusunan Skripsi ini dengan penuh kesabaran dan keikhlasan.
8. **Dosen Pembimbing II Dr Santi, S.Si.,M.Si** yang telah memberikan arahan, saran, dan evaluasi dalam penyusunan Skripsi ini dengan penuh kesabaran dan keikhlasan.

9. **Ibu Arlitha Dekayana, S.Si., M.Kes** sebagai Pembimbing Akademik (PA), atas pendampingan dan bimbingan akademik selama masa studi penulis
10. **Dosen Penguji A.Zulkifli As, S.Si.,M.Kes** yang telah memberikan arahan, saran, dan evaluasi dalam penyusunan Skripsi ini dengan penuh kesabaran dan keikhlasan.
11. **Seluruh Dosen dan Staf Akademik Universitas Megarezky**, atas ilmu, perhatian, dan pelayanan yang diberikan selama proses studi.
12. **Pimpinan Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat Makassar** atas izin, dukungan, dan kerja samanya selama pelaksanaan penelitian.
13. **Teman-teman seperjuangan dan semua pihak** yang turut membantu secara langsung maupun tidak langsung dalam penyusunan karya ilmiah ini.

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 Skripsi ini di masa mendatang.

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

Makassar, 21 Juli 2025

Penulis

MOTTO

Sederas apa pun hujan, pasti akan reda. Begitu juga dengan hidup sebesar apapun masalahmu akan berakhir juga.
Segala perkara dapat ku tanggung di dalam yang memberi kekuatan kepadaku.
-Filipi 4:13

Skripsi ini bukan tentang kekuatan dan kehebatan saya, tapi tentang penyertaan Tuhan yang sempurna."

HALAMAN PERSEMBAHAN

Dengan rasa syukur yang mendalam kepada Tuhan yang maha esa, atas segala rahmat, hidayah, dan kekuatan yang telah diberikan, karya tulis ilmiah ini saya persembahkan kepada:

1. Tuhan, sumber segala ilmu, kekuatan, dan petunjuk dalam setiap langkah hidup saya.
2. Bapak dan Mama tercinta,Sampe Pabalik dan Elis Patiung, atas kasih sayang, doa yang tak pernah putus, serta dukungan yang menjadi pilar utama dalam perjalanan pendidikan saya.
3. Kakak dan Adik saya Remond, Indah dan Celsi Ivana, yang selalu memberikan semangat, motivasi dalam meraih cita-cita.
4. Dan terakhir, untuk diri saya sendiri, yang telah bertahan, berjuang, dan tidak menyerah meskipun melalui banyak rintangan. Terima kasih karena telah terus melangkah hingga titik ini.

ABSTRAK

Diva Patiung, B1D121063. Deteksi Gen *Pneumolysin* (Ply) *Streptococcus pneumoniae* Pada Sputum Dengan Metode *Polymerase Chain Reation*. Dibimbing oleh ibu Indas Wari Rahman dan Santi.

Infeksi saluran pernafasan akut adalah penyakit menular yang terjadi dari saluran pernafasan atas atau bawah. *Streptococcus pneumoniae* (Pneumokokus) adalah bakteri flora normal pada saluran pernapasan atas. Dalam keadaan tertentu, *S. Pneumoniae* dapat menjadi patogen dan menjadi penyebab penyakit yang dapat mengancam jiwa. *Pneumolysin* (*Ply*) merupakan toksin yang sangat multifungsi, yang selain aktivitas hemolitik dan sitolitiknya, dapat menyebabkan piroptosis dan apoptosis, bakteri *S.pneumoniae* dapat diindentifikasi dengan target gen *Ply* menggunakan metode molekuler. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mendeteksi Gen *Ply Streptococcus pneumoniae* pada penderita infeksi saluran pernapasan bawah (ISPB) dengan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Desain penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah penelitian deskriptif. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dari 16 sampel sputum penderita infeksi saluran pernapasan bawah (ISPB) di temukan dua sampel gen ply sebanyak 12,5% terdeteksi *Streptococcus pneumoniae*a pada pasien ISPB dengan metode PCR.

Kata kunci: gen *Ply,* ISPB, PCR, Sputum, *Streptococcus pneumoniae.*

ABSTRACT

Diva Patiung (B1D121063). Detection of the Pneumolysin (Ply) Gene of Streptococcus pneumoniae in Sputum Using the Polymerase Chain Reaction (PCR) Method. Supervised by Indas Wari Rahman and Santi.

Acute respiratory tract infection is a communicable disease that occurs in the upper or lower respiratory tract. Streptococcus pneumoniae (pneumococcus) is a normal flora bacterium in the upper respiratory tract. Under certain conditions, S. pneumoniae can become pathogenic and cause life-threatening diseases. Pneumolysin (Ply) is a highly multifunctional toxin that, in addition to its hemolytic and cytolytic activities, can induce pyroptosis and apoptosis. S. pneumoniae can be identified by targeting the Ply gene using molecular methods. The objective of this study was to detect the Ply gene of Streptococcus pneumoniae in patients with lower respiratory tract infections (LRTIs) using the Polymerase Chain Reaction (PCR) method. The research design used in this study was descriptive. Based on the results obtained from 16 sputum samples of patients with lower respiratory tract infections, two samples (12.5%) tested positive for the Ply gene, indicating the presence of Streptococcus pneumoniae in LRTI patients using the PCR method.

Keywords: Ply gene, LRTI, PCR, Sputum, Streptococcus pneumoniae.

UNIVERSITAS MEGAREZKY
UNIMERZ
LEMBAGA BAHASA

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL ..... **ii**
HALAMAN PERSETUJUAN ..... **iii**
HALAMAN PENGESAHAN ..... **iv**
SURAT KETERANGAN LULUS UJI TURNITIN ..... **v**
CURRICULUM VITAE ..... **v**
KATA PENGANTAR ..... **vi**
MOTTO ..... **ix**
HALAMAN PERSEMBAHAN ..... **xi**
ABSTRAK ..... **xii**
DAFTAR ISI ..... **xiii**
DAFTAR GAMBAR ..... **xv**
DAFTAR TABEL ..... **xvii**
DAFTAR SINGKATAN ..... **xviii**
DAFTAR LAMPIRAN. ..... **xix**

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. Infeksi Saluran Pernapasan Bawah (ISPB) 6
B. Tinjauan umum *Steptococcus pneumoniae* 12
C. Tinjauan Pemeriksaan Laboratorium 20
D. Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) 21
E. Kerangka Teori 33
F. Kerangka konsep 34
G. Defenisi Oprasional 34

BAB III METODE PENELITIAN **35**

A. Desain Penelitian 35
B. Lokasi dan Waktu Penelitian 35
C. Populasi dan sampel 35
D. Kriteria Sampel 36
E. Teknik Pengumpulan Data 36
F. Alat dan Bahan Penelitian 37

G. Interpretasi Hasil 28
H. Analisis Data 41
I. Alur kerja.....42
J. Etika Penelitian 43
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....44
A. Hasil.....44
B. Pembahasan.....47
BAB V PENUTUP.....55
A. Kesimpulan.....55
B. Saran.....55
DAFTAR PUSTAKA.....56
LAMPIRAN.....58

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Hasil Pewarnaan Gram bakteri *Streptococcus pneumoniae* 13
Gambar 2. Gen Ply *Streptococcus pneumoniae* 16
Gambar 3. S*treptococcus pneumoniae* pada media BAP.....18
Gambar 4. Hasil PCR S*treptococcus pneumoniae* 20

DAFTAR TABEL

Tabel 4. 1 Karakteristik penelitian jenis kelamin & usia responden 44
Tabel 4. 2 Hasil pemeriksaan pada sputum ISPB dengan Metode PCR 45
Tabel 4. 3 Persentase Hasil Deteksi Gen PLY dengan metode PCR 47

DAFTAR SINGKATAN

BBKPM	: Balai Besar Kesehatan Paru Makassar
bp	: *Base Pair*
DNA	: *Deoxyribonucleic Acid*
GEL-DOC	: *Gel documentation*
HUM-RC	: *Hasanuddin University Medical Research Center*
Ig A	: *Immunoglobulin A*
ISPB	: Infeksi Saluran Pernapasan Bawah
KEMENKES	: Kementerian Kesehatan
PCR	: *Polymerase Chain Reaction*
PHBS	: Perilaku Hidup Bersih dan Sehat
RDT	: *Rapid Diagnostic Test*
RSV	: *Respiratory Syncytial Virus*
RV	: *Rhinovirus*
Sp	: Spesies
S. *Pneumoniae*	: *Staphylococcus pneumoniae*
TBE	: *Tris Borate EDTA*
WHO	: *World Health Organization*
PLY	: *Pneumolysin*

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Dokumentasi Penelitian 59
Lampiran 2 Rekomendasi Izin Penelitian.....61
Lampiran 3 Surat Ijin Penelitian.....62
Lampiran 4 Surat Keterangan Telah Menyelesaikan Penelitian.....63

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Infeksi saluran pernafasan akut adalah penyakit menular yang terjadi dari saluran pernafasan atas atau bawah yang bisa menimbulkan berbagai macam penyakit yang berkisar dari infeksi ringan sampai dengan infeksi penyakit yang parah dan mematikan, tergantung pada patogen penyebabnya, seperti faktor penjamu dan faktor lingkungan (Riyanto dkk., 2024)

Infeksi pada saluran pernapasan bawah tetap menjadi salah satu isu kesehatan utama. Menurut laporan dari *World Health Organization* (WHO), infeksi ini merupakan penyebab kematian paling umum di dunia. Pneumonia merupakan penyebab kematian menular terbesar pada anak-anak di seluruh dunia. Pneumonia menewaskan 740.180 anak di bawah usia 5 tahun pada tahun 2019, yang merupakan 14% dari semua kematian anak di bawah usia 5 tahun, tetapi 22% dari semua kematian pada anak-anak berusia 1 hingga 5 tahun. *Pneumonia* menyerang anak-anak dan keluarga di mana-mana, tetapi angka kematian tertinggi terjadi di Asia Selatan dan Afrika sub-Sahara (WHO, 2022).

Menurut Kementerian Kesehatan (Kemenkes) Pneumonia masih menjadi masalah utama yang menyebabkan kematian di Indonesia mencapai 14,5% pada tahun 2020. Data Profil Kesehatan Indones ia tahun 2020 juga menunjukkan angka prevalensi Pneumonia pada balita tinggi yaitu 3,55 per 100

balita. Hal ini berarti, 34 dari 100 balita, menderita *Pneumonia* (Kemenkes, 2021).

Menurut data dinas Kesehatan kota Makassar pada tahun 2019, prevalensi kejadian Pneumonia di Kota Makassar ditemukan sebanyak 574 kasus (10,3%) dan yang tertinggi pertama ditemukan di Puskesmas Tamangapa yaitu 112,5% (54 kasus) dan tertinggi kedua di Puskesmas Malimongan Baru yaitu 69,7% (62 kasus), tertinggi ketiga ditemukan di Puskesmas Mamajang yaitu 66,7% (54 kasus) per 1000 Balita prevalensi Pneumonia ditemukan sebanyak 136 kasus pada tahun 2021 dan yang tertinggi pertama di wilayah kerja Puskesmas Malimongan Baru yaitu 40 kasus (44,9%), tertingi kedua di wilayah kerja Puskesmas Bira yaitu 22 kasus (30,6%), dan tertinggi ketiga di wilayah Puskesmas Tamamaung yaitu 19 kasus (9,6%) (Dinkes, 2022).

Pneumonia oleh *pneumokokus* terjadi akibat gagalnya mekanisme protektif yang mencegah akses *pneumokokus* ke alveoli dan bereplikasi. Gejala yang paling umum pada Pneumonia adalah demam, batuk, dan sesak napas. Penyakit Pneumonia adalah infeksi akut yang mengenai jaringan paru-paru (alveoli). Penyakit ini disebabkan oleh virus, bakteri, parasit, jamur. Bakteri yang menjadi penyebab Pneumonia adalah *Streptococcus pneumonia*, *Haemophilus influenza*. *Pneumonia* adalah inflamasi yang mengenai parenkim paru, distal dari bronkiolus terminalis yang mencakup *bronkiolus respiratorius*, alveoli yang disebabkan oleh mikroorganisme seperti virus, bakteri, jamur . Penyebaran penyakit Pneumonia sangat cep at karena penularannya melalui udara (Rohmah dkk., 2022)

Streptococcus pneumoniae (Pneumokokus) adalah bakteri flora normal pada saluran pernapasan atas. Dalam keadaan tertentu, *S. pneumoniae* dapat menjadi patogen dan menjadi penyebab penyakit yang dapat mengancam jiwa. Hal ini terjadi ketika kolonisasi nasofaring terbentuk dan terjadi infeksi pada sel target sehingga menyebabkan *invasive pneumococcal disease* (IPD). *S. pneumoniae* merupakan penyebab utama Pneumonia di masyarakat yang dapat menyebabkan penyakit lain seperti *meningitis, sinusitis, bronkitis, dan otitis* pada anak-anak, orang dewasa dan usia lanjut. *S. pneumoniae* menghasilkan sejumlah faktor virulensi termasuk kapsul polisakarida yang efisien dalam melindungi bakteri dari fagosit, beberapa protein yang terletak di permukaan, dan toksin *pneumolysin*(Hutabarat dkk., 2020).

pneumolysin (*Ply*) merupakan racun yang sangat multifungsi, yang selain aktivitas hemolitik dan sitolitiknya, dapat menyebabkan piroptosis dan apoptosis, mengatur aktivitas komplemen, menginduksi sejumlah efek pensinyalan dan juga berperan dalam transmisi *S. pneumoniae* dari inang ke inang. Karena *Ply* berkontribusi terhadap kelangsungan hidup *S. pneumoniae* sepanjang keberadaannya di dalam inang (yaitu, kolonisasi, infeksi dan penularan), ia merupakan target penting untuk pencegahan infeksi pneumokokus (Maatsola dkk., 2020).

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh (Muthmainnah, dkk., 2020) Infeksi yang ditimbulkan oleh *S. pneumoniae* disebabkan karena adanya interaksi faktor virulensi terhadap sel inang berupa protein hasil sekresi *S. pneumoniae* yang dapat menyebabkan lisis pada sel inang. Mendeteksi bakteri

penyebaran bakteri patogen ini dapat dilakukan secara konvensional dan secara molekular PCR untuk mendeteksi faktor virulensi gen *S. pneumoniae* menggunakan primer yang spesifik untuk gen *ply*. Gen tersebut merupakan gen target virulen bakteri *S. pneumoniae*, dalam metode konvensional dilakukan metode kultur yang merupakan *gold standar* dalam mendeteksi bakteri ini.

Secara molekular PCR mendeteksi target PCR yang banyak digunakan untuk mengidentifikasi *S. pneumoniae* dalam spesimen klinis adalah gen *pneumolysin* (ply). *Pneumolysin* pertama kali digunakan untuk mengidentifikasi *S.pneumoniae* dalam uji aglutinasi dan awalnya dideskripsikan sebagai sangatspesifik. Berdasarkan hal ini dan publikasi lainnya uji berbasis PCR dikembangkan untuk digunakan dengan spesimen klinis. Sejumlah penelitian penyakit pneumokokus menggunakan target *pneumolysin* untuk mendeteksi *S. pneumoniae* dari pasien dengan ISPA telah dipublikasikan, dan menunjukkan sensitivitas dan spesifisitas yang relatif buruk untuk penyakit invasif secara keseluruhan. Selama beberapa tahun terakhir, menjadi jelas bahwa ply dapat dideteksi pada *streptokokus* kelompok Viridans non-pneumokokus, khususnya *S. pneumoniae* dan *S. mitis* (Blaschke, 2020).

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh (Hutabarat dkk., 2020), melakukan penelitian dengan sampel sputum pada penderita Pneumonia dengan menggunakan metode kultur dan PCR. Hasil positif hanya ditemukan pada 9% sampel dengan menggunakan metode kultur sedangkan pada metode PCR menunjukkan hasil positif pada isolat *S.pneumoniae* dari sebanyak 21 isolat dari total 100 sampel (21%) (Hutabarat dkk., 2020).

Berdasarakan uraian tersebut, peneliti melakukan penelitian terkait deteksi gen *pneumolysin* (ply) pada pasien infeksi saluran pernapasan bawah (ISPB) dengan *polymerase chain reaction* (PCR).

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini yaitu, apakah gen *pneumolysin* (Ply) dapat terdeteksi pada pasien infeksi saluran pernapasan bawah (ISPB) dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mendeteksi gen *pneumolysin* (Ply) pada pasien infeksi saluran pernapasan bawah (ISPB) dengan *Polymerase Chain Reaction*.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis

Dapat dijadikan sumber referensi dan sebagai bahan masukan untuk perkembangan ilmu kesehatan, khususnya pada bidang mikologi terkait dengan deteksi gen *pneumolysin* (Ply) pada pasien infeksi saluran pernapasan bawah (ISPB) dengan *Polymerase Chain Reaction.*

2. Manfaat Praktis

Menambah informasi dan pengetahuan yang berhubungan dengan pemeriksaan bakteri *Streptococcus pneumoniae* dengan menggunakan PCR.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Infeksi Saluran Pernapasan Bawah (ISPB)

1. Defenisi Penyakit

Infeksi saluran pernapasan akut (ISPB) adalah infeksi saluran pernapasan yang mengganggu pernapasan normal seseorang. ISPA diklasifikasikan menjadi Infeksi Saluran Pernapasan Atas dan Infeksi Saluran Pernapasan Bawah. ISPB merupakan penyebab utama kematian dan morbiditas pada anak di bawah lima tahun di seluruh dunia, terutama di negara-negara berkembang (Varghese & Muhammad, 2023).

Infeksi saluran pernafasan Bawah (ISPB) merupakan infeksi akut yang menyerang salah satu bagian atau lebih dari saluran pernafasan, mulai hidung hingga alveoli termasuk jaringan adneksanya seperti sinus, rongga telinga tengah dan pleura. Infeksi saluran pernafasan akut merupakan salah satu penyebab kematian tersering pada balita di negara berkembang (Hasan dan Fera, 2020). Infeksi saluran pernafasan akut termasuk dalam kategori infeksi berat (Ernawati dkk., 2022).

Berbagai patogen virus dan bakteri dikaitkan dengan ISPA. Karena potensinya yang sangat tinggi untuk penularan dari manusia ke manusia, Patogen ini menimbulkan risiko besar bagi kesehatan manusia. Sementara infeksi bakteri memiliki pengaruh substansial pada perkembangan Pneumonia berat, sebagian besar ISPA disebabkan oleh patogen virus, seperti virus *influenza* A dan B (Flu A/B), virus *parainfluenza* (PIV),

adenovirus (AdV), *respirstory syntical virus* (RSV), *Human Corona* virus (HCoV) dan human *rhinovirus* (HRhV) (Li dkk., 2021).

Infeksi saluran pernapasan menyebabkan jutaan pasien dirawat di rumah sakit di seluruh dunia. Etiologi infeksi saluran pernapasan dapat dikaitkan dengan berbagai macam patogen termasuk virus, bakteri, dan jamur. Infeksi saluran pernapasan merupakan ancaman serius bagi kesehatan masyarakat global. Indonesia merupakan wilayah berisiko tinggi bagi patogen penyebab ISPA (Idris dkk., 2024).

2. Epidemiologi ISPB

ISPB adalah radang akut saluran pernapasan atas dan bawah yang disebabkan oleh infeksi bakteri, virus, atau jasad renik tanpa parenkim paru-paru. ISPA sendiri sangat umum pada anak-anak. Menurut penelitian epidemiologi, angka kesakitan cenderung lebih tinggi di kota daripada di desa. Hal ini dapat disebabkan oleh tingkat kepadatan rumah dan pencemaran lingkungan yang lebih tinggi di kota daripada di desa (Fiqri & Putri, 2024).

Beberapa penyebab ISPB pada balita atau anak-anak adalah polusi dan sanitasi lingkungan yang buruk. Dari beberapa penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa kasus ISPB yang menyerang balita atau anak-anak sudah mulai meningkat, sudah seharusnya masyarakat mulai meningkatkan kesadaran diri dan mulai melihat kembali keadaan lingkungan tempat tinggal. Dari permasalahan ini dibutuhkan solusi penyembuhan untuk mengurangi peningkatan kasus ISPA (Fiqri & Putri, 2024).

3. Etiologi ISPB

ISPB merupakan penyakit heterogen dan komplek yang disebabkan oleh berbagai etiologi. Etiologi ISPB terdiri dari 300 lebih jenis virus, bakteri, jamur, dan riketsia yang terdiri dari (Safitri, 2023):

a. Virus : *Influenza, Adenovirus, Sitomegalo virus, Orthomyxovirus, Paramyxovirus, Metamyxovirus, Picornavirus* dan lain-lain.
b. Bakteri : *Diplococcus pneumonia, Pneumococcus, Streptococcuspyogenes, Haemophilus influenza, Bordetella pertussis, Corinebacterium diffteria*.
c. Jamur : *Aspirglus sp, Candida albacans, Histoplasma kapsulatum, Fikomesites, Kokidiodes imitis*.
d. Riketsia : *Coxielaburneti.i*

Bakteri dan virus tersebut bebas diudara yang akan masuk dan menempel pada saluran pernafasan dan biasanya akan menyerang pada balita dikarenakan kekebalan tubuh masih rentan. ISPA disebabkan oleh tidak berfungsinya silia (rambut-rambut halus) pada saluran pernapasan. Apabila silia rusak maka kotoran akan masuk bersamaan dengan udara kedalam sistem pernapasan. Hal ini menujukkan bahwa tidak adanya proses penyaringan udara sehingga akan menimbulkan infeksi (Safitri, 2023).

4. Patofisiologi ISPB

Proses terjadinya ISPB diawali dengan masuknya patogen ke dalam tubuh manusia, kemudian akan melekat di epitel hidung dan akan masuk ke saluran pernapasan sampai menimbulkan gejala. Bakteri dan virus tersebut bebas diudara yang akan masuk dan menempel pada saluran pernafasan. ISPB disebabkan oleh tidak berfungsinya silia (rambut-rambut halus) pada saluran pernapasan. Apabila silia rusak maka kotoran akan masuk bersamaan dengan udara kedalam sistem pernapasan. Hal ini menujukkan bahwa tidak adanya proses penyaringan udara sehingga akan menimbulkan infeksi (Mahrus, 2021).

5. Manifestasi Klinis ISPB

Identifikasi penyakit ISPB dapat dilakukan melalui pengamatan gejala-gejala yang nampak, berikut merupakan gejala yang terjadi pada penderita ISPB menurut (Muttaqin, 2010).

a. Ciri-ciri ISPB ringan

Balita dapat dikatakan mengalami ISPB ringan apabila terdapat ciri-ciri sebagai berikut:

1) Suara serak
2) Batuk
3) Pilek
4) Suhu badan meningkat hingga diatas 37°C

Bila balita mengalami ISPB ringan, penanganannya dapat dilakukan di rumah dan tidak perlu dibawa ke dokter atau fasilitas

kesehatan, serta bisa diberikan obat penurun panas yang bisa diperoleh di apotek atau toko. Namun, bila gejala tidak kunjung hilang dalam 2 hari, sebaiknya segera periksakan ke dokter atau layanan kesehatan terdekat.

b. Ciri-ciri ISPB sedang

Balita dapat dikatakan mengalami ISPB sedang apabila terdapat gejala ISPA ringan yang diikuti dengan ciri seperti:

1) Bernafas >50 kali nafas tiap menitnya untuk usia 40 kali nafas tiap menitnya untuk usia >1 tahun.
2) Demam dengan suhu di atas dari 39ºC.
3) Muncul bercak yang menyerupai campak di kulit.
4) Kerongkongan terlihat merah.
5) Ketika bernafas terdengar bunyi seperti mendengkur.
6) Sakit pada telinga atau keluarnya nanah dari lubang telinga.
7) Ketika bernafas terdengar bunyi seperti mencuit-cuit.

Apabila balita terdeteksi mengalami gejala ISPB sedang, perlu diperhatikan bahwa apabila anak mengalami ISPB ringan dengan suhu tubuh melebihi 39ºC dan anak mengalami gizi buruk serta masih berusia 4 bulan atau kurang, maka balita tersebut mengalami ISPB sedang dan benar-benar perlu mendapatkan penanganan dari tenaga kesehatan.

c. Ciri-ciri ISPB berat

Balita dikatakan mengalami ISPB berat apabila ditemukan gejala ISPB ringan ataupun sedang yang diikuti salah satu atau beberapa dari gejala di bawah ini :

1) Kulit / bibir berwarna agak kebiruan.
2) Kesadaran menurun atau bahkan tak sadar.
3) Lubang hidung kembang-kempis lebih lebar ketika bernafas.
4) Pernapasan menciut
5) Terdengar bunyi seperti ngorok ketika bernafas serta terlihat gelisah.
6) Tenggorokan terlihat merah.
7) Laju nadi > 60 kali detakan per menit ataupun tidak terasa.
8) Ketika bernafas sela iga tampak masuk ke dalam.

6. Penularan ISPB

ISPB merupakan penyakit yang disebabkan oleh infeksi virus dan bakteri, meliputi nasofaringitis atau flu biasa, faringitis akut, uvula akut, rinitis, nasofaringitis kronis, sinusitis. Penyakit ini sebenarnya tidak terlalu berbahaya, namun bila tidak segera diobati dapat menimbulkan komplikasi. Jenis virus penyebab ISPB meliputi golongan *miksovirus* (termasuk virus *parainfluenza* di dalamnya, virus *influenza*, dan virus campak), serta adenovirus. Virus yang menjadi penyebab utama ISPB adalah *rhinovirus* dan *coronavirus*. Virus lain yang juga dapat menyebabkan ISPA adalah virus *parainfluenza*, *respiratory syncytial virus*, dan adenovirus. Bila seseorang terinfeksi virus-virus di atas, maka dapat berisiko tinggi

mengalami gejala flu dan pneumonia. Bayi dan anak-anak berisiko lebih tinggi terkena ISPB. Virus penyebab ISPB ini dapat bertahan hidup selama beberapa jam pada benda-benda seperti mainan atau tas. Kontak dengan virus penyebab ISPB dapat menyebar melalui orang yang terinfeksi atau melalui barang-barang miliknya yang juga dapat menjadi penyebab utama penyebaran virus tersebut. Selain itu, virus penyebab ISPB biasanya menular dari orang ke orang melalui bersin atau batuk (Asyari, 2022).

7. Faktor Resiko ISPB

Secara umum terdapat tiga faktor risiko terjadinya ISPB, yaitu faktor lingkungan, faktor individu anak serta faktor perilaku. Faktor lingkungan meliputi: suhu, kelembaban, pencahayaan, kepadatan hunian kamar tidur, luas ventilasi dan pencemaran udara dalam rumah (asap rokok dan asap hasil pembakaran bahan bakar untuk memasak). Faktor individu anak meliputi: umur anak, berat badan lahir rendah, status gizi, ASI Eksklusif dan status imunisasi. Faktor perilaku meliputi perilaku pencegahan dalam menangani penyakit ISPB (Zolanda dkk., 2021)

B. Tinjauan umum *Steptococcus pneumoniae*

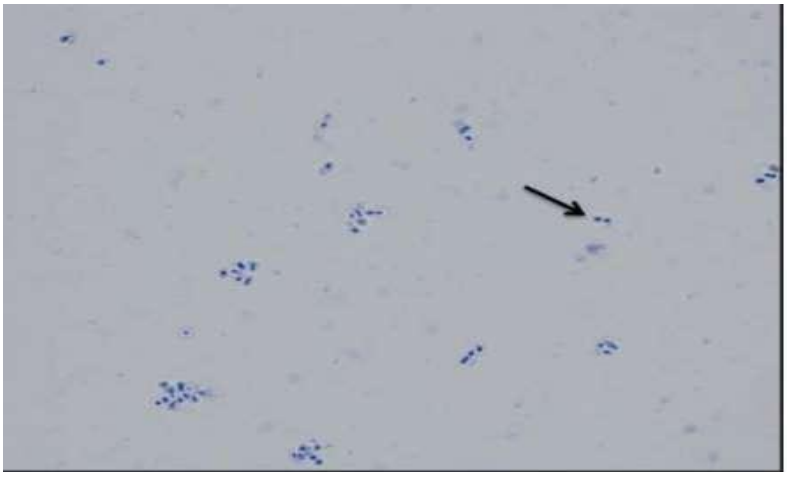
1. Definisi

Streptococcus pneumoniae merupakan bakteri flora normal dan bersifat gram positif yang biasanya ada pada nasofaring manusia tetapi dapat juga menjadi patogen penyebab infeksi pneumonia bila sistem imun dalam tubuh lemah. Bakteri ini dapat menyebabkan berbagai penyakit non-invasif, seperti otitis media atau penyakit invasif lainnya seperti meningitis,

bakteremia, dan Pneumonia. Kemudian bisa juga menjadi IPS (*Invasive Pneumococcal Disease*), yaitu ketika bakteri *Streptoccocus pneumoniae* berada di dalam darah, cairan serebrospinal, atau tempat steril lainnya di dalam tubuh. Bakteri ini menyebabkan penyakit menular dengan morbiditas dan mortalitas yang signifikan di seluruh dunia baik pada anak-anak maupun orang dewasa (Azzahra, 2023).

Streptococcus pneumoniae (*pneumococcus*) adalah patogen yang beradaptasi dengan manusia dan memiliki signifikansi klinis. Di beberapa wilayah geografis dengan insiden pembawa pneumokokus yang tinggi, kolonisasi nasofaring dengan *S. pneumoniae* terjadi dalam beberapa hari atau minggu setelah lahir, dan berlangsung selama beberapa hari hingga beberapa bulan. Tetapi, setiap orang mengalami kolonisasi setidaknya satu kali selama tahun pertama kehidupan (Chaguza dkk., 2020)

2. Karakteristik Bakteri



Gambar 1. Hasil Pewarnaan Gram bakteri *Streptococcus pneumoniae* (Purwanto dkk., 2020)

Streptococcus pneumoniae atau pneumokokus bersifat Gram-positif yang berbentuk kokus berpasangan (diplokokus atau rantai pendek). Pewarnaan Gram bakteri bewarna ungu dan bulat. Bakteri ini tersusun berukuran diameter antara 0,5 dan 1,25 μm. Bakteri bersifat non-motil, tidak berspora, tumbuh secara aerob dan anaerob fakultatif. Sama seperti *Streptococcus* yang lain, *S. pneumoniae* tidak mempunyai enzim katalase tetapi dapat memfermentasi glukosa menjadi asam laktat. *S. pneumoniae* hidup pada saluran pernafasan atas yang merupakan mikroflora normal pada manusia. Bakteri ini tumbuh pada suhu 30°-35° C. Pertumbuhan optimal didalam media adalah pH netral berkisar antara 7,6–7,8 (Asy'ari, 2022)

3. Taksonomi *Streptococcus pneumoniae*

Kingdom : *Bacteria*

Filum : *Firmicutes*

Kelas : *Diplococcic*

Ordo : *Lactobacillales*

Familia : *Streptoccoceae*

Genus : *Streptococcus*

Spesies : *Streptococcus pneumoniae* (Asy'ari, 2022)

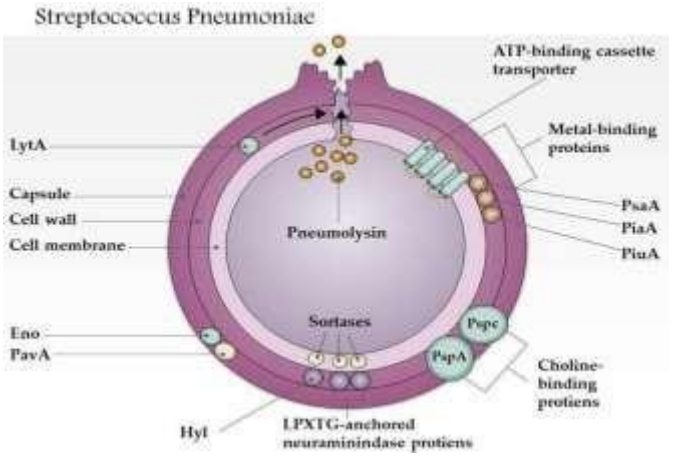
4. Faktor Virulensi *Streptococcus pneumoniae*

Beberapa faktor virulensi pneumokokus telah diidentifikasi, namun sedikit yang diketahui tentang penyakit yang mendasar dan bagaimana faktor tersebut diekspresikan selama perkembangan penyakit. *S. pneumoniae* menghiasi permukaannya dengan filamen multimerik panjang yang dikenal

sebagai pili yang terdiri dari subunit yang terhubung secara kovalen. Meskipun fungsi biologisnya belum sepenuhnya dijelaskan, pili pneumokokus telah dikaitkan dengan virulensi dan kemampuan mikroorganisme untuk lebih melekat pada sel epitel dan menempati nasofaring (Asy'ari, 2022). *S. pneumoniae* menghasilkan racun yang berbahaya bagi inangnya. Faktor virulensinya bekerja dengan menghambat respon sistem kekebalan tubuh, menghindari mekanisme pertahanan, atau dengan kontak langsung dengan jaringan tubuh dan mengganggu aktivasi sistem kekebalan tubuh (Asy'ari, 2022).

Infeksi yang ditimbulkan oleh *S. pneumoniae* disebabkan karena adanya interaksi faktor virulensi terhadap sel inang berupa protein hasil sekresi *S. pneumoniae* yang dapat menyebabkan lisis pada sel inang. Dalam mendeteksi bakteri penyebaran bakteri patogen ini dapat dilakukan secara konvensional dan secara molekular PCR untuk mendeteksi faktor virulensi gen *S. pneumoniae* menggunakan primer yang spesifik untuk gen *ply*. Gen tersebut merupakan gen target virulen bakteri *S. pneumoniae*, dalam metode konvensional dilakukan metode kultur yang merupakan *gold standar* dalam mendeteksi bakteri ini namun apabila menggunakan metode kultur akan membutuhkan waktu berhari-hari berbeda halnya secara molekuler dapat dilakukan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang membutuhkan waktu yang singkat karena mendeteksi DNA bakteri *S. pneumoniae* (Muthmainnah dkk., 2020).

Pneumolysin adalah protein 53-kDa dari *S. Pneumoniae* yang termasuk dalam famili sitolisin yang bergantung pada kolesterol (CDC). Setelah berinteraksi dengan kolesterol membran eukariotik, *pneumolysin* mengalami oligomerisasi, dan menciptakan pori pada membran serta membunuh sel target. *Pneumolysin* terdiri dari empat domain yang berbeda. Domain 1, 2, dan 3 diperlukan untuk oligomerisasi dan domain 4 bertanggung jawab untuk pengenalan sel inang dan pengikatan kolesterol. Tidak seperti anggota famili toksin CDC lainnya, *Ply* tidak memiliki peptida sinyal untuk sekresi dan dilepaskan dari sitoplasma bakteri melalui autolisis dan alolisis selama kompetensi alami untuk transformasi DNA (Maatsola dkk., 2020).



Gambar 2. Gen Ply Streptococcus Pneumoniae

(Kadioglu Aras.,2020)

Ply juga telah terbukti disekresikan oleh sistem SecY2A2 Sec aksesori dan ditemukan dalam bentuk aktif yang menempel pada dinding sel pneumokokus. *Ply* merupakan racun yang sangat multifungsi, yang selain aktivitas hemolitik dan sitolitiknya, dapat menyebabkan piroptosis dan apoptosis, mengatur aktivitas komplemen, menginduksi sejumlah efek

pensinyalan dan juga berperan dalam transmisi *S. Pneumoniae* dari inang ke inang. Karena *Ply* berkontribusi terhadap kelangsungan hidup *S. Pneumoniae* sepanjang keberadaannya di dalam inang (yaitu, kolonisasi, infeksi dan penularan), ia merupakan target penting untuk pencegahan infeksi pneumokokus (Maatsola dkk., 2020).

5. Patogenesis *Streptococcus Pneumoniae*

Streptococcus Pneumonia (pneumokokus) memiliki kapsul polisakarida. Kapsul ini melindungi pneumokokus dari fagosit. Terdapat lebih dari 90 serotip kapsular yang berbeda. Polisakarida kapsular sangat bersifat antigenik dan antibodi terhadap jenis yang spesifik bersifat memberikan perlindungan (Azzahra, 2023).

Antigenitas bersifat spesifik terhadap jenisnya, tetapi terdapat beberapa reaksi silang antartipe. Komponen dinding sel bersifat proinflamasi. Pneumokokus juga memiliki variasi adhesi yang memerantarai kolonisasi dengan menempel pada karbohidrat di permukaan sel. Koloni bakteri ini dapat ditemukan pada nasofaring 40% populasi manusia. Pneumokokus melekat erat pada epitel nasofaring melalui berbagai mekanisme respon imun. Penyebaran dapat terjadi ke paru dan telinga tengah dipengaruhi oleh neuraminidase, sedangkan keradangan yang terjadi disebabkan oleh komponen dinding sel pneumokokus dan pnerumolisin menyebabkan terjadinya sitotoksisitas pada sel bersilia dari cochlea. Sekitar 100.000 bakteri/ml dibutuhkan untuk merangsang terjadinya respon imun inflamasi pada jaringan sehat (Azzahra, 2023).

6. Kultur *Streptoccocus pneumoniae*

Streptoccocus pneumoniae bisa diidentifikasi dengan kultur media agar darah dan juga diidentifikasi dengan koloni hemolitik alfa diantaranya ada pengecatan gram, tes katalase, serta tes optokin. Pada media agar darah, koloninya akan berwarana abu-abu, mukoid, dan dikelilingi area alfa hemolitik berwarna hijau. Pada pemeriksaan didapatkan karakteritik *Streptococcus pneumoniae* yang serupa dengan bakteri *Streptococcus* lainnya, termasuk juga pada kategori alfa hemolitik, seperti *Streptococcus viridans*. Pada pewarnaan gram, cat yang digunakan antara lain ada *crystal violet, iodine,* dan *safranin*. Pemeriksaan ini akan memperlihatkan di bawah mikroskop *Streptoccus pneumoniae* dengan bentuk kokus berantai warna ungu. Hal ini disebabkan dinding sel bakteri yang 50-90% nya terdiri dari peptidoglikan, sehingga memerangkap zat warna *crystal violet* dan tidak terbilas dalam proses selanjutnya (Azzahra, 2023).



Gambar 3. *Streptococcus pneumoniae* pada media BAP

(Muthmainnah dkk., 2020)

Koloni *Streptococcus pneumoniae* yang tumbuh pada media *Blood Agar* (BAP) yang telah di inkubasi dengan inkubator CO2 dengan kadar CO_2 pada suhu 35-37° selama 24 jam dengan karakteristik koloni bening, mukoid, waterish, keabu-abuan, memiliki aktivitas alfa hemolisis. Pada uji bikimia yaitu uji katalase, bakteri *Streptococcus pneumoniae* tidak memiliki gelembung gas setelah diteteskan H_2O_2 (Muthmainnah dkk., 2020).

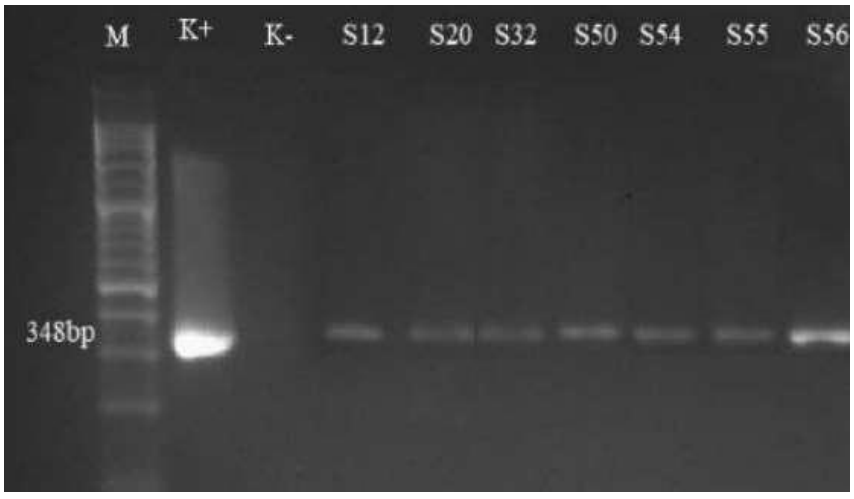
6. Identifikasi *Streptococcus pneumonia*

Streptococcus pneumoniae adalah bakteri fakultatif anaerob yang bersifat oportunistik. Karakteristik bakteri ini adalah gram-positif, berbentuk lancet,diplokokus, tidak bergerak, tidak membentuk spora, dan katalase-negatif. Pada beberapa kasus, bakteri ini biasanya tersusun dalam pasangan atau rantai. *Streptococcus pneumoniae* juga dapat membentuk koloni bulat kecil, berbentuk kubah, dan kemudian menjadi depresi tengah dengan pinggiran yang meninggi. Kemudian, koloni bakteri dapat terlihat berkilau karena produksi polisakarida kapsular. Pada agar darah, koloni bakteri *Streptococcus pneumoniae* menunjukkan adanya α-hemolitik.3,11 Tes Optochin (hidroklorida etilhidrokuprein) adalah salah satu tes presumtif untuk mendeteksi *S pneumoniae*. Tes ini menguji kerapuhan membran sel bakteri.

C. Tinjauan Pemeriksaan Laboratorium

1. Molekuler

Metode berbasis DNA umumnya memiliki sampel yang spesifik dan sensitif. Hal ini terjadi karena setiap spesies memiliki fragmen sekuan DNA yang conseve yang merupakan DNA penanda/marker. Dalam memeriksa sampel DNA diperlukan sebuah metode yang bernama PCR. Metode PCR adalah suatu metode enzimatis untuk amplifikasi DNA dengan cara in vitro. Pada proses PCR diperlukan beberapa komponen utama, yaitu DNA cetakan, Oligonukleotida primer, Deoksiribonukelotida trifosfat (dNTP), Enzim DNA Polimerase, dan Komponen pendukung lain adalah seperti senyawa buffer. Dengan menggunakan metode PCR, peniliti dapat mendeteksi DNA spesifik spesies tertentu (Fadhilah dkk., 2021).



Gambar 4. Hasil PCR *Streptococcus Pneumoniae*

(Muthmainnah dkk., 2020)

Secara molekuler, pada yaitu menggunakan metode PCR untuk mengamplifikasi gen target *ply* dari seluruh sampel dengan menggunakan

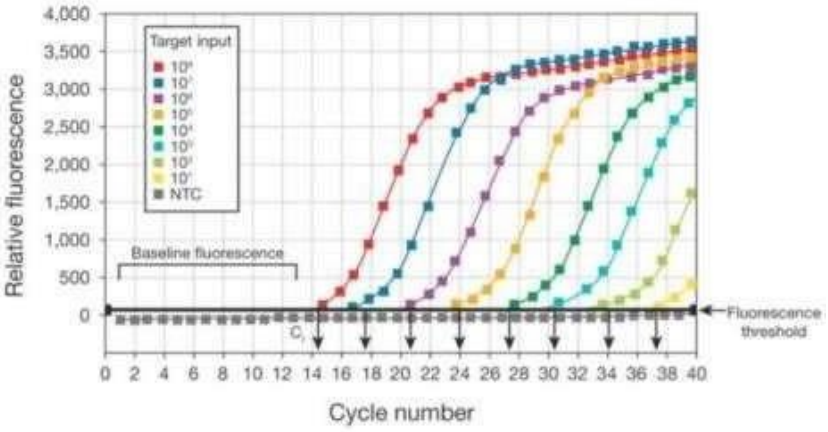
primer spesifik. Gen *ply* dinyatakan positif jika pada hasil elektroforesis ditemukan pita DNA yang berukuran 348bp dan dinyatakan negatif jika pada elektroforesis hasil PCR tidak ditemukan pita yang berukuran 348bp (Muthmainnah dkk., 2020)

D. Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

1. Jenis-jenis PCR

a. *Quantitative* PCR (qPCR)

PCR kuantitatif (qPCR) digunakan untuk mengukur kuantitas urutan target (biasanya secara *real-time*). qPCR mengukur jumlah awal DNA, cDNA, atau RNA secara kuantitatif. PCR kuantitatif biasanya digunakan untuk menentukan urutan DNA yang ada dalam sampel dan jumlah salinan dalam sampel. PCR kuantitatif memiliki tingkat presisi yang sangat tinggi. Metode PCR kuantitatif menggunakan pewarna fluoresensi, seperti Sybr Green, EvaGreen atau probe DNA yang mengandung fluorofor, seperti TaqMan, untuk mengukur jumlah produk yang diperkuat secara real-time. PCR kuantitatif juga disingkat menjadi RT-PCR (real-time PCR) tetapi singkatan ini digunakan untuk PCR transkripsi balik. qPCR sesuai untuk PCR kuantitatif (*real-time* PCR) (Hidayat, 2020).

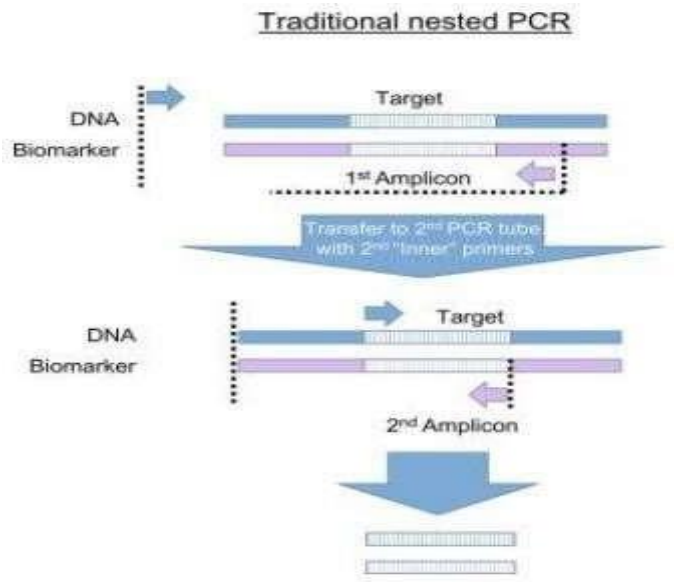


Gambar 5. Hasil amplifikasi *qPCR*

(Hidayat, 2020)

b. *Nested* PCR

Nested PCR dikembangkan untuk meningkatkan sensitivitas dan spesifisitas PCR. Teknik ini menggunakan dua pasang primer amplifikasi dan dua putaran PCR. Dua set primer digunakan dalam dua putaran PCR berturut-turut. Dalam reaksi pertama, sepasang primer digunakan untuk menghasilkan produk DNA yang, selain target, mungkin masih mengandung fragmen DNA yang tidak diamplifikasi secara spesifik. Produk tersebut kemudian digunakan dalam PCR kedua dengan satu set primer yang memiliki situs pengikatan yang sepenuhnya atau sebagian berbeda. Sensitivitas yang meningkat muncul dari jumlah siklus total yang lebih tinggi, dan spesifisitas yang meningkat muncul dari penggabungan set primer kedua ke urutan yang dihasilkan oleh siklus pertama (Hidayat, 2020).



Gambar 7. Tahapan proses *Nested* PCR

(Hidayat, 2020)

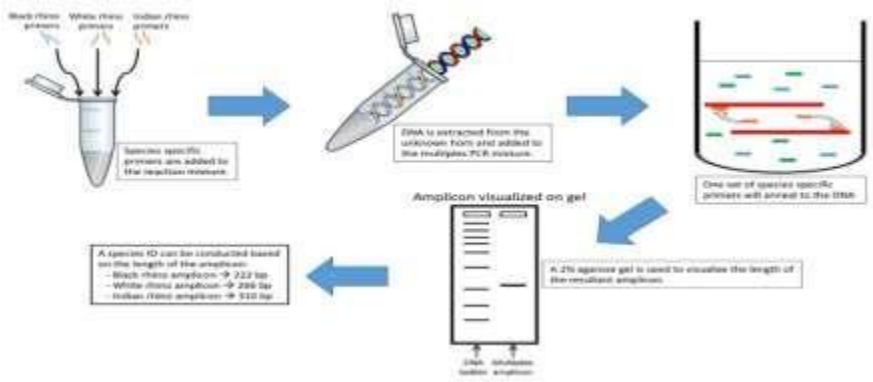
c. *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP)

Metode ini adalah metode PCR yang digunakan untuk membedakan organisme (sampel) berdasarkan analisis model derivat dari perbedaan molekul DNA (Septiana, 2022).

d. *Multiplex*-PCR

Multiplex-PCR terdiri dari beberapa set primer dalam satu campuran PCR. *Multiplex*-PCR berfungsi untuk menghasilkan amplikon dengan berbagai ukuran yang spesifik untuk sekuens DNA yang berbeda. Dengan menargetkan beberapa gen sekaligus, informasi tambahan dapat diperoleh dari satu pengujian yang jika tidak akan memerlukan beberapa reagen dan lebih banyak waktu untuk melakukannya. Suhu pemanasan untuk setiap set primer harus

dioptimalkan agar berfungsi dengan benar dalam satu reaksi, dan ukuran amplikon. Artinya, panjang pasangan basa harus cukup berbeda untuk membentuk pita yang berbeda saat divisualisasikan dengan elektroforesis gel (Hidayat, 2020).



Gambar 8. Tahapan proses *Multiplex*-PCR

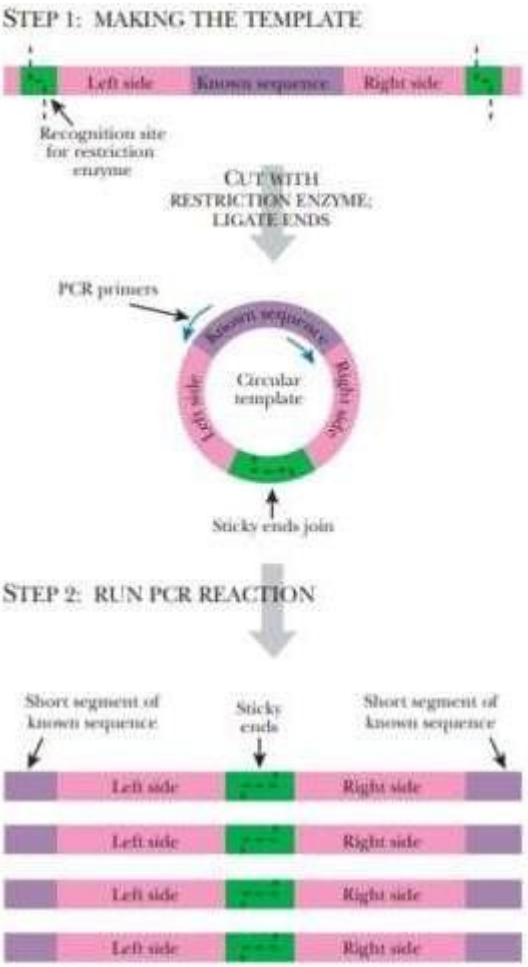
(Hidayat, 2020)

e. *Inverse* PCR

Inverse PCR adalah metode lain yang menggunakan informasi sekuens yang tidak lengkap untuk memperbanyak gen target adalah PCR Terbalik. Persyaratan untuk menggunakan teknik *inverse* PCR adalah sekuens bagian molekul DNA yang panjang, misalnya kromosom, diketahui. Tujuannya adalah untuk memperluas analisis sepanjang molekul DNA ke wilayah yang tidak diketahui. Biasanya, untuk mensintesis primer untuk PCR, sekuens target yang tidak diketahui harus diapit oleh dua wilayah sekuens yang diketahui. Dalam teknik *inverse* PCR, yang terjadi adalah sebaliknya. Molekul DNA target diubah menjadi lingkaran. Mengelilingi lingkaran akan mengembalikannya ke awal. Namun, efeknya adalah hanya sebagian

kecil sekuens yang diketahui, bentuk melingkar memungkinkan satu wilayah di kedua sisi sekuens target (Hidayat, 2020).

Enzim restriksi, biasanya yang mengenali urutan enam basa, digunakan untuk membuat lingkaran. Enzim tidak boleh memotong urutan yang diketahui, jadi pada akhirnya akan memotong baik di hulu maupun hilir wilayah yang diketahui. Fragmen yang dihasilkan akan memiliki urutan yang tidak diketahui terlebih dahulu, urutan yang diketahui di tengah, diikuti oleh urutan yang lebih tidak diketahui. Kedua ujung fragmen akan memiliki ujung *sticky end* yang kompatibel untuk membuat lingkaran DNA. Dua primer yang sesuai dengan wilayah yang diketahui dan menghadap ke luar di sekitar lingkaran digunakan untuk PCR. Sintesis DNA baru akan berlangsung di sekitar lingkaran searah jarum jam dari satu primer dan berlawanan arah jarum jam dari primer lainnya. Secara keseluruhan, PCR terbalik menghasilkan beberapa salinan segmen DNA yang mengandung beberapa DNA di sebelah kanan dan beberapa DNA di sebelah kiri wilayah asli yang diketahui (Hidayat, 2020).



Gambar 9. Tahapan proses *Inverse*-PCR

Sumber: (Hidayat, 2020)

f. *Hot start* PCR

Hot start PCR merupakan teknik yang mengurangi amplifikasi nonspesifik selama tahap persiapan PCR awal. *Hot start PCR* dapat dilakukan secara manual dengan memanaskan komponen reaksi ke suhu denaturasi (misalnya 95°C) sebelum menambahkan polimerase. Sistem enzim khusus telah dikembangkan untuk menghambat aktivitas polimerase pada suhu ruangan, baik dengan mengikat antibodi atau

dengan adanya inhibitor yang terikat secara kovalen yang hanya terdisosiasi setelah aktivasi suhu tinggi. *Hot start PCR* / *cold-finish* dicapai dengan polimerase hibrida baru yang tidak aktif pada suhu ruangan dan segera diaktifkan pada suhu pemanjangan (Hidayat, 2020).

g. *Intersequence-specific* PCR (ISSR)

Metode PCR untuk *DNA fingerprinting* yang mengamplifikasi daerah antara sekuens DNA pendek dan berulang untuk memperoleh sekuens sidik jari yang unik, kemudian fragmen ini diamplifikasi (Hidayat, 2020).

h. *Single Specific Primer*-PCR (SSP-PCR)

Memungkinkan amplifikasi DNA untai ganda bahkan ketika informasi urutan hanya tersedia di satu ujung. Metode ini memungkinkan amplifikasi gen yang hanya memiliki informasi urutan parsial, dan memungkinkan genom berjalan searah dari daerah kromosom yang diketahui ke daerah yang tidak diketahui (Hidayat, 2020).

3. Komponen PCR

Menurut (Septiana, 2022), metode PCR memerlukan beberapa komponen utama, antara lain:

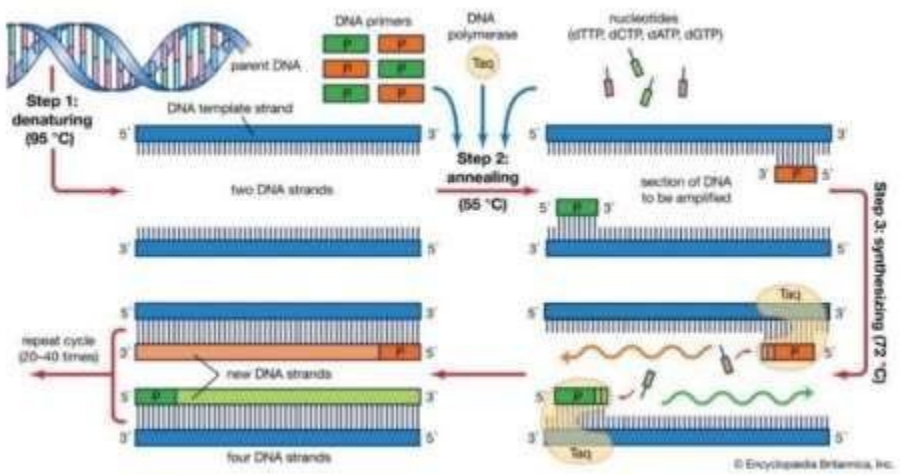
a. DNA template, yaitu fragmen DNA yang akan diamplifikasi.

b. Primer, yaitu sekuens oligonukleotida pendek berukuran 20-30 basa nukleotida dan mengandung 50-60% basa G+C, yang akan menginisiasi proses sintesis untai DNA.
c. Deoksiribonukleotida trifosfat (dNTP), terdiri dari dATP, dCTP, dGTP, dTTP. Deoksiribonukleotida trifosfat (dNTP) nantinya akan menempel pada ujung 3' primer saat proses pemanjangan berlangsung.
d. DNA Polimerase, yaitu enzim yang mengkatalisis reaksi sintesis untai DNA. Enzim ini tahan terhadap proses pemanasan berulang yang akan membantu proses pelepasan ikatan primer yang tidak sesuai dan membantu meluruskan daerah yang memiliki struktur sekunder.
e. Larutan *buffer*. Larutan *buffer* PCR umumnya mengandung 10-50 mM Tris-HCl pH 8,3-8,8; 50 mM KCl; 0,1% gelatin atau BSA (*Bovine Serum Albumin*); Tween 20 sebanyak 0,01% atau Triton X-100 sebanyak 0,1%; dan perlu ditambahkan 1,5 mM $MgCl_2$.

4. Prinsip PCR

Proses PCR hampir sama dengan proses replikasi DNA di dalam tubuh. Replikasi DNA merupakan proses fisiologis yang digunakan oleh semua sel hidup untuk menggandakan materi genetik sebelum pembelahan sel. Komponen utama yang digunakan dalam proses PCR adalah: (1) DNA Template, (2) DNA Polimerase, (3) primer dan (4) nukleotida (Hidayat, 2020).

5. Tahapan-tahapan PCR



Gambar 10. Siklus dalam PCR

(Hidayat, 2020)

Menurut (Hidayat, 2020), tahapan PCR terdiri dari:

a. Denaturasi

Selama proses denaturasi, sampel DNA untai ganda akan diubah menjadi DNA untai tunggal menggunakan panas 95^0C. Panas yang tinggi akan memutus ikatan hidrogen dalam DNA. Proses denaturasi berlangsung sekitar 1-2 menit pada suhu 95^0C, kemudian suhu diturunkan menjadi 55^0C (memasuki proses *annealing*)

b. *Annealing*

Tahap kedua dalam siklus PCR adalah annealing, pada saat annealing primer akan menempel pada sekuens DNA. Primer akan menempel pada lokasi tertentu pada cetakan DNA untai tunggal melalui ikatan hidrogen (suhu yang tepat tergantung pada suhu Tm primer yang digunakan). Penentuan suhu annealing yang tepat sangat

penting, karena efisiensi dan spesifisitas sangat dipengaruhi oleh suhu annealing. Suhu annealing biasanya efisien pada suhu rendah (37^0C), tetapi suhu yang rendah dapat menyebabkan primer tidak menempel dengan baik atau menempel pada tempat yang salah (*mispriming*). Suhu yang lebih tinggi dapat meningkatkan spesifisitas reaksi amplifikasi, tetapi menyebabkan efisiensinya menurun. Suhu annealing sebaiknya 3-50^0C di bawah suhu Tm primer (Cara menghitung Tm primer: Tm ≈ 4 (G-C) + 2 (A-T))

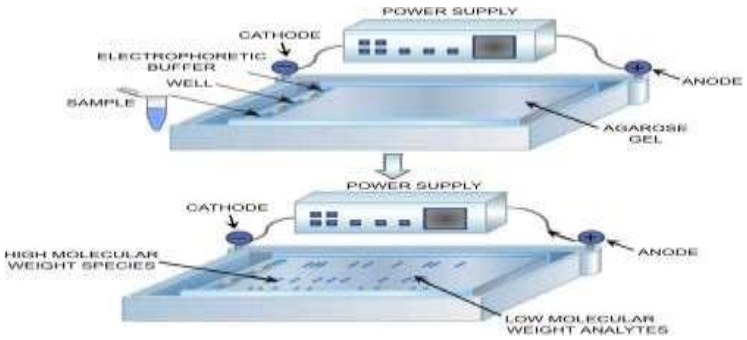
Terdapat dua primer yang digunakan dalam PCR, yaitu oligonukleotida yang memiliki urutan identik dengan salah satu rantai DNA cetakan pada ujung 5'-fosfat, dan oligonukleotida kedua identik dengan urutan pada ujung 3'-OH rantai DNA cetakan lainnya. Setelah oligonukleotida primer menyatu dengan DNA cetakan, suhu inkubasi dinaikkan menjadi 72^0C (memasuki tahap Ekstensi).

c. *Extension*

merupakan tahap ketiga dalam proses PCR, suhu yang digunakan dalam ekstensi adalah 72^0C. Pada tahap ini DNA Polimerase akan melakukan proses polimerisasi rantai DNA baru berdasarkan informasi pada DNA template. Setelah polimerisasi, rantai DNA baru akan membentuk jembatan hidrogen dengan DNA template.

6. Tahapan Eletroforesis

Elektroforesis gel digunakan untukpemisahan dan analisis makromolekul (DNA, RNA, dan protein) dan fragmennya, berdasarkan ukuran dan muatannya. Elektroforesis gel juga digunakan dalam kimia klinis untukmemisahkan protein berdasarkan muatan atau ukuran (IEF agarose, pada dasarnya tidak bergantung pada ukuran) dan juga telah digunakan dalam biokimia dan biologi molekuler untuk memisahkan campuran populasi DNA dan RNA yang terfragmentasi berdasarkan panjangnya, untuk memperkirakan ukuran fragmen DNA dan RNA atau untuk memisahkan protein berdasarkan muatan yang dipisahkan dengan menerapkan medan listrik untuk memindahkan molekul bermuatan negatif melalui matriks agarose dan zat lainnya.



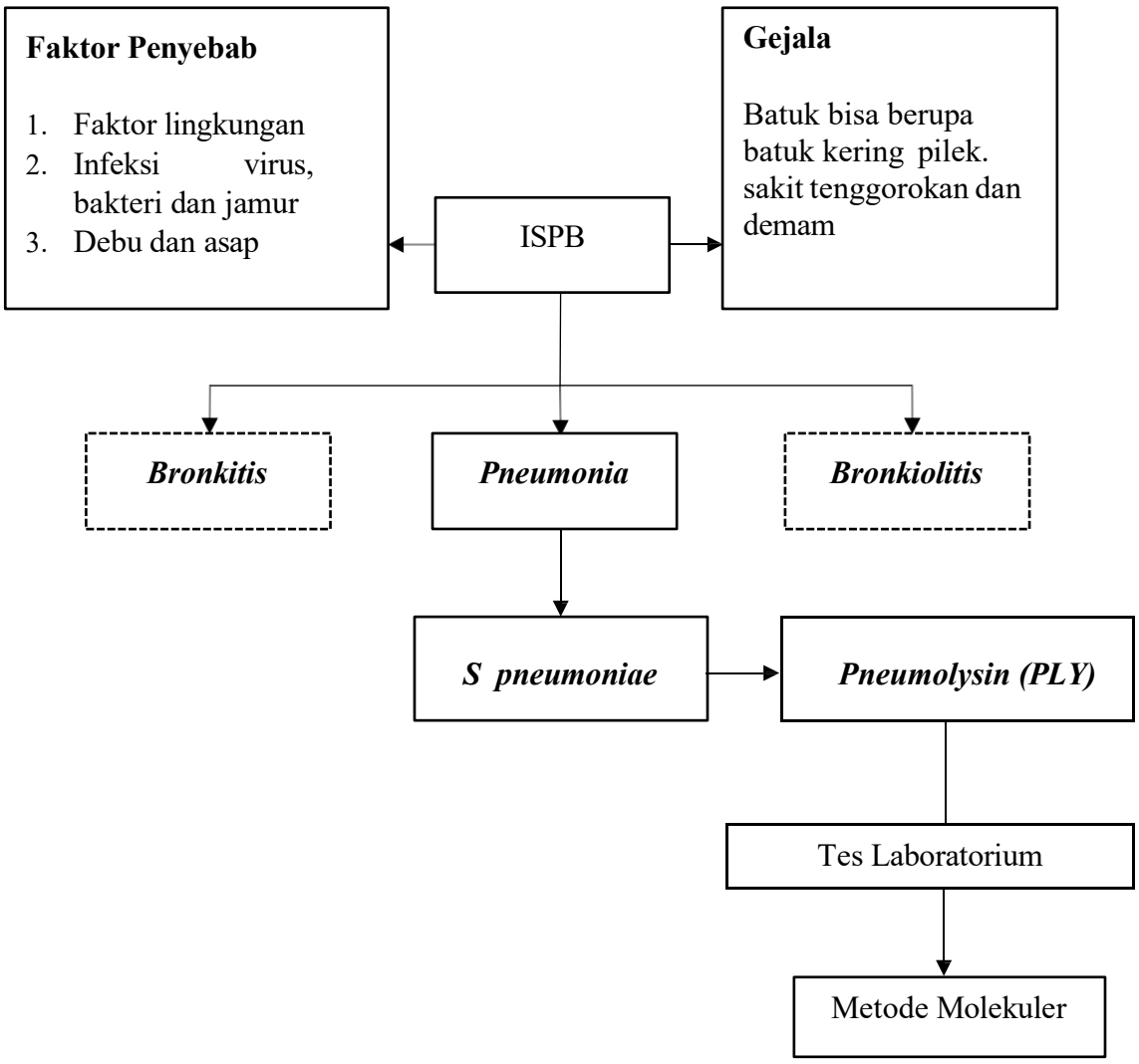
Gambar 11. Tahapan Eletroforesis

(Andalia dkk.,2023)

Molekul yang pendek bermigrasi lebih jauh daripada yang lebih panjang dan bergerak lebih cepat karena molekul yang lebih pendek bermigrasi lebih mudah melalui pori-pori gel. Fenomena ini disebut

fenomena penyaringan. Protein dipisahkan oleh muatan dalam agarosa karena pori-pori gel terlalu besar untuk menyaring protein. Elektroforesis gel ini juga digunakan untuk pemisahan nanopartikel. Elektroforesis gel menggunakan gel sebagai media antikonveksi atau media penyaringan selama elektroforesis, media gel yang digunakan untuk proses ini adalah untuk menciptakan gerakan partikel bermuatan dalam medan listrik. Gel digunakan untuk menekan konveksi termal yang disebabkan oleh penerapan medan listrik, dan juga dapat bertindak sebagai media penyaringan, memperlambat lewatnya molekul; gel juga dapat berfungsi untuk mempertahankan pemisahan yang telah selesai sehingga pewarnaan pasca elektroforesis dapat diterapkan. Elektroforesis gel DNA biasanya dilakukan untuk tujuan analitis; sering kali setelah amplifikasi DNA melalui reaksi berantai polimerase (PCR), terkadang juga digunakan sebagai teknik preparatif sebelum penggunaan metode lain seperti spektrometri massa, RFLP, PCR, kloning, sekuensing DNA atau Southern blotting untuk karakterisasi lebih lanjut.

E. Kerangka Teori



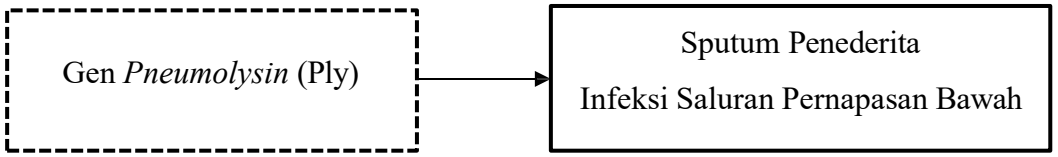
Gambar 12. Bagan Kerangka Teori

Keterangan:

= Tidak diteliti

=Diteliti

F. Kerangka konsep



Gambar 13. Bagan kerangka Konsep

Keterangan:

 = Variabel bebas

 =Variabel terikat

H. Defenisi Oprasional

1. Infeksi saluran pernafasan bawah (ISPB) merupakan infeksi saluran pernapasan yang menyerang salah satu bagian atau lebih dari saluran pernafasan, mulai hidung hingga alveoli termasuk jaringan adneksanya seperti sinus, rongga telinga tengah dan pleura.
2. *Streptococcus Pneumoniae* merupakan bakteri flora normal dan bersifat. Bakteri flora normal dan bersifat gram positif yang biasanya ada pada nasofaring manusia tetapi dapat juga menjadi patogen penyebab infeksi Pneumonia bila sistem imun dalam tubuh lemah
3. *Pneumolysin* adalah protein 53-kDa dari *S. Pneumoniae* yang termasuk dalamfamili sitolisin yang bergantung pada kolesterol (CDC). Setelah berinteraksidengan kolesterol membran eukariotik, *pneumolysin*

BAB III
METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan pada penelitian ini yaitu eksperimen laboratorium dengan pendekatan *cross-sectional study* , untuk menemukan jenis bakteri *Steptococcus Pneumoniae* pada pasien penderita ISPB (Infeksi Saluran Pernafasan Bawah).

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi Penelitian

Pengambilan sampel dilakukan diBalai Besar Kesehatan paru Makassar (BBKPM). Pengerjaan sampel penelitian dengan metode PCR di Laboratorium *Hasanuddin University Medical Research Center* (HUM-RC) Fakultas Kedokteran Unversitas Hasanuddin.

2. Waktu penelitian

Waktu penelitian ini dilaksanakan pada bulan juni 2025

C. Populasi dan sampel

1. Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah sputum dari pasien penderita Infeksi Saluran Pernapasan Bawah (ISPB) di Balai Besar Kesehatan Paru Makassar.

2. Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah Sputum pasien infeksi saluran pernafasan bawah diBalai Besar Kesehatan Paru Makassar yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi

3. Teknik Sampling

Teknik pengambilan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah *accidental sampling* adalah mengambil responden sebagai sampel berdasarkan kebetulan, yaitu siapa saja yang secara kebetulan bertemu dan dapat digunakan sebagai sampel dengan faktor utama yang memenuhi kriteria inklusi dan ekskulisi, range waktu pengambilan sampel selama bulan Mei 2025.

D. Kriteria Sampel

1. Kriteria Inklusi

   a. Pasien dengan gejala *Pneumonia.*

   b. Sputum/dahak yang masih baru dan (purulen) berwarna kuning atau kehijauan.

2. Kriteria Eksklusi

   a. Sputum bercampur air liur.

   b. Pasien telah mengkonsumsi antibiotik lebih dari 3 hari.

   c. Pasien dengan infeksi TB

E. Teknik Pengumpulan Data

Data dari penelitian ini dikumpulkan dengan cara membagikan lembaran persetujuan. Data penelitian hasil identifikasi bakteri dari sampel sputum pasien ISPB akan dijelaskan secara deskriptif dalam bentuk tabel untuk jumlah pola bakteri dominan dari pasien ISPB. Hasil identifikasi kultur dilajut dengan pemeriksaan metode PCR.

F. Alat dan Bahan Penelitian

1. Pra Analitik

   a. Alat

      Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *GeneAmp* PCR *System* 9700, mikropipet, vortex, mikrotube, GS column, collection tube, PCR tube, botol duran, chamber, mesin elektroforesis merek *bio red power pac basic,* tangki elektroforesis, sentrifuge, microwave, *water bath*, *gel doc*.

   b. Bahan

      Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu primer gen *ply* dengan urutan basa nukleotida *forward*: 5' ATT TCT GTA ACA GCT ACC AAC GA 3' dan *reverse*: 5' GAA TTC GTC TTT TCA AAG TC 3' dengan 348bp (Muthmainnah,dkk 2020) S1 *buffer*, S2 *buffer*, W1 *buffer*, wash *buffer*, *proteinase* K, etanol absolut, elusion *buffer*, *nuclease free water*, enzim *taq polymerase,* gel agarosa, TBE, marker, *ethidium bromide,* tip,Colletion tube,PCR tube.

2. Analitik

   a. Tahapan Ekstraksi

      Tahapan pertama dalam proses ini yaitu sampel sputum diinkubasi terlebih dahulu selama 30 menit mengggunakan *water bath*. Kemudian sampel dipindahkan ke dalam tabung *micro centrifuge*. Sampel sputum diekstraksi menggunakan metode DNA *chelex*-100 *extraction*. Pertama disiapkan mikrotube yang bersih, lalu dimasukkan sebanyak 200 µl sampel ke dalam tabung lalu

ditambahkan proteinase K sebanyak 20 µl (proteinase K berfungsi sebagai pemecahan sel), kemudian vortex selama 10 detik dan di inkubasi pada suhu 60°C selama

5 menit. Kemudian ditambahkan 200 µl buffer GSB, lalu vortex kemudian diinkubasi pada suhu 60°C selama 5 menit.

Tahapan kedua yaitu pengikatan DNA (DNA Binding), dilakukan dengan menambahkan 200 µl ethanol absolute ke dalam tabung sampel, lalu vortex selama 10 detik sampai tidak terbentuk endapan. Pasang GD Column pada tabung mikrotube, lalu pindahkan sampel ke GD column lalu sentrifuge pada 12.000 rpm selama 1 menit. Buang larutan dibawahnya.

Tahapan ketiga yaitu proses pencucian (wash) yang dilakukan dengan menambahkan 400 µl buffer W1 lalu sentrifuge pada 12.000 rpm selama 30 detik. Dibuang larutan dibawahnya lalu ditambahkan 600 µl W2 (wash buffer) dan disentrifuge pada 12.000 rpm selama 30 detik. Dibuang larutan dibawahnya dan sentrifuge kering selama 3 menit dengan kecepatan 12.000 rpm. Kemudian pindahkan GD Column pada mikrotube yang baru.

Tahapan terakhir yaitu proses elusi yang dilakukan dengan menambahkan 50 µl elution buffer, kemudian diamkan selama 2 menit. lalu disentrifuge selama 30 detik dengan kecepatan 13.000 rpm, buang GD Column. Hasil ekstraksi siap digunakan

b. Amplifikasi DNA Dengan PCR

Identifikasi molekuler *Steptococcus Pneumoniae* dianalisis berdasarkan amplifikasi DNA yang ditentukan dengan menggunakan primer spesifik dengan program PCR yang telah ditentukan berdasarkan referensi. Reaksi PCR dibuat dengan membuat *master mix* yang terdiri atas beberapa komponen PCR. Produk PCR terletak pada 438 bp, urutan dua primer dari 21 dan 24 basa.

forward: 5' ATT TCT GTA ACA GCT ACC AAC GA 3'

reverse: 5' GAA TTC GTC TTT TCA AAG TC 3

Amplifikasi PCR dilakukan dengan mencampurkan semua komponen PCR yang terdiri dari Taq DNA polymerse sebanyak 118,75 µl, Primer *forward* dan Primer *reverse* masing-masing 9,5 µl, *Nuclease Free Water* 1,75 µl, DNA Template 3,5 µl Total volume dalam satu tabung PCR adalah 12,5 µl

Langkah awal yang dilakukan dalam tahapan ini adalah menyiapkan tabung PCR sebanyak 18 dan beri label. Kemudian pipet sebanyak 9 µl Mix PCR pada setiap tabung, dan tambahkan masing- masing DNA Template sebanyak 1,5 µl pada tabung 1 sampai 16. Tabung ke-17 sebagai kontrol positif, pipet sebanyak 3,5 µl reagen kontrol, dan tabung ke-18 sebagai kontrol negatif, pipet sebanyak 3,5 µl *Nuc*lease Free Water. Selanjutnya masukkan ke dalam alat PCR *GeneAmp PCR System* 9700

dengan program siklus sesuai.

Amplifikasi pada mesin PCR dimana sebanyak 35 siklus, yang terdiri dari Tahap denaturasi awal selama lima menit pada suhu 94°C,30 siklus PCR, dengan masing-masing siklus terdiri dari 30 detik pada suhu 94°C, 30 detik pada suhu 53°C, dan 30 detik pada suhu 72°C, dan tahap ekstensi akhir selama 10 menit pada suhu 72°C. Hasil amplfilikasi kemudian dilanjutkan ke tahap elektroforesis.

c. Tahapan Elektroforesis

Amplifikasi dianalisis dengan menggunakan elektroforesis. Pertama pembuatan gel agarosa 2%, bubuk gel agarosa ditimbang sebanyak 1,5 gram, lalu ditambahkan sebanyak 100 ml larutan TBE 0,5X, kemudian dipanaskan dengan *microwave* selama 23 menit, tambahkan Ethidium bromide sebanyak 5 µl. Rangkai chamber, pasang sisir dan atur titik keseimbangan *chamber*, kemudian tuang gel agarosa ke dalam *chamber*, diamkan hingga memadat, pasang gel agarosa pada tangka elektroforesis. Dipipet masing-masing sebanyak 9 µl kontrol negatif pada well 1, kontrol positif pada well 2, marker masukkan pada well 3, pada well 4 dan seterusnya isi sampel. Selanjutnya *running* sampel, tutup tangka elektroforesis (pasang kabel sesuai muatan atau warna), tekan tombol power. Set voltase 100, Amper 400, waktu 40 menit, kemudian *RUN*. Terakhir pembacaan hasil pada *Gel doc.*

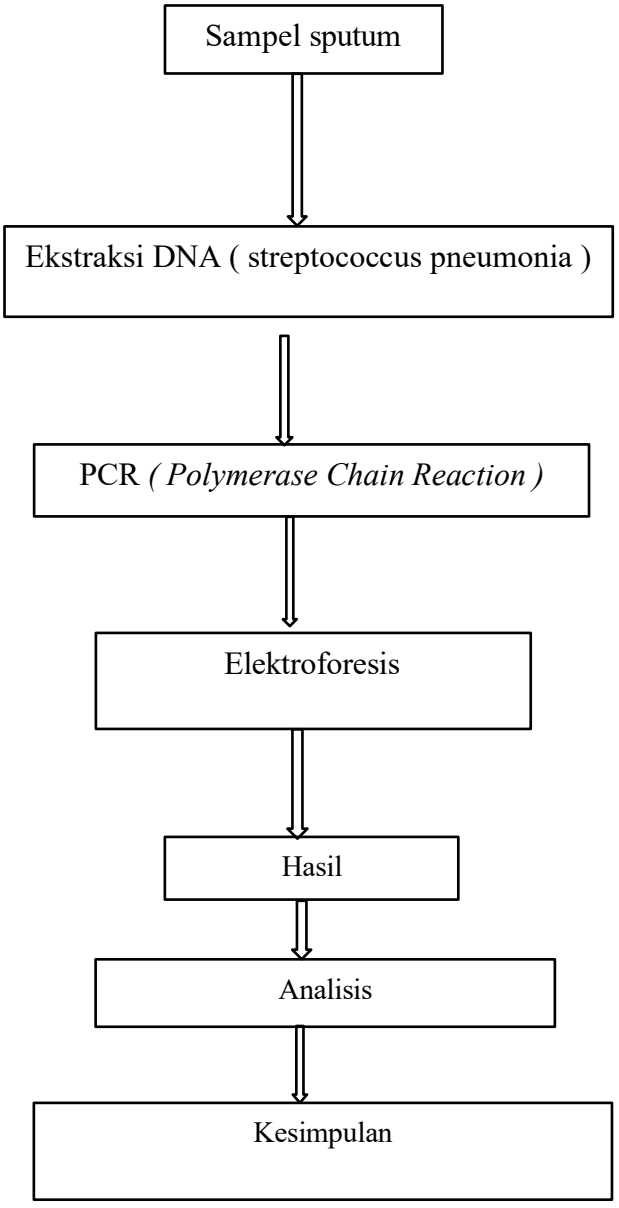
G. Interpretasi Hasil

Hasil positif Gen *pneumolysin* bakteri *S.Pneumoniae* akan terbentuk pita DNA hasil elektrosoresis dengan target 348bp.

H. Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan mengolah data yang disajikan dalam bentuk tabel dan gambar. Hasil yang diperoleh target gen *ply* adalah 438 bp

I. Alur kerja



Gambar 14. Bagan Alur Kerja

J. Etika Penelitian

Dalam Penelitian menggunakan manusia sebagai subjek sehingga dalam pelaksanaannya tidak boleh bertentangan dengan etika penelitian. Oleh karena itu, sebelum penelitian ini dilakukan, peneliti akan menentukan beberapa etika penelitian, diantaranya yaitu:

1. *Informed consent*

   Lembar persetujuan akan diberikan kepada calon responden, kemudian peneliti akan menjelaskan maksud dan tujuan peneliti sebelum calon responden menyetujui lembar persetujuan tersebut.

2. *Anonymity*

   Untuk kerahasiaan dari calon responden, peneliti tidak mencantumkan nama dari responden melainkan hanya kode atau inisial yang berbeda bagi setiap responden.

3. *Confidentiality*

   Data dan informasi dari calon responden dijamin hanya digunakan untuk kepentingan penelitian.

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Pada penelitian ini mengguunakan sampel sputum penderita infeksi saluran pernapasan bawah (ISPB) di Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat (BBKPM) Makassar. Sebanyak 16 sampel sputum yang diperoleh berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi dibawa ke Laboratorium Biologi Molekuler *Hasanuddin University Medical Research Center* (HUM-RC) untuk mendeteksi DNA *Streptocooccus pneumoniae* dengan target band 348 bp menggunakan metode PCR.

1. Distribusi responden berdasarkan jenis kelamin dan usia

Distribusi partisipan berdasarkan jenis kelamin dapat dilihat pada tabel 4.1 dari 16 sampel sputum penderita ISPB yang diperoleh dan dikelompokan berdasarkan jenis kelamin dan usia

Tabel 4.1 Karakteristik penelitian berdasarkan jenis kelamin dan usia responden

Karakteristik Responden		**Jumlah**	**Persentase**
Jenis Kelamin	Perempuan	4 orang	25%
	Laki-laki	12 orang	75%
	Total	16	100%
Usia	1-10 tahun	9 orang	56,25%
	11-20 tahun	3 orang	18,75%
	21-35 tahun	1 orang	6,25%
	>35 tahun	3 orang	18,75%
	Total	**16**	**100%**

Sumber: Data Primer

Berdasarkan tabel 4.1 tentang karakteristik penelitian berdasarkan jenis kelamin, diketahui bahwa responden yang berjenis kelamin laki-laki sebanyak 12 orang dengan persentase 75% dan responden yang berjenis kelamin Perempuan sebanyak 4 orang dengan persentase 25%. Berdasarkan tabel 4.1 tentang karakteristik penelitian berdasarkan usia, diketahui bahwa responden yang berusia 1-10 tahun sebanyak 9 orang dengan persentase 56,25%, responden berusia 11-20 tahun sebanyak 3 orang dengan persentase 18,75%, responden berusia 21-35 tahun sebanyak 1 orang dengan persentase 6,25%, dan responden berusia >35 tahun sebanyak 3 orang dengan persentase 18,75%.

2. Hasil deteksi pada sampel sputum penderita ISPB dengan metode PCR

Tabel 4. 2Hasil pemeriksaan pada sputum ISPB dengan Metode PCR

Kode sampel	Hasil
S1	(-)
S2	(+)
S3.	(-)
S4	(-)
S5	(-)
S6	(-)
S7	(-)

S8	(-)
S9	(-)
S10	(+)
S11	(-)
S12	(-)
S13	(-)
S14	(-)
S15	(-)
S16	(-)

Sumber: Data Primer

Keterangan:

S1-S16 : kode sampel
\+ : Terdeteksi gen ply
\- : Tidak terdeteksi

Berdasarkan dari hasil pemeriksaan sampel pada penderita ISPB menggunakan metode PCR, dengan primer target band 348 bp dapat dilihat pada tabel 4.2 hasil elektroforesis menunjukan bahwa dari 16 sampel yang diperiksa terrdapat 2 sampel yang positif terbentuk pita DNA pada 348 bp pada kode sampel 2 dan 10 yang menandakan bahwa sampel tersebut positif terdapat gen *PLY* bakteri *Streptococcus pneumoniae* dan terdapat 14 sampel yang tidak terbentuk pita pada target 348 bp yang menandakan hasil negatif gen *PLY Streptococcus pneumoniae*

Tabel 4. 3 Persentase Hasil Deteksi Gen PLY dengan metode PCR

Hasil	Jumlah	Persentase
Positif	2	12,5%
Negatif	14	87,5%
Total	16	100%

Sumber: Data Primer



Gambar 15 Hasil Elektroforesis dari DNA Gen *PLY S.pneumoniae*

Keterangan: S1-S16 : Sampel
M: Marker
K+: Kontrol Positif
K-: Kontrol Negatif

Hasil Elektroforesis dari DNA PCR pada sampel sputum penderita ISPB didapatkan hasil positif pada kode sampel nomor 2 dan 10 dengan terbentuknya pita pada 348 bp.

B. Pembahasan

Pada penelitian ini yang menjadi subjek adalah penderita ISPB di Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat (BBKPM) Makassar, sampel yang digunakan adalah sputum dari penderita ISPB dengan jumlah 16 sampel

berdasarkan kriteria inklusi. Pada penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi adanya gen *PLY Streptococcus pneumoniae* pada penderita ISPB tersebut.

Pneumonia dapat disebabkan oleh segudang mikroorganisme. Kecurigaan klinis dari agen penyebab tertentu berasal dari petunjuk yang diperoleh selama sejarah dan pemeriksaan fisik. Meskipun hampir semua mikroorganisme dapat menyebabkan pneumonia, infeksi bakteri, virus, jamur, dan mikobakteri tertentu paling sering terjadi pada anak-anak yang sebelumnya sehat. Usia infeksi, riwayat pajanan, faktor risiko patogen yang tidak biasa, dan riwayat imunisasi semuanya memberikan petunjuk tentang agen infeksi. Pneumonia dapat menyebar melalui beberapa cara. Virus dan bakteri yang biasa ditemukan di hidung atau tenggorokan, dapat menginfeksi paru-paru jika terhirup. Mereka juga dapat menyebar melalui tetesan udara dari batuk atau bersin. Selain itu, pneumonia dapat menyebar melalui darah. Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan pada berbagai patogen penyebab pneumonia dan cara penularannya, karena ini sangat penting untuk pengobatan dan pencegahan.

Sputum atau dahak adalah lendir kental yang berasal dari saluran napas bawah. Sputum berbeda dari air liur karena tidak mengandung gelembung busa dan bersifat lebih kental. Pemeriksaan sputum berfungsi untuk membantu menegakkan diagnosis karena sputum mengandung lendir, sel imun, dan mikroorganisme penyebab infeksi. Pemeriksaan ini juga penting untuk menghindari kesalahan dalam menentukan patogen penyebab infeksi.

Keberadaan gen *PLY* dalam sputum penderita ISPB dapat digunakan sebagai indikator diagnostik untuk mendeteksi keberadaan *Streptococcus pneumoniae*. Gen *PLY* merupakan penanda molekuler spesifik dari *Streptococcus pneumoniae*, yang berkaitan erat dengan racun yang sangat multifungsi, yang selain aktivitas hemolitik dan sitolitiknya, dapat menyebabkan piroptosis dan apoptosis, mengatur aktivitas komplemen, menginduksi sejumlah efek pensinyalan dan juga berperan dalam transmisi *S. Pneumoniae* dari inang ke inang.

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah metode yang digunakan untuk menggandakan atau mengamplifikasi fragmen DNA target secara in vitro. Metode ini sangat penting dalam diagnosis karena memungkinkan deteksi DNA spesifik secara cepat dan sensitif.

Sebelum proses PCR dilakukan, tahap awal yang harus dilakukan adalah ekstraksi DNA untuk memperoleh DNA murni dari sampel. Pada tahap ini, materi genetik dilepaskan dari inti sel. Ekstraksi DNA dilakukan pada 16 sampel menggunakan DNA Extraction Kit II yang terdiri dari beberapa reagen. Proteinase K digunakan untuk melisiskan dinding sel, ethanol absolut berfungsi mengurangi kontaminan, W1 Buffer melarutkan lemak dan protein, Wash Buffer membersihkan pengotor pada kolom, dan Elution Buffer digunakan untuk mengendapkan DNA. Inkubasi dilakukan untuk mengoptimalkan kerja reagen selama proses ekstraksi.

Tahap selanjutnya adalah amplifikasi DNA menggunakan PCR. Proses ini melibatkan penggunaan primer spesifik yang berikatan dengan ujung -5'

hingga -3' DNA target dan melalui 30-40 siklus yang terdiri dari tiga tahap: denaturasi (pemisahan untaian DNA), annealing (penempelan primer), dan ekstensi (pemanjangan untaian DNA). Komponen PCR Mix yang digunakan mencakup enzim Taq Polymerase, primer, Nuclease Free Water, dan DNA template hasil ekstraksi.

Tahap akhir adalah elektroforesis, yaitu pemisahan fragmen DNA berdasarkan ukuran menggunakan medan listrik dalam gel agarosa. DNA bermigrasi dari kutub negatif ke kutub positif. Ethidium bromide ditambahkan ke dalam gel agarose untuk memvisualisasikan pita DNA di bawah sinar UV. Marker digunakan sebagai pembanding ukuran DNA target. Visualisasi hasil dilakukan menggunakan alat *gel documentation* (gel doc).

Berdasarkan Tabel 4.1 mengenai karakteristik responden berdasarkan jenis kelamin, diketahui bahwa responden berjenis kelamin laki-laki berjumlah 12 orang (75%), sedangkan responden perempuan sebanyak 4 orang (25%). Penelitian yang dilakukan oleh Hong et al. (2023) menunjukkan bahwa laki-laki cenderung lebih rentan terhadap penyakit ISPB dibandingkan perempuan. Hal ini disebabkan karena laki-laki cenderung lebih aktif dalam melakukan berbagai aktivitas, sehingga lebih mudah mengalami kelelahan yang dapat menurunkan daya tahan tubuh. Selain itu, menurut laki-laki cenderung lebih banyak bekerja di luar ruangan dibandingkan perempuan, sehingga tingkat paparan terhadap polutan yang mengandung mikroorganisme penyebab ISPB juga lebih tinggi.

Berdasarkan Tabel 4.1 mengenai karakteristik responden berdasarkan usia, diketahui bahwa responden berusia 1–10 tahun sebanyak 9 orang

hingga -3' DNA target dan melalui 30-40 siklus yang terdiri dari tiga tahap: denaturasi (pemisahan untaian DNA), annealing (penempelan primer), dan ekstensi (pemanjangan untaian DNA). Komponen PCR Mix yang digunakan mencakup enzim Taq Polymerase, primer, Nuclease Free Water, dan DNA template hasil ekstraksi.

Tahap akhir adalah elektroforesis, yaitu pemisahan fragmen DNA berdasarkan ukuran menggunakan medan listrik dalam gel agarosa. DNA bermigrasi dari kutub negatif ke kutub positif. Ethidium bromide ditambahkan ke dalam gel agarose untuk memvisualisasikan pita DNA di bawah sinar UV. Marker digunakan sebagai pembanding ukuran DNA target. Visualisasi hasil dilakukan menggunakan alat *gel documentation* (gel doc).

Berdasarkan Tabel 4.1 mengenai karakteristik responden berdasarkan jenis kelamin, diketahui bahwa responden berjenis kelamin laki-laki berjumlah 12 orang (75%), sedangkan responden perempuan sebanyak 4 orang (25%). Penelitian yang dilakukan oleh Hong et al. (2023) menunjukkan bahwa laki-laki cenderung lebih rentan terhadap penyakit ISPB dibandingkan perempuan. Hal ini disebabkan karena laki-laki cenderung lebih aktif dalam melakukan berbagai aktivitas, sehingga lebih mudah mengalami kelelahan yang dapat menurunkan daya tahan tubuh. Selain itu, menurut laki-laki cenderung lebih banyak bekerja di luar ruangan dibandingkan perempuan, sehingga tingkat paparan terhadap polutan yang mengandung mikroorganisme penyebab ISPB juga lebih tinggi. Berdasarkan Tabel 4.1 mengenai karakteristik responden berdasarkan usia, diketahui bahwa responden berusia 1–10 tahun sebanyak 9 orang

(56,25%), usia 11–20 tahun sebanyak 3 orang (18,75%), usia 21–35 tahun sebanyak 1 orang (6,25%), dan usia >35 tahun sebanyak 3 orang (18,75%). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Hong et al. (2023), kelompok usia 1–10 tahun memiliki risiko lebih tinggi terkena penyakit ISPB. Hal ini disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain sistem kekebalan tubuh anak-anak yang belum berkembang secara optimal, sehingga lebih rentan terhadap infeksi saluran pernapasan. Selain itu, pada usia tersebut, anak-anak lebih sering berinteraksi dalam lingkungan yang padat seperti sekolah atau tempat penitipan anak, yang meningkatkan kemungkinan terpapar mikroorganisme penyebab ISPB. Faktor lain yang turut memengaruhi adalah status gizi yang belum stabil, di mana kekurangan gizi dapat memperburuk respon imun tubuh terhadap infeksi.

Berdasarkan hasil pemeriksaan sampel penderita ISPB menggunakan metode PCR dengan target primer pada pita DNA sepanjang 348 bp, sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 4.3, diketahui bahwa dari 16 sampel yang diperiksa, sebanyak 2 sampel menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya pita DNA pada posisi 348 bp. Hal ini menandakan adanya gen *PLY* dari bakteri *Streptococcus pneumoniae* pada sampel tersebut. Temuan ini sejalan dengan hasil penelitian oleh Hutabarat (2020), yang menyatakan bahwa penyebab ISPB terbanyak adalah infeksi oleh *Streptococcus pneumoniae* dengan persentase sebesar 21%. Selain itu, Hutabarat (2020) juga menyebutkan bahwa *Streptococcus pneumoniae* merupakan bakteri yang paling dominan ditemukan dalam sputum penderita ISPB.

Berdasarkan Gambar 15 yang menunjukkan hasil elektroforesis dari amplifikasi DNA PCR pada sampel sputum penderita ISPB, diketahui bahwa sebanyak 2 dari 16 sampel menunjukkan hasil positif, yang ditandai dengan terbentuknya pita DNA pada posisi 348 bp. Pita DNA tersebut mengindikasikan keberadaan gen *PLY* dari *Streptococcus pneumoniae* sebagai target amplifikasi. Namun, terlihat bahwa beberapa pita DNA tidak terlihat. Kondisi ini kemungkinan besar disebabkan oleh rendahnya konsentrasi DNA dalam sampel, sehingga jumlah fragmen DNA yang berhasil diamplifikasi tidak cukup untuk menghasilkan pita yang jelas saat divisualisasikan pada gel agarosa.

Faktor lain yang turut berkontribusi adalah adanya kontaminan dalam sampel, seperti protein, senyawa fenol, atau alkohol yang tersisa dari proses ekstraksi, yang dapat mengganggu proses amplifikasi PCR. Selain itu, pelarutan DNA yang tidak sempurna selama tahap elusi juga dapat menyebabkan rendahnya kualitas atau kuantitas DNA yang digunakan dalam reaksi PCR. Oleh karena itu, untuk mendapatkan hasil elektroforesis yang optimal, sangat penting untuk memastikan kualitas DNA yang baik, bebas kontaminan, dan dalam konsentrasi yang memadai agar pita DNA yang terbentuk dapat terlihat jelas dan tajam.

Keberhasilan PCR sangat bergantung pada sejumlah faktor teknis dan biologis yang memengaruhi efisiensi dan spesifisitas reaksi amplifikasi DNA. Salah satu faktor utama adalah kualitas dan kemurnian DNA template, karena kontaminasi seperti protein, RNA, atau senyawa penghambat lainnya dapat mengganggu kerja enzim *Taq polymerase*. Selain itu, desain primer yang

spesifik terhadap urutan target DNA sangat penting untuk memastikan bahwa hanya fragmen yang diinginkan yang diperbanyak. Faktor lain yang tak kalah penting adalah pengaturan siklus suhu dan waktu dalam mesin PCR, terutama pada tahap denaturasi, annealing, dan ekstensi. Suhu annealing yang terlalu rendah dapat menyebabkan ikatan primer yang tidak spesifik, sedangkan suhu yang terlalu tinggi dapat mencegah primer menempel dengan baik pada DNA target. Selain itu, kondisi lingkungan kerja yang bersih dan bebas kontaminasi sangat diperlukan, karena adanya DNA asing atau hasil amplifikasi sebelumnya (*amplicon*) dapat menyebabkan hasil positif palsu. Dengan mengoptimalkan semua faktor tersebut, PCR dapat menghasilkan amplifikasi DNA target secara efisien, spesifik, dan dapat direproduksi.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan dari 16 sampel sputum penderita infeksi saluran pernapasan bawah (ISPB) dapat disimpulkan bahwa terdapat dua sampel positif gen *Gen Pneumolysin (Ply) Streptococcus pneumoniae* yaitu didapatkan hasil positif dengan persentase 12,5% pada target 348 bp pada elektroforesis dengan menggunakan metode PCR.

B. Saran

Untuk peneliti selanjutnya disarankan agar mendeteksi jenis bakteri penyebab ISPB lainnya dan dengan sampel yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

Asy'ari, A. B. (2022). *Uji Aktivitas Antibiofilm Aspergillus Terreus Terhadap Biofilm Streptococcus Pneumoniae* Skripsi Jurusan Kedokteran. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.

Azzahra, H. (2023). *Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Merah (Piper Crocatum Ruiz & Pav) Terhadap Pertumbuhan Streptococcus Pneumoniae Dan Salmonella Typhi*. Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Blaschke, A. J. (2020). *Interpreting Assays For The Detection Of Streptococcus Pneumoniae*. *Clinical Infectious Diseases*, *52*.

Dinas Kesehatan (2022). *Prevalensi Kejadian Pneumonia di Kota Makassar.*

Ernawati, D, E., & Parinduri, S. K. (2022). Faktor-Faktor yang Berhubungan dengan Kejadian ISPA pada Anak Usia Dibawah Lima Tahun di Puskesmas Lebakwangi Kecamatan Cigudeg Kabupaten Bogor. *Jurnal Mahasiswa Kesehatan Masyarakat*, 5(5), 385–389.

Fadhilah, F. R., dkk (2021). Metode Analisis Produk Vaksin Yang Aman Dan Halal Berdasarkan Perspektif Bioteknologi. *International Journal Mathla'ul Anwar Of Halal Issues*, *1*(1), 64–80.

Fiqri, C. I. A., & Putri, M. P. (2024). Optimisasi Strategi Pencegahan ISPA: Pendekatan Matematika dan Perspektif Islam. *Jurnal Tadris Matematika*, *2*(1), 1–11.

Hidayat, M. (2020). *Penelitian Biomedik dan Ilmu Kedokteran*. Alfabeta, cv Bandung.

Hutabarat, M. S.,dkk. (2020). Aplikasi Teknik Polymerase Chain Reaction (PCR) dalam Mendeteksi Streptococcus Pneumoniae Menggunakan Gen Autolysin (LytA) sebagai Faktor Virulensi dari Spesimen Klinis Sputum. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*, *9*(2), 90–98.

Hong, S., Li, D., Wei, Y., Zheng, Y., Cai, J., Zheng, H., Zhang, X., Deng, Y., Han, D., Wang, J., Chen, L., Li, S., Qiu, W., Ren, M., & Zou, L. (2023). Epidemiology of respiratory pathogens in patients with acute respiratory tract infection in Xiamen, China: A retrospective survey from 2020 to 2022. *Heliyon*, *9*(11), e22302.

Idris, I., dkk (2024). Spectrum of respiratory viruses identified from SARS-CoV-2-negative human respiratory tract specimens in Watansoppeng, Indonesia. *Access Microbiology*, *6*(10).

Kemenkes. (2021). *Kendalikan berbagai Penyakit di Indonesia, Begini Cara Kemenkes dan PT Pfizer*.

Li, J., dkk (2021). Etiological and epidemiological characteristics of severe acute respiratory infection caused by multiple viruses and Mycoplasma Pneumoniae in adult patients in Jinshan, Shanghai: A pilot hospital-based surveillance study. *PLOS ONE*, *16*(3).

Maatsola, S., dkk (2020). Inhibition of pneumolysin cytotoxicity by hydrolysable tannins. *Antibiotics*, *9*(12), 1–15.

Mahrus, M. L. (2021). *Hubungan Antara Tingkat Pengetahuan Ibu Dan Status Gizi Anak Terhadap Angka Kejadian Ispa Pada Balita Di Puskesmas Jepara*. Universitas Islam Indonesia.

Muthmainnah, M., dkk (2020). Deteksi gen pneumolysin (ply) Streptococcus Pneumoniae pada Sampel Klinis Usia Lanjut secara Kultur dan PCR. *Jurnal Riset Kesehatan Poltekkes Depkes Bandung*, *12*(1), 122–126.

Purwanto, D. S., dkk (2020). Isolation and identification of Streptococcus Pneumoniae serotype 6B from a patient with bacterial meningitis infection in Jakarta, Indonesia. *Access Microbiology*, *2*(5).

Riyanto, E. O., dkk (2024). Pengaruh terapi inhalasi peppermint terhadap bersihan jalan nafas pada anak ispa usia prasekolah di puskesmas karanganyar. *Jurnal Kesehatan Unggul Gemilang*, *8*(1), 7–15..

Rohmah, J., dkk (2022). Antibacterial Activity of Rhizome Extracts of Zingiber zerumbet (L.) Roscoeex Sm. Against Streptococcus Pneumoniae. *Journal Procedia of Social Sciences and Humanities*, *0672*(1), 1007–1016.

Safitri, H. I. (2023). *Hubungan Faktor Lingkungan Dengan Kejadian Ispa Pada Balita*. ITSKes Insan Cendekia Medika Jombang.

Varghese, J. S., & Muhammad, T. (2023). Prevalence, potential determinants, and treatment-seeking behavior of acute respiratory infection among children under age five in India: Findings from the National Family Health Survey, 2019-21. *BMC Pulmonary Medicine*, *23*(1), 195.

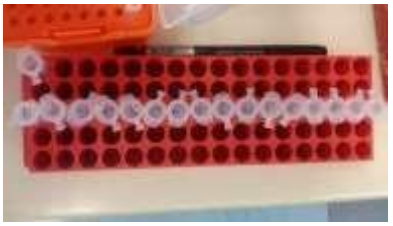
World Health Organization (WHO). (2022). Data prevalensi Pneumonia di Dunia.

Zolanda, A., dkk (2021). Faktor Risiko Kejadian Infeksi Saluran Pernafasan Akut Pada Balita Di Indonesia. *17*(1), 73–80.

LAMPIRAN
MASTER DATA PENELITIAN

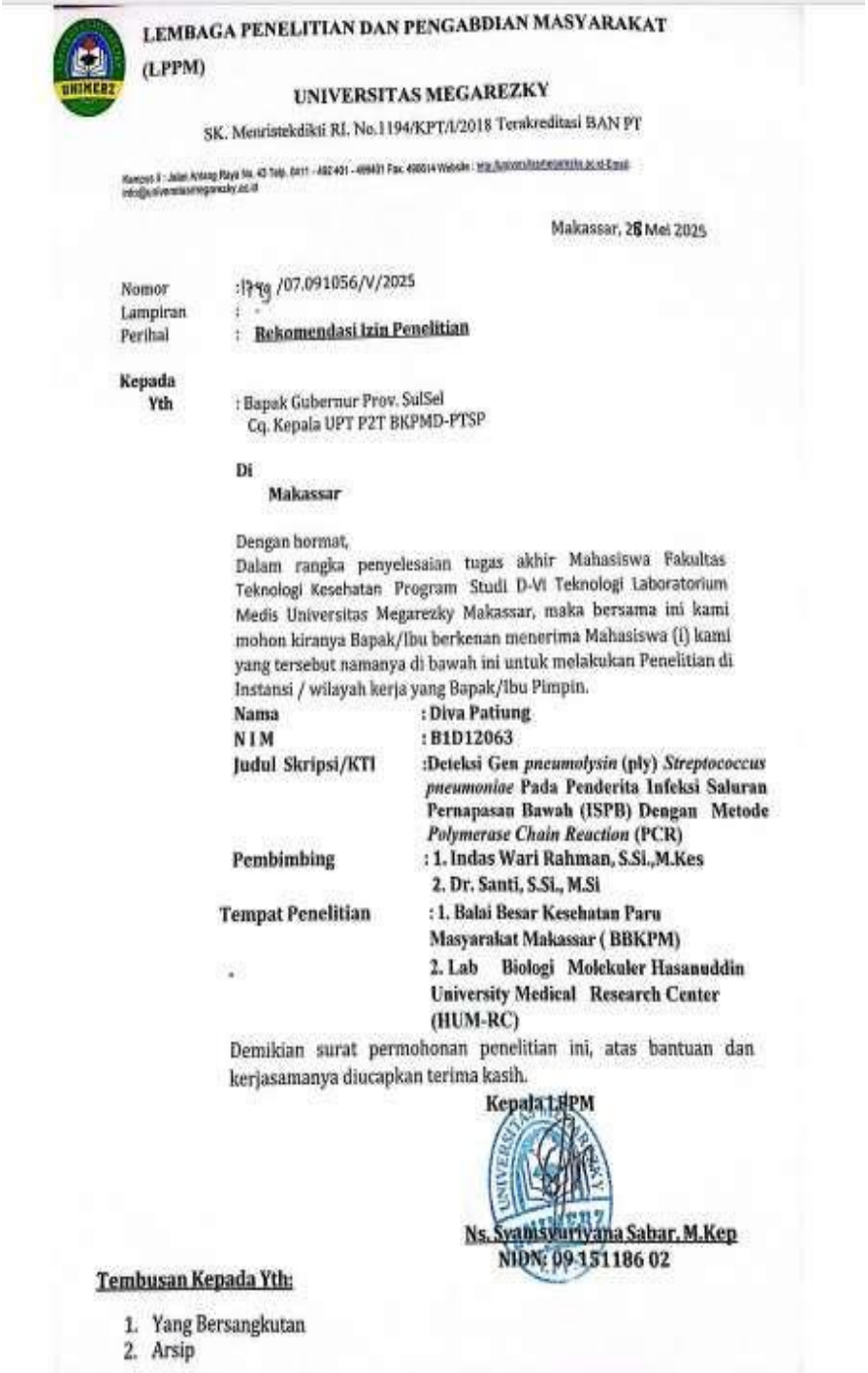
No	Data Partisipan	Jenis Kelamin	Usia	Riwayat Penyakit ISPB	Riwayat merokok	Riwayat Antiniotik
1.	JK	Laki-laki	25 tahun	Bronkitis	Ya	Tidak konsumsi
2.	AA	Laki-laki	15 tahun	Pneumonia	Tidak	Tidak konsumsi
3.	MA	Laki-laki	44 tahun	Bronkitis	Ya	Tidak konsumsi
4.	MY	Perempuan	39 tahun	Bronkitis	Tidak	Tidak konsumsi
5.	NL	Laki-laki	50 tahun	Bronkitis	Ya	Tidak konsumsi
6.	JC	Perempuan	10 tahun	Bronkitis	Tidak	Tidak konsumsi
7.	MR	Laki-laki	10 tahun	Bronkitis	Tidak	Tidak konsumsi
8.	NK	Laki-laki	6 tahun	Bronkitis	Tidak	Tidak konsumsi
9.	YJ	Laki-laki	5 tahun	Bronkiolitis	Tidak	Tidak konsumsi
10.	RR	Laki-laki	5 tahun	Pneumonia	Tidak	Tidak konsumsi
11.	RA	Laki-laki	7 tahun	Bronkitis	Tidak	Tidak konsumsi
12.	AR	Laki-laki	10 tahun	Bronkiolitis	Tidak	Tidak konsumsi
13.	SR	Laki-laki	8 tahun	Bronkitis	Tidak	Tidak konsumsi
14.	BS	Laki-laki	8 tahun	Bronkiolitis	Tidak	Tidak konsumsi
15.	AP	Perempuan	20 tahun	Bronkitis	Tidak	Tidak konsumsi
16.	IH	Perempuan	10 tahun	Bronkitis	Tidak	Tidak konsumsi

Lampiran 1 Dokumentasi Penelitian

 Reagen Ekstraksi DNA	 Preparasi sampel
 Sampel dimasukkan ke dalam waterbath	 Proses ekstraksi DNA sampel
 Proses inkubasi pada suhu 60°	 Sampel yang telah di ekstraksi

 Pembuatan Mix PCR	 Proses PCR
 Pembuatan Gel Agarose 2%	 Proses elektroforesis
 Visualisasi dengan gel doc	 Hasil pembacaan

Lampiran 2 Rekomendasi Izin Penelitian



LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN MASYARAKAT
(LPPM)
UNIVERSITAS MEGAREZKY
SK. Menristekdikti RI. No.1194/KPT/I/2018 Terakreditasi BAN PT

Kampus I : Jalan Antang Raya No. 43 Telp. 0411 - 452 401 - 459421 Fax. 458014 Website : http://lppm.unimerz.ac.id Email : info@universitasmegarezky.ac.id

Makassar, 28 Mei 2025

Nomor : 179 /07.091056/V/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 Fakultas Teknologi Kesehatan Program Studi D-VI 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	**: Diva Patiung**
N I M	**: B1D12063**
Judul Skripsi/KTI	**:Deteksi Gen *pneumolysin* (ply) *Streptococcus pneumoniae* Pada Penderita Infeksi Saluran Pernapasan Bawah (ISPB) Dengan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)**
Pembimbing	**: 1. Indas Wari Rahman, S.Si.,M.Kes** **2. Dr. Santi, S.Si., M.Si**
Tempat Penelitian	**: 1. Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat Makassar (BBKPM)** **2. Lab Biologi Molekuler Hasanuddin University Medical 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 3 Surat Ijin Penelitian

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

Nomor	: **12317/S.01/PTSP/2025**	**Kepada Yth.**
Lampiran	: -	1. Kepala Balai Besar Kesehatan Paru Masyarakat Makassar
Perihal	: **Izin penelitian**	2. Rektor Univ. Hasanuddin Makassar
		di- **Tempat**

Berdasarkan surat Kepala LPPM Univ. Megarezky Makassar Nomor : 1749/07.091056/V/2025 tanggal 28 Mei 2025 perihal tersebut diatas, mahasiswa/peneliti dibawah ini:

N a m a	: **DIVA PATIUNG**
Nomor Pokok	: B1D121063
Program Studi	: Teknologi Laboratorium Medis
Pekerjaan/Lembaga	: Mahasiswa (D4)
Alamat	: Jl. Antang Raya No. 43 Makassar

PROVINSI SULAWESI SELATAN

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

" DETEKSI GEN PNEUMOLYSIN (PLY) Streptococcus pneumoniae PADA PASIEN INFEKSI SALURAN PERNAPASAN BAWAH (ISPB) DENGAN METODE POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR) "

Yang akan dilaksanakan dari : Tgl. ***09 Juni s/d 09 Juli 2025***

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

Demikian Surat Keterangan ini diberikan agar dipergunakan sebagaimana mestinya.

Diterbitkan di Makassar
Pada Tanggal 06 Juni 2025

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

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

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

Lampiran 4 Surat Pengantar Penelitian

HUM-RC	ADMINISTRASI	FORMULIR 1
	Nomor : 257/06/FR1/2025	Tanggal : 14 Juni 2025
SURAT PENGANTAR PENELITIAN		

Kepada Yth.
Pembimbing/pendamping,
Ibu Marina Binti Ali,

Dengan ini menerangkan bahwa peneliti/mahasiswa berikut ini :

Nama	: Diva Patiung
NIM	: B1D121063
Institusi	: DIV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Megarezky

Akan melakukan pengambilan data/ analisa bahan hayati :

Pada tanggal	: 14 Juni 2025 s/d Selesai
Jumlah subjek	: ± sampel sputum
Jenis data	: Data Primer

Untuk penelitian dengan judul :
"Deteksi Gen Pneumolysin (PLY) Streptococcus Pneumoniae Pada Pasien Infeksi Saluran Pernapasan Bawah (ISPB)"

Harap dilakukan pembimbingan dan pendampingan seperlunya. Terima Kasih.

Staf Administrasi,

HUM-RC
science for a better future

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

Lampiran 5 Hasil Turnitin



UNIMERZ LPPM

Diva Patiung -B1D121063 - Diva Patiung.docx

TURNITIN_FATELKES_DIVTLM1

LPPM

LLDIKTI IX Turnitin Consortium Part III

Document Details

Submission ID
trn:oid:::1:3297861006

Submission Date
Jul 18, 2025, 2:20 PM GMT+7

Download Date
Jul 18, 2025, 2:48 PM GMT+7

File Name
Diva_Patiung_-B1D121063_-_Diva_Patiung.docx

File Size
4.0 MB

86 Pages

11,107 Words

70,899 Characters

turnitin Page 1 of 96 - Cover Page Submission ID trn:oid:::1:3297861006

turnitin Page 2 of 96 - Integrity Overview Submission ID trn:oid:::1:3297861006

21% Overall Similarity

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

Filtered from the Report

- Bibliography
- Quoted Text
- Small Matches (less than 8 words)

Top Sources

19% Internet sources
6% Publications
9% Submitted works (Student Papers)

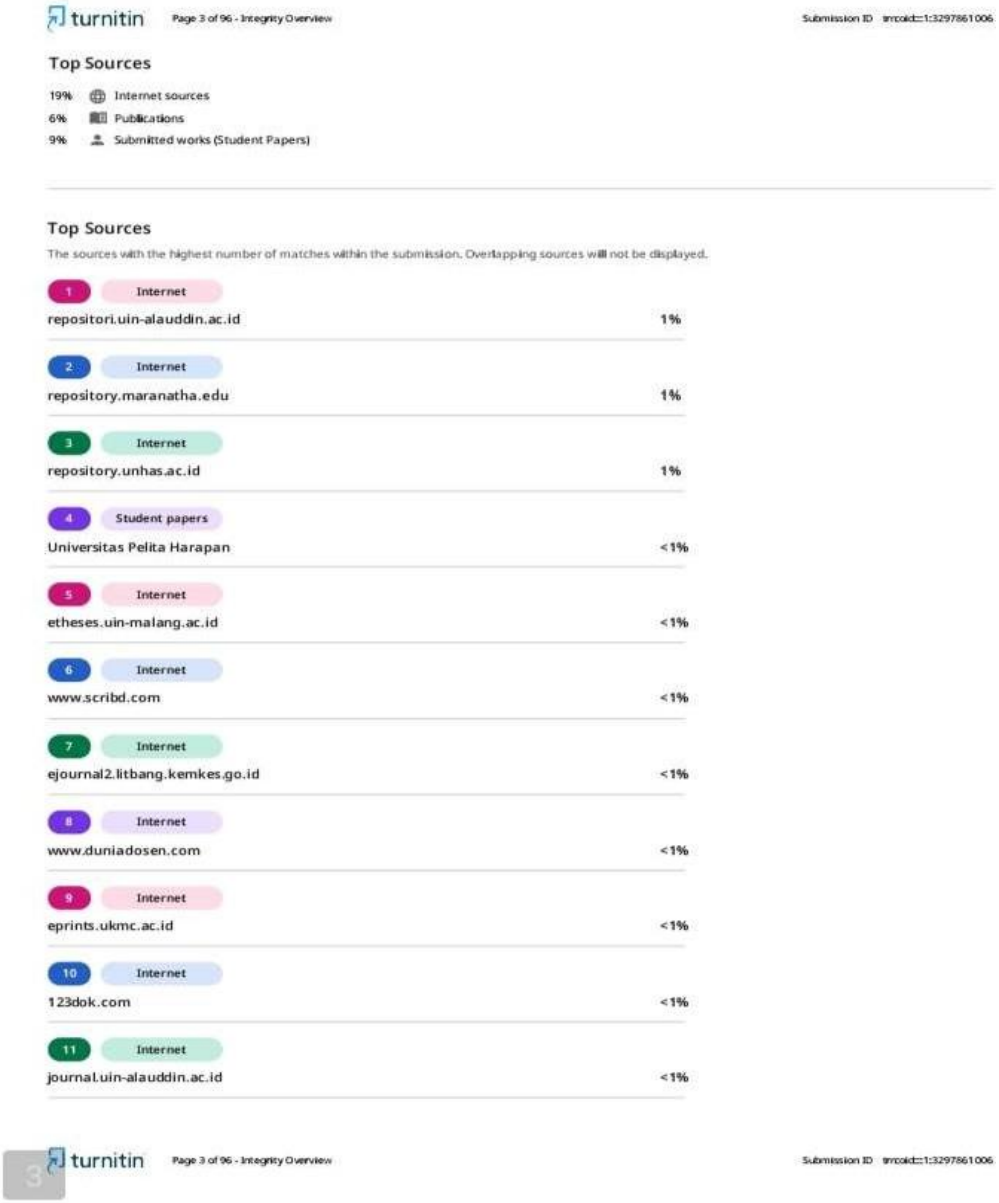
Integrity Flags

0 Integrity Flags for Review

No suspicious text manipulations found.

Our system's algorithms look deeply at a document for any inconsistencies that would set it apart from a normal submission. If we notice something strange, we flag it for you to review.

A Flag is not necessarily an indicator of a problem. However, we'd recommend you focus your attention there for further review.



turnitin Page 3 of 96 - Integrity Overview Submission ID trn:oid:::1:3297861006

Top Sources

19% Internet sources
6% Publications
9% Submitted works (Student Papers)

Top Sources

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

1	Internet	
repositori.uin-alauddin.ac.id		1%
2	Internet	
repository.maranatha.edu		1%
3	Internet	
repository.unhas.ac.id		1%
4	Student papers	
Universitas Pelita Harapan		<1%
5	Internet	
etheses.uin-malang.ac.id		<1%
6	Internet	
www.scribd.com		<1%
7	Internet	
ejournal2.litbang.kemkes.go.id		<1%
8	Internet	
www.duniadosen.com		<1%
9	Internet	
eprints.ukmc.ac.id		<1%
10	Internet	
123dok.com		<1%
11	Internet	
journal.uin-alauddin.ac.id		<1%

turnitin Page 3 of 96 - Integrity Overview Submission ID trn:oid:::1:3297861006

12 Internet
ejournal.uika-bogor.ac.id <1%

13 Student papers
Badan PPSDM Kesehatan Kementerian Kesehatan <1%

14 Internet
eprints.stikes-aisyiyahbandung.ac.id <1%

15 Internet
repository.itekes-bali.ac.id <1%

16 Internet
eprints.ummetro.ac.id <1%

17 Student papers
Forum Perpustakaan Perguruan Tinggi Indonesia Jawa Tengah <1%

18 Internet
digilib.unila.ac.id <1%

19 Publication
Ulfa Saputri Ulfa Saputri, Maria Ludya Pulung, Achmad Taher. "POLIMORFISME P... <1%

20 Internet
docplayer.info <1%

21 Internet
eprints.upnyk.ac.id <1%

22 Internet
repository.ub.ac.id <1%

23 Publication
Anita Anita, Aprina Aprina, Titi Astuti, Amrul Hasan, Haris Kadarusman, Maria Tu... <1%

24 Internet
stikespanakkukang.ac.id <1%

25 Internet
core.ac.uk <1%

26	Internet	
repository.usd.ac.id		<1%
27	Publication	
Tgk Adil Parisi, Tahara Dilla Santi, Riza Septiani. "Risiko kualitas udara dalam rum...		<1%
28	Student papers	
Universitas Islam Indonesia		<1%
29	Internet	
eprints.undip.ac.id		<1%
30	Student papers	
Sriwijaya University		<1%
31	Student papers	
Universitas Jenderal Soedirman		<1%
32	Internet	
adoc.pub		<1%
33	Student papers	
Universitas PGRI Palembang		<1%
34	Internet	
repository.unbl.ac.id		<1%
35	Internet	
etd.repository.ugm.ac.id		<1%
36	Internet	
e-campus.iainbukittinggi.ac.id		<1%
37	Student papers	
fkunisba		<1%
38	Internet	
id.scribd.com		<1%
39	Internet	
smujo.id		<1%

40	Student papers	
Gachon University		<1%
41	Internet	
etd.umy.ac.id		<1%
42	Internet	
repository.poltekkes-denpasar.ac.id		<1%
43	Internet	
repository.unibos.ac.id		<1%
44	Internet	
wwwfitry.blogspot.com		<1%
45	Student papers	
LL DIKTI IX Turnitin Consortium Part V		<1%
46	Student papers	
Universitas Binawan		<1%
47	Internet	
fathinashrullah.blogspot.com		<1%
48	Internet	
jurnal.upnyk.ac.id		<1%
49	Internet	
text-id.123dok.com		<1%
50	Student papers	
University of Edinburgh		<1%
51	Internet	
bblkmakassar.com		<1%
52	Student papers	
Konsorsium Perguruan Tinggi Swasta Indonesia II		<1%
53	Publication	
Stormy Vertygo, Fainmarinat S. Inabuy2, Alfredo Kono, Ermi Ndoen, Dominggus E...		<1%

54	Internet	
ejournal.seaninstitute.or.id		<1%
55	Student papers	
Institut Agama Islam Al-Zaytun Indonesia		<1%
56	Publication	
Mochamad Nurdin, M. Abubakar Sidik Effendi. "Karakteristik dan Kinerja Penyulu...		<1%
57	Student papers	
Universitas Brawijaya		<1%
58	Student papers	
Universitas Indonesia		<1%
59	Internet	
unimerz.ac.id		<1%
60	Publication	
Rizky Amalia Prima Putri. "Providing chest physiotherapy and pursed lip breathin...		<1%
61	Internet	
dspace.vutbr.cz		<1%
62	Internet	
e-repository.perpus.iainsalatiga.ac.id		<1%
63	Internet	
fr.scribd.com		<1%
64	Internet	
journal-old.unhas.ac.id		<1%
65	Internet	
journal.iainkudus.ac.id		<1%
66	Internet	
repository.poltekkes-tjk.ac.id		<1%
67	Internet	
talenta.usu.ac.id		<1%

68	Publication	
Sintia Seftiya Ningrum, Shirly Gunawan. "Gambaran Ketepatan Penggunaan Anti...		<1%
69	Internet	
diedysbloggexperiment.blogspot.com		<1%
70	Internet	
docobook.com		<1%
71	Internet	
eprints.uns.ac.id		<1%
72	Internet	
idoc.pub		<1%
73	Internet	
journal.uinmataram.ac.id		<1%
74	Internet	
pdffox.com		<1%
75	Internet	
pt.scribd.com		<1%
76	Internet	
repositori.umsu.ac.id		<1%
77	Internet	
repository.ipb.ac.id		<1%
78	Internet	
repository.radenintan.ac.id		<1%
79	Internet	
www.sustainability.birlacarbon.com		<1%
80	Internet	
campuspedia.id		<1%
81	Internet	
e-journal.unair.ac.id		<1%

82	Internet	
edoc.site		<1%
83	Internet	
eprints.unm.ac.id		<1%
84	Internet	
eprints.uny.ac.id		<1%
85	Internet	
id.123dok.com		<1%
86	Internet	
id.berita.yahoo.com		<1%
87	Internet	
lib.ui.ac.id		<1%
88	Internet	
repository.iainbengkulu.ac.id		<1%
89	Internet	
repository.poltekeskupang.ac.id		<1%
90	Internet	
tr-ex.me		<1%
91	Internet	
www.cnbcindonesia.com		<1%
92	Publication	
Aryanti Wardiyah Wardiyah, Riska Wandini Wandini, Reka Putri Rahmawati. "Impl...		<1%
93	Internet	
biologi-hayati.blogspot.com		<1%
94	Internet	
bmcplantbiol.biomedcentral.com		<1%
95	Internet	
eprints.ums.ac.id		<1%

96 Internet
es.scribd.com <1%

97 Internet
journal.ipb.ac.id <1%

98 Internet
repository.its.ac.id <1%

99 Internet
repository.unimus.ac.id <1%

100 Internet
riset.unisma.ac.id <1%

101 Internet
www.alodokter.com <1%

102 Internet
www.ciputraentrepreneurship.com <1%

103 Internet
www.coursehero.com <1%

104 Internet
www.grafiati.com <1%

105 Internet
www.liputan6.com <1%