

SKRIPSI

Deteksi Metisillin Resisten Staphylococcus aureus (MRSA) dan Vankomisin Resisten Staphylococcus aureus (VRSA) Pada Pasien Infeksi Nosokomial di Rumah Sakit Ibnu Sina



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 Makassar

MARIA ERMELINDA FONO

B1D121124

PROGRAM STUDI DIV TEKNOLOGI LABORATOIUM MEDIS

FAKULTAS TEKNOLOGI KESEHATAN

UNIVERSITAS MEGAREZKY

MAKASSAR

2025

HALAMAN JUDUL

SKRIPSI

Deteksi *Metisillin Resisten Staphylococcus aureus* (MRSA) dan *Vankomisin Resisten Staphylococcus aureus* (VRSA) Pada Pasien Infeksi Nosokomial di Rumah Sakit Ibnu Sina

MARIA ERMELINDA FONO

B1D121124

Dibimbing Oleh

Pembimbing I

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

Pembimbing II

Andi Meinar Dwi Rantisari, SKM.,M.Kes

Penguji

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

PROGRAM STUDI DIV TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS

FAKULTAS TEKNOLOGI KESEHATAN

UNIVERSITAS MEGAREZKY

MAKASSAR

2025

HALAMAN PENGESAHAN

HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

Deteksi *Metisillin Resisten Staphylococcus aureus* (MRSA) dan *Vankomisin Resisten Staphylococcus aureus* (VRSA) Pada Pasien Infeksi Nosokomial di Rumah Sakit Ibnu Sina

Disusun dan diajukan oleh:

Maria Ermelinda Fono
Nomor Induk Mahasiswa BID121124

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi

Pada tanggal 21 Juli 2025

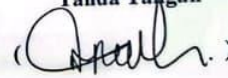

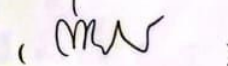
Dan di nyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Tim Penguji

1. Dr.Nirmawati Angria, S.Si.,M.Kes
2. Indas Wari Rahman, S.Si.,M.Kes
3. Andi Meinar Dwi Rantisari, SKM.,M.Kes

Tanda Tangan

()
()
()

Mengetahui,

Dekan
Fakultas Teknologi Kesehatan



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



Ketua Program Studi
Teknologi Laboratorium Medis



Dr. Nirmawati Angria, S.Si., M.Kes
NUPTK : 6950765666230332

HALA MAN PERSEMBAHAN

Segala puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkatnya kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini tepat pada waktunya. Skripsi ini penulis persembahkan untuk :

1. Bapak tercinta, Emanuel Balu, beliau memang tidak sempat merasakan pendidikan sampai bangku perkuliahan, namun beliau dapat mendidik, mendoakan memberikan semangat dan motivasi tiada henti kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikannya sampai sarjana.
2. Mama tersayang, Imelda Wea Longga. Terima kasih sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada beliau atas segala bentuk bantuan, dukungan, semangat dan doa yang diberikan selama ini, terima kasih atas nasehat yang diberikan. Mama menjadi pengingat dan penguat yang paling hebat. Terima kasih mama.
3. Terima kasih buat semua keluarga besar khususnya Bapak Pilipus Waso Longga, Mama Kresensia Marice, Bapak Romo Frans Fao yang selalu memberikan semangat, doa dan motivasi untuk saya.
4. Dosen pembimbing saya, Ibu Indas Wari Rahman, S. Si.,M.Kes dan Ibu Andi Meinar Dwi Rantisari, SKM.,M.Kes yang telah memberikan arahan dan koreksi sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
5. Semua dosen yang telah mengajarkan dan menidik saya dengan penuh rasa sabar dan ikhlas. Sehingga ilmu yang saya dapatkan di bangku perkuliahan dapat menjadi ilmu yang bermanfaat untuk banyak orang.
6. Terima kasih untuk teman-teman DIV Teknologi Laboratorium Medis khususnya kelas 2021 C terima kasih selalu memberikan motivasi, semangat, dukungan tanpa henti sehingga secara tidak langsung membantu saya dalam menyelesaikan skripsi ini.
7. Untuk diriku sendiri Maria Ermelinda Fono. Terima kasih sudah bertahan sejauh ini. Skripsi ini bukan hanya sekedar kertas biasa tapi bukti bahwa kamu mampu meski kadang tak yakin sama diri sendiri dari ketidakpastian.

Karya ini adalah pelukan sunyi dari seorang pejuang biasa yang selalu berharap akan sampai juga tepat waktu.

SURAT KETERANGAN TURNITIN

BAGI PENELITIAN DAN PENGABDIAN MASYARAKAT (LPPM)

UNIVERSITAS MEGAREZKY

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

Kampus II : Jalan Antang Raya No 43 Telp. 0411 - 492 401 - 496401 Fax. 496614 Website : <http://www.universtasmegarezky.ac.id> Email : info@universtasmegarezky.ac.id

KETERANGAN LOLOS UJI TURNITIN

No. 347 /T/07.091056/VI /2025

Yang bertanda tangan di bawah ini,

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

NIDN : 0915118602

Jabatan : Ketua LPPM

Menyatakan bahwa :

Nama : Maria Ermelinda Fono

NIM : 81D121124

Prodi : D4 Teknologi Laboratorium Medis

Judul Skripsi/KTI : DETEKSI *Staphylococcus aureus* YANG RESISTEN *Metisillin* (MRSA) DAN *Vankomisin* (VRSA) PADA PASIEN ICU dengan Metode PCR

Telah melalui uji *similarity* dengan software *Turnitin* dan dinyatakan lolos dengan persentase 24% sesuai bukti terlampir.

Demikian Surat Keterangan ini di buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Makassar, 16 Juli 2025



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

MOTTO

“ TO GOD BE THE GLORY’

‘WALK BY FAITH’

“Di rendahkan di mata manusia, ditingikan dimata Tuhan”

“Aku memulai dengan Nama Tuhan Yesus dan dengan penuh keyakinan mengakhiri dengan kata amin”

“Jangan Takut, Percaya saja”

(Markus 5:36)

“Aku ditolak dengan hebat sampai jatuh, tetapi Tuhan Menolong aku”

(Mazmur 118:13)

“Diberkatilah orang yang mengandalkan Tuhan, yang menaruh harapannya pada Tuhan”

(Yeremia 17:7)

“Aku tahu, bahwa engkau sanggup melakukan segala sesuatu dan tidak ada rencana-mu yang gagal”

(Ayub 42:2)

“Hendaklah kamu berakar dalam dia dan dibangun di atas Dia, hendaklah kamu bertambah teguh dalam iman yang telah diakarkan kepadamu, dan hendaklah hatimu melimpah dengan syukur”

(Kolose2:7)

CIRRICULUM VITAE



MARIA ERMELINDA FONO

B1D121124

Program Studi : DIV Teknologi Laboratorium Medis

NIM : B1D121124

TTL : Mengge, 18 Januari 2002

Suku/ Bangsa : Bajawa/Indonesia

Agama : Khatolik

Alamat : Menge Desa Inelika

Orang Tua :

a. Ayah : Emanuel Balu

b. Ibu : Imelda Wea Longa

Riwayat Pendidikan :

a. SD : SDN XXV WAILITI

b. SMP : Bina-Wirawan Maumere

c. SMA : SMA Negeri 2 Maumere

Prinsip Hidup : Berusaha dengan sungguh-sungguh untuk mencapai tujuan

Pesan dan Kesen : Melanjutkan Pendidikan di Universitas Megarezky Makassar

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 Methicilin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) dan Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus (VRSA) Pada Pasien Infeksi Nosokomial di Rumah Sakit Ibnu Sina”

Penyusunan karya tulis ini merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan DIV Teknologi Laboratorium Medis, 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 Emanuel Balu dan Imelda Wea Longga, 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, S.H., M.H selaku pembina yayasan Pendidikan Islam Universitas Megarezky 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 Megarezky Makassar**, atas dedikasi dan kontribusi luar biasa dalam mendirikan lembaga pendidikan yang menjadi wadah pengembangan ilmu dan karakter.
3. **Bapak Moch. Noer Alim Qalby, S.H., LLM sebagai ketua Yayasan Pendidikan Islam Megarezky Makassar**, atas dukungan dan kebijakan

strategis yang memfasilitasi proses pendidikan dan penelitian secara berkelanjutan.

4. **Bapak Prof Dr.Anwar Ramli,S.E.,M.Si sebagai Rektor Universitas Megarezky**, atas motivasi dan arahannya dalam membangun budaya akademik yang unggul dan berdaya saing.
5. **Bapak / Ibu**
6. **Ibu Dr.Nirmawati Angria, S.Si.,M.Kes sebagai ketua program studi DIV Teknologi Laboratorium Medis**, atas bimbingan akademik yang berkelanjutan dan inspiratif.
7. **Dosen Pembimbing Indas Wari Rahman, S.Si.,M.Kes dan Andi Meinar Dwi Rantisari, SKM.,M.Kes**, yang telah memberikan arahan, saran dan evaluasi dalam penyusunan karya tulis ini dengan penuh kesabaran dan keikhlasan.
8. **Bapak / Ibu**
9. **Seluruh Dosen dan Staf Akademik Universitas Megarezky**, atas ilmu, perhatian, dan pelayanan yang diberikan selama proses studi.
10. ?
11. **Teman-teman seperjuangan dan semua pihak** yang turut membantu secara langsung maupun tidak langsung dalam penyusunan karya ilmiah ini.

Makassar, 2025

Penulis

ABSTRAK

Maria Ermelinda Fono. B1D121124. Deteksi *Metisillin Resisten Staphylococcus aureus* (MRSA) dan *Vankomisin Resisten Staphylococcus aureus* (VRSA) Pada Pasien Infeksi Nosokomial di Rumah Sakit Ibnu Sina. Dibimbing oleh Indas Wari Rahman dan Andi Meinari Dwi Rantisari.

Infeksi nosokomial adalah infeksi yang terjadi di rumah sakit akibat adanya agen infeksi bakteri yang terjadi di dalam rumah sakit. Bakteri yang umum menyebabkan infeksi nosokomial adalah *Staphylococcus aureus*. *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) adalah strain dari *Staphylococcus aureus* yang telah mengalami resistensi antibiotik akibat terapi antibiotik yang tidak rasional sedangkan *Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus* (VRSA) adalah bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah mengembangkan resistensi terhadap antibiotik vankomisin. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan *Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus* (VRSA) pada sampel swab nasofaring pasien ICU berjumlah 10 responden menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Berdasarkan hasil penelitian ditemukan semua sampel positif terdapat pita pada target 147 bp untuk MRSA, namun tidak ditemukan pita pada target 673 bp untuk VRSA. Sehingga dapat disimpulkan bahwa subjek penelitian pasien infeksi nosokomial di Rumah Sakit Ibnu Sina terdeteksi MRSA namun tidak terdeteksi VRSA pada periode penelitian ini.

Kata Kunci : Infeksi Nosokomial, MRSA, VRSA, PCR

ABSTRACT

ABSTRACT

Maria Ermelinda Fono (BID121124). Detection of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) and Vancomycin-Resistant Staphylococcus aureus (VRSA) in Nosocomial Infection Patients at Ibnu Sina Hospital. Supervised by Indas Wari Rahman and Andi Meinur Dwi Rantisari.

Nosocomial infections are infections that occur in hospitals due to bacterial infectious agents acquired within the hospital environment. One of the most common bacteria causing nosocomial infections is *Staphylococcus aureus*. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is a strain of *S. aureus* that has developed antibiotic resistance due to irrational antibiotic use, while Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA) refers to *S. aureus* that has developed resistance to the antibiotic vancomycin.

This study aimed to detect Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA) in nasopharyngeal swab samples from 10 Intensive Care Unit (ICU) patients using the Polymerase Chain Reaction (PCR) method.

The results showed that all samples tested positive for MRSA, indicated by the presence of DNA bands at the 147 bp target region. However, no bands were found at the 673 bp target region for VRSA.

It can be concluded that among the nosocomial infection patients at Ibnu Sina Hospital, MRSA was detected, whereas VRSA was not detected during the study period.

Keywords: Nosocomial Infection, MRSA, VRSA, PCR

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
SURAT KETERANGAN LOLOS UJI TURNITIN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	ix
MOTTO	xi
CURRICULUM VITAE.....	xii
KATA PENGANTAR	
ABSTRAK	
ABSTRACK	
DAFTAR ISI	
DAFTAR TABEL	
DAFTAR GAMBAR	
DAFTAR SINGKATAN	
DAFTAR LAMPIRAN	
BAB 1 PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	6
C. Tujuan Penelitian.....	6
D. Manfaat Penelitian.....	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
A. Tinjauan Umum Infeksi Nosokomial.....	8
B. Tinjauan Umum <i>Staphylococcus aureus</i>	14
C. Tinjauan Umum MRSA dan VRSA.....	22
D. Tinjauan Umum <i>Polymerase Chain Reaction</i>	37

E. Kerangka Teori	38
F. Kerangka Konsep.....	38
G. Definisi Operasional.....	33
BAB III METODE PENELITIAN	41
A. Jenis Penelitian.....	41
B. Lokasi dan Waktu Penelitian.....	41
C. Populasi dan Sampel	41
D. Kriteria Sampel	42
E. Instrumen Penelitian dan Cara Penelitian.....	37
F. Teknik Pengolahan Data.....	46
G. Alur Penelitian	47
H. Etika Penelitian	48
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	46
A. Hasil Penelitan	46
B. Pembahasan	51
BAB V PENUTUP.....	60
A. Kesimpulan	60
B. Saran.....	60
DAFTAR PUSTAKA.....	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Mikroskopik <i>Staphylococcus aureus</i> pada pewarnaan Gram.....	15
Gambar 2 Mekanisme Resistensi Bakteri terhadap Antibiotik	19
Gambar 3 Hasil visualisasi elektroforesis gen <i>mecA</i>	19
Gambar 4 Proses dan Komponen PCR.....	26
Gambar 5 Perangkat Elektroforesis	31
Gambar 6 Kerangka Teori	33
Gambar 7 Kerangka Konsep	34
Gambar 8 Alur Penelitian	42

DAFTAR SINGKATAN

B-Laktamase	: Beta-Laktase
Bp	: Base Pair
CA-MRSA	: <i>Community acquired Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i>
CLABSI	: <i>Central Lineassociated infection</i>
DNA	: <i>Dioxyribo Nucleic Acid</i>
dNTP	: <i>Deoksiribonukleotida</i>
dsDNA	: DNA beruntai ganda
EtBr	: <i>Ethidium Bromide</i>
HAIS	: <i>Healthcare Assoociated Infections</i>
HA-MRSA	: <i>Hospital acquired Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i>
HUM-RC	: <i>Hasanuddin Medical Research Center</i>
IADP	: Infeksi aliran darah primer
ICU	: <i>Intensive Care Unit</i>
IDO	: Infeksi daerah operasi
ISK	: Infeksi Saluran Kemih
MIC	: <i>Minimum Inhibitory Concentration</i>
MRSA	: <i>Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i>
PBP2a	: Protein reseptor Penicillin Binding protein 2a
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
VAP	: Pneumonia terkait ventilator
VRSA	: <i>Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus</i>
VISA	: <i>Vancomycin intermediate Staphylococcus aureus</i>

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Infeksi nosokomial adalah infeksi yang terjadi di rumah sakit akibat adanya bakteri yang masuk ke dalam tubuh manusia atau pasien melalui kulit, sistem pencernaan, pernapasan dan pembuluh darah. Infeksi nosokomial terjadi pada orang yang terinfeksi, staf medis, dan siapa saja yang mengunjungi rumah sakit. Salah satu infeksi nosokomial paling umum yang terjadi di rumah sakit terjadi di unit perawatan intensif. Unit perawatan (ICU) tempat dokter menangani penyakit kritis. Sekitar 1 dari 10 pasien rawat inap memiliki kasus di rumah sakit. Infeksi ini terjadi setidaknya 3 x 24 jam setelah dimulainya pengobatan (Konoralma, 2019).

Di seluruh dunia, pasien rawat inap mempunyai insiden infeksi nosokomial sebesar 9%, atau kurang dari 1,40 juta kasus. Mediterania Timur dan Asia Tenggara memiliki tingkat infeksi nosokomial tertinggi (11,80% dan 10). Sebaliknya, masing-masing wilayah tertentu di pasifik Barat dan Eropa adalah 7,70% dan 9% (Sinulingga & Malinti 2021).

Tingginya angka infeksi nosokomial menyebabkan rendahnya kualitas pelayanan kesehatan. Rata-rata frekuensi infeksi nosokomial di negara-negara, seperti indonesia, adalah 9,1%. Angka infeksi nosokomial di indonesia adalah 15,74% jauh lebih tinggi dibandingkan angka infeksi nosokomial di negara maju yang berkisar antara 4,8 hingga 15,5%. Tingkat infeksi di rumah sakit berkisar antara 3 dan 21% (rata-rata 9%), atau lebih dari 1,4 juta pasien rawat inap. Rawat inap di rumah sakit di seluruh dunia (Sinulingga & Malinti, 2021).

Bakteri umum yang menyebabkan infeksi nosokomial adalah *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Klebsiella spp* (Konoralma, 2019). *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu penyebab infeksi yang sering terjadi di rumah sakit dan dapat menyebabkan penyakit dengan gejala khas seperti perdarahan, nekrosis, dan pembentukan abses. *Staphylococcus aureus* mengalami resistensi terhadap metisillin (Khairunnisa dkk., 2023). Resistensi pada *Staphylococcus aureus* disebabkan oleh perubahan genetika yang disebabkan oleh paparan terapi antibiotik yang tidak masuk akal. Selain itu, spesies ini mungkin menjadi resisten silang terhadap semua obat beta laktam. Salah satu kekhawatiran kesehatan global adalah ancaman resistensi antibiotik. Sementara itu prevalensi infeksi *Staphylococcus aureus* di negara-negara Asia sangat bervariasi, berkisar antara 5% hingga 35% (Suyasa & Mastra 2020).

Staphylococcus aureus, komensal pada kulit dan rongga hidung manusia, adalah salah satu kasus infeksi nosokomial yang paling serius. Selain itu, *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap Methicillin (MRSA) adalah penyebab utama morbiditas dan mortalitas di seluruh dunia. Untuk pengobatan infeksi *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), Vankomisin dianggap sebagai obat pilihan. Namun, munculnya resistensi vankomisin diantara isolat MRSA telah dianggap sebagai ancaman. Untuk memperkirakan tingkat *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap vankomisin atau dikenal dengan *Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus* (VRSA) (Maharjan dkk, 2021).

Salah satu kekhawatiran kesehatan adalah ancaman resistensi antibiotik. Pada tahun 2010 diperkirakan 28% (Hong kong dan Indonesia) dan 70% (Korea)

dari seluruh isolat klinis *Staphylococcus aureus* mengandung MRSA. Sementara itu, prevalensi infeksi *Staphylococcus aureus* di negara-negara Asia sangat bervariasi, berkisar antara 5% hingga 35% (Suyasa dan Mastra, 2020). Strain *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap metisilin dikenal sebagai MRSA. Resistensi klinis terhadap metisilin dapat diketahui melalui resistensi cefoxitin serta deteksi gen *MecA* menggunakan PCR. Resistensi antibiotik jenis ini sebagian besar disebabkan oleh protein pengikat penisilin (PBP-2A) yang sebagian besar dikodekan oleh gen *MecA* (Algammal *et al.*, 2020)

Setiap negara di Eropa mempunyai prevalensi infeksi MRSA yang berbeda-beda. Di Rumania, prevalensi MRSA adalah 17,4% dan di Belanda, 56% pada tahun 2007. Pada tahun 2014, prevalensi MRSA turun menjadi 0,9%. Meskipun telah menurun, tingkat prevalensi MRSA masih cukup tinggi di 7 dari 29 negara, yaitu sebesar 25% (Hassoun *et al.*, 2017).

Data yang dikumpulkan dari program *Risk Stratification-based Surveillance* (RSS) pada tahun 2011 mengungkap fakta bahwa rasio MRSA pada isolat klinis *Staphylococcus aureus* berkisar antara 28% di Indonesia dan 59% di Filipina. Studi yang dilakukan oleh dua *multicenter* di India menunjukkan proporsi infeksi MRSA masing-masing sebesar 41% dan 45% pada tahun 2008-2009. Sebuah artikel tahun 2020 mengungkapkan bahwa MRSA umumnya menyerang kulit dan jaringan lunak. Bakteriemia yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* telah dikaitkan dengan 15% hingga 60% angka kematian. MRSA juga dapat menyerang anak-anak hingga orang dewasa tanpa batasan usia (Nandhini *et al.*, 2022)

Selain MRSA, strain *Vancomycin resistant Staphylococcus aureus* (VRSA) merupakan *Staphylococcus aureus* yang telah resisten terhadap antibiotik vankomisin. Antibiotik ini merupakan obat pilihan untuk mengobati infeksi dengan MRSA. Vankomisin merupakan antibiotik yang termasuk dalam kelompok glikopeptida yang bekerja dengan cara menghambat sintesis dinding sel bakteri gram positif. Mekanisme resistensi pada strain VRSA melibatkan perubahan target pan gen vanA, yang mengakibatkan ikatan vankomisin terhadap target menurun secara signifikan sehingga mencegahnya melakukan fungsi normalnya dalam menghambat dinding sel bakteri. Sumber gen vanA yang diisolasi dalam VRSA diduga berasal dari transfer gen horizontal (Ahmad dkk, 2019).

Kejadian VRSA telah meningkat diberbagai belahan dunia. Hingga tahun 2017, lebih dari 30 kasus telah dilaporkan di Eropa, Asia, Amerika Serikat, dan Afrika. Di Indonesia VRSA telah dilaporkan dari Purwokerto dan Palembang. Temuan ini menunjukkan bahwa kejadian strain ini merupakan masalah global. Meningkatnya prevalensi VRSA merupakan faktor signifikan yang mempengaruhi infeksi nosokomial karena *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri paling patogen yang menyebabkan infeksi yang didapat di rumah sakit (Ahmad, dkk 2019). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Soleha dkk. (2024) menggunakan empat sampel dimana hanya ada satu sampel yang memiliki gen VanA, sedangkan tiga sampel lainnya negatif.

Staphylococcus aureus yang resisten antibiotik dikaitkan dengan hasil klinis yang buruk di ICU. Hal ini menimbulkan beban yang signifikan terhadap praktik pengendalian infeksi di rumah sakit. Selain itu, ICU merupakan tempat yang

penting untuk penyebaran MRSA yang lebih luas, karena pasien dirawat dan dipulangkan ke fasilitas layanan kesehatan yang berbeda-beda seperti bangsal dan rumah sakit lain. Pasien di ICU, khususnya ICU bedah, memiliki luka, saluran pembuangan yang menyebabkan kerusakan kulit yang selanjutnya meningkatkan resiko terjadinya infeksi (Metha *et al.*, 2020).

Pada penelitian ini akan digunakan sampel berupa swab nasofaring pasien infeksi nosokomial di Rumah Sakit Ibnu Sina. Digunakan sampel swab nasofaring karena bakteri *Staphylococcus aureus* banyak menjajah kulit dan membran mukosa sekitar sepertiga manusia. Kolonisasi hidung merupakan faktor resiko berbagai jenis infeksi *Staphylococcus aureus* pada semua populasi. Data terakhir juga menunjukkan bahwa rata-rata prevalensi kolonisasi *Staphylococcus aureus* masing-masing adalah 24% di seluruh hidung (Gangnaire *et al.*, 2019).

Adapun metode lain yang bisa digunakan untuk deteksi VRSA antara lain yaitu, metode kultur dimana metode ini adalah metode standar untuk mendeteksi VRSA. Bakteri *Staphylococcus aureus* diisolasi dan kemudian diuji untuk resistensi terhadap vankomisin menggunakan media kultur yang mengandung vankomisin, metode MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) metode ini digunakan untuk menentukan konsentrasi minimum vankomisin yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, jika MIC vankomisin tinggi, maka bakteri tersebut mungkin resisten terhadap vankomisin, metode disk diffusion adalah metode sederhana yang digunakan untuk menguji resistensi *Staphylococcus aureus* terhadap vankomisin, bakteri diinokulasi pada media agar dan kemudian disk yang mengandung vankomisin ditempatkan pada permukaan agar, dan metode PCR

dapat digunakan untuk mendeteksi gen resistensi vankomisin dan memprediksi resistensi *Staphylococcus aureus* terhadap vankomisin.

PCR (*Polymerase Chain Reaction*) lebih ideal digunakan untuk mendeteksi MRSA dan VRSA karena, sensitivitasnya tinggi dapat mendeteksi jumlah bakteri yang sangat kecil, spesifitas tinggi dapat membedakan antara MRSA atau VRSA dari bakteri lain, waktu deteksi cepat hasil PCR dapat diperoleh dalam waktu beberapa jam dan dapat mendeteksi gen resistensi antibiotik, seperti *mecA* dan *vanA*.

Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan penelitian untuk mendeteksi *Methicillin Resistant staphylococcus aureus* (MRSA) dan *Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus* (VRSA) pada sampel swab nasofaring pasien yang dirawat di ICU.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah apakah terdeteksi *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan *Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus* (VRSA) pada sampel swab nasofaring pasien infeksi nosokomial di ruang ICU di Rumah Sakit Ibnu Sina menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendeteksi *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan *Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus* (VRSA) pada sampel swab nasofaring pasien infeksi nosokomial di ruang ICU di Rumah Sakit Ibnu Sina menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis

Sebagai tambahan ilmu pengetahuan, wawasan dan informasi bagi peneliti untuk mengaplikasikan ilmu yang telah didapat selama proses perkuliahan khususnya dibidang biologi molekuler

2. Manfaat Praktis

Sebagai proses pengalaman ilmiah dalam melakukan penelitian sehingga bagi peneliti dapat mengetahui bahwa dengan menggunakan PCR dapat mendeteksi *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan *Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus* (VRSA)

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Umum Infeksi Nosokomial

Rumah sakit diharapkan dapat memanfaatkan pelayanan medis untuk memberikan pelayanan yang efektif dan efisien kepada masyarakat karena merupakan fasilitas pelayanan kesehatan yang melaksanakan prakarsa kesehatan serta memelihara dan meningkatkan derajat kesehatan. Rumah sakit adalah fasilitas kesehatan yang menyelenggarakan pelayanan rawat inap, rawat jalan, dan gawat darurat (Putri & Sonia, 2021).

Sebagai salah satu fasilitas kesehatan yang menyelenggarakan pelayanan kesehatan masyarakat, rumah sakit mempunyai peranan penting dalam mempercepat peningkatan derajat kesehatan masyarakat. Oleh karena itu, penyedia layanan kesehatan atau rumah sakit harus meningkatkan kualitas layanannya, termasuk layanan preventif dan kuratif. Artinya, rumah sakit harus memberikan layanan berkualitas tinggi yang memenuhi standar yang ditetapkan dan dapat diakses oleh semua lapisan masyarakat (Sahambangung dkk., 2021).

Institusi layanan kesehatan, termasuk rumah sakit dan klinik, dapat menyebarkan infeksi kepada pasien yang menerima pengobatan, staf medis, dan pengunjung lainnya. Tenaga kesehatan, individu yang sakit, pembawa virus diantara pengunjung, dan rumah sakit merupakan sumber potensial penularan atau perolehan infeksi di fasilitas layanan kesehatan. Berdasarkan penelitian, 9,8%

pasien rawat inap di 11 rumah sakit di DKI Jakarta, Indonesia, mengalami infeksi nosokomial (Suarmayasa, 2023).

Menurut Organisasi kesehatan Dunia (WHO), unit perawatan intensif (ICU), bangsal bedah dan ortopedi memiliki prevalensi infeksi nosokomial tertinggi ICU menyumbang lebih dari 30% dari seluruh infeksi nosokomial. Unit perawatan Intensif (ICU) adalah departemen rumah sakit yang berdiri sendiri yang memiliki personel dan peralatan terlatih khusus untuk memantau, merawat, dan merehabilitasi pasien dengan penyakit akut, trauma, atau kondisi yang mengancam jiwa lainnya. Karena pasien di unit perawatan intensif (ICU) dianggap sangat bergantung pada perawat dan dokter, perawatan mereka sangat berbeda dengan pasien rawat inap lainnya. Satu-satunya cara untuk mengetahui apa yang terjadi pada pasien di Unit Perawatan Intensif (ICU) adalah melalui observasi dan dokumentasi yang cermat dan rutin, karena pasien tersebut sakit parah atau pingsan. Analisis yang cermat diperlukan untuk menentukan tindakan atau penanganan terbaik atas perubahan yang terjadi (Wulan & Rohmah, 2019).

1. Defenisi Infeksi Nosokomial

Infeksi nosokomial adalah infeksi yang menyerang individu yang telah di rawat lebih dari 72 jam yang terjadi di rumah sakit. Penyebaran bakteri berbahaya dari lingkungan dan peralatan rumah sakit inilah yang menyebabkan infeksi ini. Masyarakat memandang infeksi nosokomial sebagai tanda kualitas pelayanan medis yang diterima, dan hal ini membentuk persepsi masyarakat terhadap fasilitas kesehatan. Penyebab utama tingginya angka kesakitan dan kematian di rumah sakit adalah infeksi nosokomial (Dewi & Media, 2021).

Bakteri patogen, termasuk *Staphylococcus aureus* Gram-positif dan *Pseudomonas aeruginosa* Gram-negatif, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, merupakan sumber infeksi nosokomial. Organisasi kesehatan Dunia (WHO) melaporkan bahwa infeksi saluran kemih dan infeksi luka pasca operasi merupakan infeksi nosokomial yang paling umum terjadi. Faktor internal dan eksternal dapat berkontribusi terhadap terjadinya infeksi nosokomial. Faktor eksternal meliputi tindakan petugas kesehatan untuk mencegah infeksi nosokomial, lingkungan rumah sakit, makanan, udara, benda dan peralatan yang tidak steril, dan lain-lain (Dewi & Media, (2021).

Infeksi terkait layanan kesehatan (HAIS) dapat diperoleh di rumah sakit atau di masyarakat, tergantung pada sumber penyakitnya. HAIS, atau infeksi terkait layanan kesehatan, adalah istilah umum yang mengacu pada kemungkinan terjadinya infeksi di luar rumah sakit, di rangkaian layanan kesehatan lainnya. Tenaga kesehatan profesional juga dapat tertular infeksi selain pasien. Pengunjung dan pengunjung dan terinfeksi di fasilitas kesehatan (Rismayanti & Hardisman, 2019).

2. Jenis-jenis Infeksi Nosokomial

Upaya membantu kesembuhan pasien dapat dilakukan dengan menggunakan berbagai jenis peralatan canggih dan modern. Infeksi dapat dikaitkan dengan prosedur seperti operasi yang dilakukan di rumah sakit. Ada empat kategori infeksi nosokomial, yang biasanya berhubungan dengan instrumen bedah, Menurut Prasasti dkk., (2023) antara lain:

- a. Infeksi aliran darah primer (IADP)

IADP atau yang dikenal dengan infeksi darah yang berkaitan dengan jalur *Central Line associated infection* (CLABSI) yaitu merupakan suatu infeksi nosokomial yang dapat mematikan dan tingkat kematian sebesar 12-25%.

b. Infeksi Saluran Kemih (ISK)

Merupakan infeksi pada sistem kemih termasuk kandung kemih, uretra, ureter, dan ginjal. Sekitar 75% ISK di rumah sakit berkaitan dengan keteter urin. Berdasarkan data statistik pada tahun 2015 infeksi saluran kemih terdapat lebih dari 9,5% dari total infeksi yang dilaporkan.

c. Infeksi daerah operasi (IDO)

Infeksi daerah operasi (IDO) Infeksi daerah operasi (IDO) merupakan infeksi yang terjadi sekitar 30 hari setelah seseorang dioperasi atau jika dalam satu tahun apabila implan dilepas atau tidak terpasang pasca operasi serta berpengaruh pada syatan atau jaringan dalam pada daerah operasi. Walaupun sebagian besar infeksi dapat dilakukan upaya pengobatan melalui antibiotik, IDO juga dapat menyebabkan kesakitan dan akibat fatal pasca operasi.

d. Pneumonia Terkait Ventilator (VAP)

Pneumonia terkait ventilator (VAP) pasien yang dirawat di ICU atau di kenal dengan unit perawatan intensif dapat mengalami resiko fatal tidak hanya disebabkan oleh penyakit kritis tapi juga dapat diakibatkan karena infeksi nosokomial. Pneumonia merupakan infeksi nosokomial kedua yang umum di temui sekitar 27%. Terdapat 86% pneumonia nosokomial yang

berkaitan dengan ventilasi mekanis serta dikatakan dengan pneumonia ventilator.

3. Cara Penularan Infeksi Nosokomial

Menurut Darmadi (2008) ada beberapa cara penularan pada infeksi nosokomial yaitu:

a. Transmisi langsung (*direct transmission*)

Penularan langsung oleh mikroba patogen ke pintu masuk yang sesuai dari penjamu. Sebagai contohnya adalah adanya sentuhan, gigitan, ciuman atau adanya droplet nuclei saat bersin, batuk, berbicara atau saat transfusi darah dengan darah yang terkontaminasi mikroba patogen.

b. Transmisi tidak langsung (*indirect transmission*)

Penularan mikroba patogen yang memerlukan adanya media perantara, baik berupa barang/bahan, air, udara, makanan, minuman, maupun vektor. Transmisi tidak langsung dibagi menjadi beberapa media perantara yaitu :

1) *Vehicle-borne*

Produk dan bahan yang terkontaminasi, termasuk peralatan laboratorium, serta persediaan infus dan transfusi, bertindak sebagai media perantara penularan.

2) *Vector-borne*

Vektor, seekor serangga, bertindak sebagai perantara antara bakteri patogen dan inangnya, mentransfernya melalui mekanisme biologis dan mekanis. Suatu proses mekanis dimana kaki serangga

menempel pada kotoran atau dahak (bakteri patogen), jatuh pada makanan atau minuman, dan akhirnya masuk ke saluran pencernaan inangnya. Sedangkan mikroba berkembang biak di dalam tubuh vektor/serangga sebelum masuk ke tubuh inang melalui gigitan. Proses biologis ini terjadi secara bersamaan.

3) *Food-borne*

Makanan dan minuman merupakan media perantara yang sangat efektif dalam penularan kuman patogen ke inangnya, khususnya melalui saluran masuk saluran cerna atau *port d'entree*.

4) *Water-born*

Ketersediaan air bersih baik secara kuantitatif maupun kualitatif, khususnya untuk keperluan medis, merupakan suatu hal yang mutlak. Kualitas air yang meliputi faktor fisik, kimia, dan bakteriologis dimaksudkan bebas dari bakteri patogen sehingga aman untuk dikonsumsi. Bakteri patogen dapat dengan mudah berpindah ke inangnya melalui pintu masuk saluran pencernaan (*port d'entrée*) atau pintu masuk lainnya jika tidak digunakan sebagai media

5) *Airborne*

Setiap orang membutuhkan udara untuk bertahan hidup, namun sulit untuk mengidentifikasi kapan udara tercemar oleh bakteri berbahaya. Ketika seseorang batuk atau bersin, berbicara

atau bernapas melalui mulut atau hidung, mereka melepaskan droplet nuklei, yaitu kuman patogen di udara yang masuk ke saluran pernapasan inangnya. Partikel yang dapat terbang bersama debu dan tanah atau lantai disebut debu. Di area tertutup seperti bangsal rumah sakit, ruang perawatan, dan ruangan di dalam gedung, penularan melalui udara biasanya terjadi dengan mudah

4 . Faktor-faktor Penyebab Infeksi Nosokomial

Infeksi nosokomial dapat disebabkan oleh dua hal, Menurut Prasasti dkk., (2023):

- a. Faktor endogen, auto-infeksi yang meliputi umur, jenis kelamin, riwayat penyakit, daya tahan tubuh dan kondisi-kondisi tertentu.
- b. Faktor eksogen meliputi lama penderita di rawat, kelompok yang merawat, alat medis serta lingkungan. Faktor kurangnya pengetahuan perawat, sikap atau perilaku yang tidak baik, fasilitas perawatan dan pengawasan perawat juga dapat menjadi salah satu media penularan infeksi nosokomial. Penyebab bakteri yang sering menyebabkan infeksi nosokomial salah satunya ialah *Staphylococcus aureus*, ada juga beberapa bakteri yang umum dapat menyebabkan infeksi nosokomial yaitu *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Klebsiella spp* (Konoralma, 2019).

B. Tinjauan Umum *Staphylococcus aureus*

1. Definisi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah kuman yang dapat menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda yang khas yaitu peradangan, nekrosis dan pembentukan abses. Infeksinya dapat berupa furunkel yang ringan pada kulit sampai berupa suatu peimia yang fatal. Salah satu penyebab penyakit infeksi yaitu bakteri. Infeksi bakteri didapatkan dari komunitas maupun nosokomial. Penyebab infeksi yang sering terjadi di rumah sakit salah satunya disebabkan oleh *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*. Furunkel adalah abses kulit yang biasanya disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* (Khairunnisa dkk. 2023).

Staphylococcus aureus biasanya terdapat di permukaan kulit maupun hidung manusia. Jika lapisan permukaan tubuh tersebut mengalami luka akibat gesekan, goresan atau penyakit lainnya, bakteri akan menginfeksi berbagai organ tubuh manusia. Pada kulit, infeksi *Staphylococcus aureus* dapat berupa bisul, selulitis, impetigo dan lain sebagainya. *Staphylococcus aureus* pada remaja dapat mempengaruhi kesehatan pada anak tersebut. Karena bakteri ini dapat menyerang jantung maupun organ vital yang lain, menyebabkan kerusakan hingga menyebabkan penyakit pada masa beberapa tahun kemudian (Hanina dkk, 2022).

2. Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

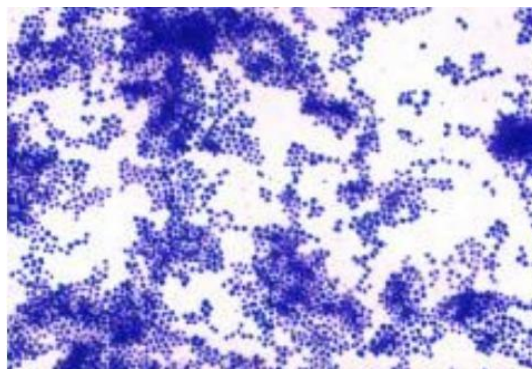
Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* dalam buku Bergeys Manual of Systematic Bacteriology (Devos *et al*, 2009) adalah

Domain : Bacteria

Filum	: Furmicutes
Klass	: Bacilli
Ordo	: <i>Bacillales</i>
Famili	: <i>Staphylococcaceae</i>
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i>

3. Morfologi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah bakteri Gram positif yang bersifat aerobik fakultatif, tidak memproduksi spora, tidak bermigrasi, biasanya tumbuh berpasangan atau berkelompok dan berdiameter sekitar 0,8-1,0 µm. *Staphylococcus aureus* tumbuh pada suhu optimal 37 °C dan memiliki waktu pembelahan 0,47 jam (Hastuti, 2020).



Gambar 1. Mikroskopik *Staphylococcus aureus* pada pewarnaan gram, terlihat bakteri berbentuk bulat/coccus (Yuwono, 2011)

Manusia biasanya memiliki *Staphylococcus aureus* dalam mikrobiomanya. Biasanya bakteri ini terdapat pada kulit dan saluran pernapasan bagian atas. *Staphylococcus aureus* jarang menyebabkan penyakit bila di temukan di kulit atau saluran pernapasan bagian atas seseorang; orang sehat sering kali hanya bertindak

sebagai vektor. Koloni biji yang tebal berbentuk bulat, halus, mengkilat, dan warnanya bervariasi dari abu-abu hingga kuning keemasan (Hastuti, 2020)

4. Sifat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Biasanya, *Staphylococcus aureus* tumbuh dengan baik dalam kultur laboratorium standar pada suhu 37 °C. Meskipun tumbuh optimal pada lingkungan aerobik, bakteri ini juga dapat tumbuh subur secara anaerobik fakultatif pada udara yang hanya mengandung hidrogen pH 7,4. Suhu pertumbuhan ideal untuk koloni berpigmen adalah antara 20 dan 25 °C. Pada medium padat, koloni memiliki permukaan bulat, halus, dan tinggi serta sedikit berkilau. Biasanya koloni bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki warna yang bervariasi dari abu-abu hingga kuning keemasan. Koloni pada cawan agar darah sering kali berukuran besar, dan pada beberapa jenis, tempat zona hemolitik yang mengelilingi koloni (Sahli, 2020).

Staphylococcus aureus juga merupakan patogen dengan sel berbentuk bola dan dapat bertahan hidup di lingkungan dengan konsentrasi garam tinggi, seperti NaCl 10%. Hasil pewarnaan dari biji padat menunjukkan susunan bakteri yang berkelompok seperti buah anggur, sedangkan hasil pewarnaan dari biji cair menunjukkan bakteri dilepaskan secara tunggal, berpasangan, atau rantai pendek. Dapat menunjukkan pembentukan, biasanya terdapat 4 sel atau lebih. Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dalam kondisi anaerobik memerlukan suhu optimal 28-38 °C. pH optimal untuk pertumbuhan *Staphylococcus aureus* adalah antara 7,0 dan 7,5 (Lisnawati & Prayoga, 2020).

Secara umum *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh pada media yang biasa digunakan di laboratorium bakteriologi. Bahkan ketika bakteri ini mati, mereka

masi bisa menghasilkan enterotoksin, seperti pada makanan busuk. *Staphylococcus aureus* menyebabkan penyakit melalui aksi racun, tidak tergantung pada infeksi infasif. Keracunan makanan akibat enterotiksin ditandai dengan mual, muntah, dan diare. Bakteri ini biasanya ditemukan pada kulit rusak dan jerawat, dan dapat berkembang biak dengan cepat serta menyebabkan infeksi dan penyakit pada manusia. Selain kemampuannya berkembang biak dengan cepat, bakteri ini juga dapat menyebar ke seluruh jaringan (Lisnawati & Prayoga, 2020).

Produksi katalase oleh bakteri *Staphylococcus* membedakannya dari bakteri *Streptococcus*. Enzim ini memfermentasikan beberapa karbohidrat secara perlahan dan menghasilkan asam laktat tanpa mengeluarkan gas. Setiap strain mempunyai aktifitas proteolitik yang sangat berbeda, dan bersifat patogen. Banyak senyawa ekstraseluler dihasilkan oleh *Staphylococcus*, yang juga tahan terhadap panas, pengeringan, dan NaCL 9% . Namun, ia mudah dihambat oleh bahan kimia tertentu, seperti heksaklorofen 3%. *Staphylococcus* dapat bertahan pada suhu 50°C. selama 30 menit (Sahli, 2023).

5. Faktor Virulensi *Staphylococcus aureus*

Vaktor virulensi adalah produk yang dihasilkan dari pembentukan kontrol genetik yang memungkinkan mikroorganisme untuk berkembang biak di dalam sel inang dan meningkatkan potensi penyakit. *Staphylococcus aureus* dapat menghasilkan banyak jenis faktor virulensi sehingga penyakit yang disebabkan oleh infeksi *Staphylococcus aureus* dapat terjadi dengan cara yang berbeda-beda (Larasati dkk. 2020).

Faktor virulensi *Staphylococcus aureus* diklasifikasikan menjadi empat kategori: elemen struktural, protein yang menempel pada permukaan bakteri, protein yang dilepaskan oleh bakteri, dan regulasi gen. Patogenesis *Staphylococcus aureus* dipengaruhi oleh faktor virulensi yang menghasilkan toksin pembentuk pori (*a-hemolysin*, *panton valentine leukocidin*), superantigen (*enterotoksin*, *toxic shock syndrome toxin-1*), imunitas molekuler penghindaran (protein penghambat kemotaksis, *stafilokinase*, *aureolysin*), dan penghambat fagositosis (kapsul polisakarida, protein A) (Anas, 2021).

Lebih banyak racun ekstraseluler, hemolisin, enzim, dan komponen seluler yang disekresikan oleh *Staphylococcus aureus* dibandingkan oleh bakteri lain. Dipercayai bahwa patogenesis disebabkan oleh semua variabel ini. Bakteri patogen seperti *Staphylococcus aureus* banyak faktor virulensi yang terdapat pada *Staphylococcus*, seperti enzim, protein permukaan yang terlihat dalam perlekatan bakteri, dan kemampuan untuk memecah protein dan racun yang merusak sel inang. Banyaknya plasmid yang mengkode protein yang terlibat dalam resistensi antibiotik dan vaktor virulensi lainnya adalah yang menentukan *Staphylococcus aureus* (Husna, 2018).

6. Patogenesis *Staphylococcus aureus*

Pada lubang hidung orang sehat, permukaan kulit juga dihuni oleh 30% *Staphylococcus aureus*. Infeksi *Staphylococcus aureus* dapat terjadi ketika inang mempunyai area yang lemah, seperti infeksi luka operasi atau kerusakan pada epidermis. Selain itu, *Staphylococcus aureus* dapat melintasi membran mukosa, seperti pada kasus pneumonia akibat ventilasi. Karena banyaknya faktor

virulensinya, *Staphylococcus aureus* dapat berkembang dan menghasilkan berbagai gejala klinis. Peptidoglikan adalah polimer yang diproduksi oleh *Staphylococcus aureus* dan membentuk dinding sel bakteri. Peptidoglikan memiliki sifat seperti endotoksin dan menghambat reaksi inflamasi. *Staphylococcus aureus* memiliki komponen MSCRAMMs yang mengenali protein permukaan sel atau molekul matriks perekat seperti: faktor agregasi yang mengikat fibrinogen, protein pengikat fibronektin yang mengikat kolagen dan protein pengikat sialoprotein tulang. Protein permukaan ini bekerja sama untuk memediasi adhesi bakteri ke jaringan inang. Variabel-variabel ini telah dikaitkan dengan perkembangan endokarditis, osteomielitis, artritis septik, dan infeksi terkait kateter dan prostetik (Utaminingsih, 2015).

Flora normal manusia, seperti kuman *Staphylococcus aureus*, dapat ditemukan di area tubuh seperti hidung, kulit, tenggorokan, dan mulut. Strain *Staphylococcus aureus* (MRSA) yang resisten methisilin adalah strain *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap antibiotik methisilin. Kuman MRSA resisten terhadap semua antibiotik golongan beta laktam, kecuali methisilin (Lestari., 2022).

Mikrokapsul *Staphylococcus aureus* dan protein A membantu menghambat proses fagositosis. Protein A adalah komponen utama dinding sel *Staphylococcus aureus*. Protein ini berkaitan dengan sisi Fe dari IgG untuk membentuk antiopsonin dan oleh karena itu dapat mempunyai efek antifagositik yang kuat. *Staphylococcus aureus* juga menghasilkan beberapa enzim seperti protease, lipase, elastase, hyaluronidase, dan kinase. Enzim ini memungkinkan

Staphylococcus aureus menyerang dan merusak jaringan inang dan bermetastasis ke berbagai organ (Utaminingsih, 2015).

Flora normal manusia, seperti kuman *Staphylococcus aureus*, dapat ditemukan di area tubuh seperti hidung, kulit, tenggorokan, dan mulut. Strain *Staphylococcus aureus* (MRSA) yang resisten methisilin adalah strain *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap antibiotik methisilin. Kuman MRSA resisten terhadap semua antibiotik golongan beta laktam, kecuali methisilin (Lestari dkk., 2022).

Menurut Husna, (2018) Infeksi *S aureus* dapat terjadi melalui beberapa mekanisme yaitu:

a. Perlekatan pada protein sel inang

Struktur *Staphylococcus aureus* ditandai dengan protein permukaan berupa laminin dan fibronectin yang membantu bakteri menempel pada sel inang. Ini membentuk matrik ekstraseluler pada permukaan epitel dan endotel. Selain itu beberapa strain mengandung peotein pengikat fibrin/fibrinogen yang dapat meningkatkan perlekatan bakteri pada darah dan jaringan. Kebanyakan strain mempunyai protein pengikat fibronectin dan fibrinogen. Adhesin dapat mengikat kolagen, dan interaksi ini penting untuk perlekatan bakteri pada jaringan.

Staphylococcus aureus mengekspresikan reseptor permukaan untuk fibrinogen (faktor agregasi), fibronectin, dan vitronektin dan menggunakan molekul-molekul ini sebagai ikatan silang untuk menempel pada sel endotel

inang. *Staphylococcus aureus* lipase memecah lemak di permukaan kulit, dan ekspresinya dikaitkan dengan kemampuan bakteri ini menyebabkan anses kulit.

Staphylococcus juga memiliki protein A pada permukaannya yang berkaitan dengan bagian besi dari molekul imunoglobulin. Beberapa bakteri membentuk biofilm polisakarida yang mendukung kolonisasi bakteri pada kateter dan prostesis lain yang ditempatkan didalam tubuh. Bebarapa strain *Staphylococcus* membawa gen yang menjadi perantara pengikatan biomolekul yang melapisi perangkat plastik dan intravaskuler. Strain *Staphylococcus aureus* yang berbeda dapat menempel atau berikatan dengan molekul inang yang berbeda dan dapat terpapar melalui kerusakan jaringan seperti:contoh:fibroktin, vitronektin dan kolagen.

b. Invasi

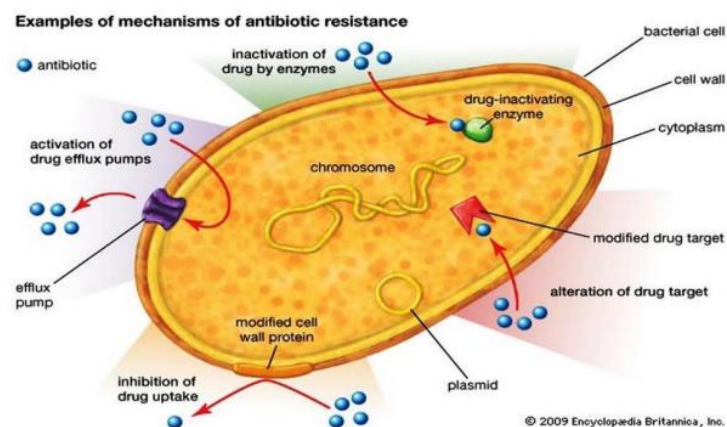
Mikroorganisme memiliki strategi berbeda untuk mengatasi hambatan mukosa dan jenis membran sel yang berbeda.Untuk mengatasi hambatan tersebut, mikroorganisme harus mampu bertahan hidup dan berkembang biak saat memasuki inangnya. Invasi *Staphylococcus aureus* ke jaringan inang melibatkan sekelompok besar protein ekstraseluler.

C. Tinjauan Umum MRSA dan VRSA

1. Resistensi *Staphylococcus aureus*

Peristiwa penting dalam evolusi *Staphylococcus aureus* adalah akuisisi independen kompleks SCCmec pada awal 1960-an oleh beberapa strain yang resisten terhadap berbagai obat (resisten terhadap penisilin, sreptomisin, tetrasiklin, dan eritromisin) hal ini membuat *Staphylococcus aureus* resisten

terhadap sebagian besar anggota keluarga antibiotik β -laktan. Dua belas jenis SCCmec yang diketahui telah diidentifikasi dan diklasifikasikan menurut jenis kompleks kaset kromosom dan kelas kompleks mec. Tipe I, II dan III adalah elemen SCCmec besar yang menyimpan gen yang memberikan resistensi terhadap beberapa kelas antibiotik dan terutama ditemukan di HA-MRSA (*Healthcare acquired* MRSA). Elemen yang lebih kecil seperti tipe IV dan V SCCmec, lebih banyak ditemukan di CA-MRSA (*community acquired* MRSA) tetapi juga di beberapa klon HA-MRSA yang tersebar luas, seperti ST22-MRSAIV, ST45-MRSA-IV dan ST5-MRSA-VI. Namun, selama bertahun-tahun perbedaan antara dua kelompok epidemiologi (HA-MRSA dan CA-MRSA) menjadi kabur. Semua jenis SCCmec mengandung mecA (dengan pengecualian tipe XI yang mengandung mecC homolog, yang mengkode protein pengikat penisilin 2a (PBP2a) (Lee *et al.*, 2018).



Gambar 2. Mekanisme Resistensi Bakteri terhadap Antibiotik (Laura, 2009)



Gambar 3. Hasil Visualisasi elektroforesis gen *mecA* (Rahman. dkk 2023)

PBP2a adalah transpeptidase peptidoglikan yang memiliki avinitas sangat rendah terhadap sebagian besar antibiotik B-laktam. Dengan adanya antibiotik B-laktam yang menghambat fungsi empat protein pengikat penisilin alami *Staphylococcus aureus* (PBP1, PBP2, PPB3, PPB4, PBP2a dapat mengambil ahli fungsi transpeptidase dari biosintesis peptidoglikan mutan *mecA* bernama *mecC*, diidentifikasi di beberapa klon *Staphylococcus aureus* dari isolat hewan dan manusia. *mecA* mengkodekan PBP2Alga dan dinamai berdasarkan strain MRSA pertama yang diisolasi LGA251. Mekanisme kontrol resisten B-laktam pada strain LGA251 dibandingkan dengan mekanisme kontrol pada strain MRSA pembawa *mecA*. Untuk strain LGA251, tingkat resistensi metisilin bergantung pada *Mec* dan gen pada latar belakang genetik strain tersebut (Lee *et al*, 2018).

Kontrol utama ekspresi *mecA* bergantung pada regulator yang dikodekan oleh *mec1*, *mecR1* dan *mecR2*, serta regulator ekspresi gen *blaz*, dan *blaR1*. Selain itu, banyak gen lain yang secara signifikan memengaruhi fenotip resistensi. Ada tiga bukti bahwa tingkat transkrip *mecA* tidak memprediksi tingkat resistensi methisilin. Pertama, respon stres berat yang disebabkan oleh antibiotik mupirocin

(respon bakteri terhadap berbagai kondisi stres asam amino, asam lemak, zat besi dan pembatasan panas) menyebabkan peningkatan aktifitas PBP2a tanpa mempengaruhi transkrip *mecA*. Kedua, inaktivasi Vras (anggota sistem regulasi dan komponen yang melibatkan protein sensor Vras dan protein regulasi dua komponen melibatkan protein sensor Vras dan protein regulasi respons Vrak yang terlibat dalam regulasi biosintesis peptidoglikan dinding sel) menginduksi transkripsi *mecA* tetapi tidak meningkatkan kadar PBP2a. Ketiga, protein pendamping lipatan PrsA mengubah derajat lipatan PBP2a di dalam membran, mengakibatkan resistensi methisilin tanpa mempengaruhi transkripsi *mecA*) (Lee *et al*, 2018).

Peran penting dari respons stres yang ketat dalam ekspresi *mecA* telah dibuktikan dengan menggunakan berbagai pendekatan eksperimental. Khususnya, beberapa klon MRSA juga telah mengembangkan resistensi selama bertahun-tahun terhadap vankomisin, obat yang telah digunakan sejak tahun 1960 an untuk pengobatan awal infeksi *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* MRSA invasif pada pasien yang dirawat di rumah sakit (Lee *et al*, 2018).

Vankomisin merupakan antibiotik pilihan umum untuk mengobati infeksi MRSA. Tingkat infeksi MRSA terus meningkat secara global dan akibatnya, begitu pula dengan konsumsi vankomisin. Di Jepang, kasus pertama *vancomycin intermediate Staphylococcus aureus* (VISA) dilaporkan pada tahun 1997. Sejak saat itu, kasus *vancomycin resistant Staphylococcus aureus* (VRSA) mulai bermunculan, terutama di negara-negara berkembang. Di Indonesia penelitian mengenai gen *vanA* masih sangat jarang dilakukan terutama di provinsi Lampung (Soleha, dkk 2024).

2. Definisi *Methicillin resistant staphylococcus aureus* (MRSA) dan *Vancomycin resistant staphylococcus aureus* (VRSA)

MRSA merupakan salah satu jenis *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap antibiotik isixazoilpenisilin seperti metisilin, oksasilin dan flukloksasilin. MRSA merupakan penyebab utama infeksi nosokomial atau infeksi yang didapat di rumah sakit berupa infeksi pasca operasi, infeksi saluran pernapasan, infeksi saluran kemih, dan infeksi saluran peredaran darah. Angka infeksi nosokomial akibat *staphylococcus aureus* tersebar 21,7 sekitar 40 jenis *Staphylococcus aureus* dapat diisolasi di rumah sakit diketahui resisten terhadap beberapa antibiotik turunan B-laktan dan safolosporin, namun tetap rentan terhadap antibiotik vankomisin dan klidamisin (Suyasa, 2020).

Vancomycin resistant staphylococcus aureus (VRSA) merupakan strain *staphylococcus aureus* yang telah resisten terhadap antibiotik vancomycin . Antibiotik ini merupakan obat pilihan untuk mengobati infeksi dengan *methicillin resistant staphylococcus aureus* (MRSA). Vankomisin merupakan antibiotik yang termasuk dalam kelompok glikopeptida yang bekerja dengan cara menghambat sintesis dinding sel bakteri gram positif. Mekanisme resistensi pada strain *Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus* (VRSA) melibatkan perubahan target pan gen vanA, yang mengakibatkan ikatan vankomisin terhadap target menurun secara signifikan sehingga mencegahnya melakukan fungsi normalnya dalam menghambat dinding sel bakteri. Sumber gen vanA yang diisolasi dalam *Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus* (VRSA) diduga berasal dari transfer gen horizontal (Rahman. dkk. 2023).

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

1. Pengertian *Polymerase Chain Reaction*

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah proses biokimia langsung yang memiliki dampak signifikan pada kemajuan teknologi biologi molekuler. K. B. Millis awalnya menemukan PCR pada tahun 1984 ia merupakan penemu dan memenangkan Hadiah Nobel dalam Kimia pada tahun 1994. Pada PCR, DNA diperkuat atau dikalikan secara *in vitro* melalui penggunaan replikasi DNA diperkuat atau dikalikan secara *in vitro* melalui penggunaan replikasi DNA dengan bantuan enzim DNA polimerase dan perubahan karakteristik fisik DNA sebagai fungsi suhu. Karena PCR merupakan teknologi yang sangat sensitif, molekul DNA dapat berkembang biak dalam satu siklus suhu (Green *et al*, 2018).

Banyak teknik biologi molekuler yang dapat disederhanakan dengan menggunakan teknik PCR *Polymerase Chain Reaction* (PCR) adalah metode terbaik untuk mendeteksi infeksi karena cepat dan akurat. Teknik ini juga sangat spesifik karena pemilihan primer spesifik untuk patogen tertentu, sehingga sangat berguna ketika patogen tumbuh lambat atau tidak dapat tumbuh dalam kondisi *in vitro*, serta hanya ketika metode deteksi konvensional kurang sensitif atau lambat. Serta hanya ketika metode deteksi konvensional kurang sensitif atau lambat diperlukan diagnosis. PCR dapat digunakan untuk mengidentifikasi mikroorganisme selain patogen yang ada di air, makanan, minuman, dan lingkungan alam. PCR dapat digunakan dalam teknologi DNA rekombinan untuk mengisolasi gen kloning. *Polymerase Chain Reaction*

(PCR) dapat digunakan untuk keperluan forensik, penentuan usia dan etnis dan dalam bidang medis juga dapat digunakan untuk mendeteksi penyakit metabolik (analisis mutasi) atau penyakit menular) Reaksi amplifikasi DNA dan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) bergantung pada perubahan suhu dan jumlah siklus (Green *et al*, 2018).

1. Prinsip Umum *Polymerase Chain Reaction*

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah teknik laboratorium yang bertujuan untuk menyalin atau memperkuat DNA, memungkinkan urutan DNA (target) dikalikan secara selektif ratusan juta kali. PCR dapat menggunakan sampel DNA yang sangat kecil, kemudian mengkloning dan memperkuatnya menjadi jutaan salinan hanya dalam beberapa jam (Ethica, 2019).

PCR melibatkan amplifikasi enzim yang dimediasi primer. *Polymerase Chain Reaction* (PCR) mengandalkan penggunaan kemampuan DNA polimerase untuk mensintesis untai DNA baru yang melengkapi untai DNA cetakan tertentu (biasanya DNA genom suatu organisme). Primer diperlukan karena DNA polimerase hanya dapat menambahkan nukleotida ke gugus 3-OH yang sudah ada sebelumnya untuk menambahkan nukleotida pertama, DNA polimerase kemudian memperluas ujungnya dengan menambahkan lebih banyak nukleotida untuk menciptakan wilayah DNA beruntai ganda (Ethica, 2019).

PCR dilakukan pada DNA total atau DNA genom yang pertama kali diisolasi dari sel atau virus. Untuk membatasi segmen DNA yang akan disalin perlu menambahkan primer yang akan menempel pada ujung segmen DNA

yang akan disalin, perlu ditambahkan primer yang akan menempel pada ujung segmen DNA dan membatasi panjang DNA target yang akan disalin. PCR adalah reaksi yang dikontrol suhu dan dilakukan dalam beberapa siklus. Setiap siklus terdiri dari tiga langkah utama : denaturasi DNA untai ganda, (denaturasi), pengikatan primer (anil) dan perpanjangan untai DNA yang dikontrol primer (pemanjangan) (Ethica, 2019).

2. Komponen *Polymerase Chain Reaction*

Menurut (Ethica, 2019) ada beberapa komponen polymerase chain reaction yaitu :

a. Templat atau DNA cetakan

Ini mungkin DNA beruntai ganda (dsDNA) yang telah diisolasi dari sampel melalui isolasi DNA.

b. Enzim DNA Polimerase

Secara umum, ini adalah enzim Taq polimerase termostabil yang tidak mengubah sifat-sifat dengan cepat pada suhu tinggi (98 °C) dan dapat beroperasi pada suhu optimal sekitar 70 °C.

c. Primer *Oligonukleotida*

Urutan DNA beruntai tunggal pendek (biasanya 20-30 pasangan basa) melengkapi ujung 3'dari untaian sense dan antisense dari urutan DNA target.

d. *Deoksinukleotida Trifosfa*

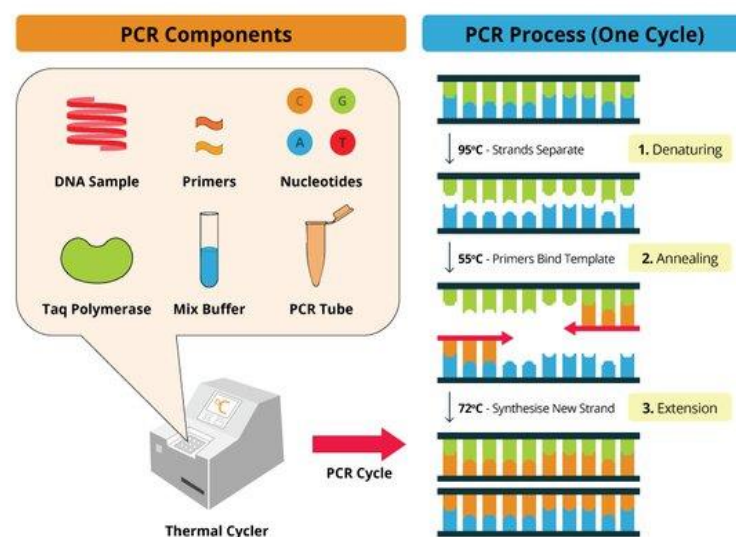
Unit dasar A,T,G, dan (dATP,dTTP,dGTP,dCTP) menyediakan energi untuk polimerisasi dan merupakan unit dasar sintesis DNA

e. Sistem Buffer

Dalam bentuk magnesium dan potasium untuk memberikan kondisi optimal untuk denaturasi dan replikasi DNA, penting juga untuk mengaktifkan dan menstabilkan enzim polimerase.

3. Prosedur *Polymerase Chain Reaction*

Mekanisme amplifikasi PCR sederhana namun elegan. Primer oligonukleotida pertama-tama dirancang untuk melengkapi ujung rangkaian yang akan di amplifikasi. Kelebihan primer kemudian dicampur dengan cetakan DNA dan *deoksiribonukleotida* (dNTP) dalam buffer yang sesuai. Setelah pemanasan untuk mendenaturasi untai asli dan pendinginan untuk memungkinkan hibridisasi primer, setiap oligonukleotida akan berkaitan dengan untai berbeda dan dua untai segmen DNA target. Primer-primer ini akan dianil pada posisi yang memungkinkan produk amplifikasi setiap untai DNA saling tumpang tindih, dibatasi oleh posisi anil primer yang berlawanan (Kusnadi dan Arumingtyas, 2020).



Gambar 4. Proses dan Komponen PCR (Kusnadi dan Arumingtyas, 2020)

Karena proses denaturasi, annealing, dan ekstensi oleh enzim DNA polimerase terus berlangsung, maka primer-primer tersebut secara berulang akan berkaitan dengan template DNA awal dan juga sisi komplementer dari untai-untai yang dibentuk. Dan kemudian memanjang untuk menghasilkan salinan DNA yang baru. Hasil akhir adalah peningkatan secara eksponensial terhadap jumlah total fragmen DNA termasuk sekuens yang dibatasi oleh primer-primer PCR, yang akhirnya memenuhi jumlah secara teori (Kusnadi dan Arumingtyas, 2020).

Menurut (Haryadi dkk, 2022) ada tiga siklus utama yang timbul dari reaksi replikasi suatu segmen DNA dalam konsep PCR yaitu denaturasi, hibridisasi, dan ekstensi. Ketiga siklus utama tersebut akan diulangi maksimal 25-40 sehingga hasil produk PCR yang diperoleh adalah 2^n ("n" adalah jumlah siklus yang digunakan) lebih unggul dibandingkan sampel DNA target pada reaksi PCR. Proses reaksi PCR pada thermal cycler dilakukan pada suhu dan waktu tergantung pada desain tergantung pada primer dan DNA. Mesin thermal cycle mempunyai kemampuan untuk mengubah suhu dan waktu sesuai keinginan peneliti. Pengendara sepeda thermal memiliki kemampuan untuk menaikkan atau menurunkan suhu dengan cepat. Langkah-langkah reaksi PCR pada thermal cyc adalah sebagai berikut :

a. Denaturasi Awal

Awal tahapan reaksi PCR adalah tahap pra-denaturasi (denaturasi awal). Denaturasi awal dilakukan dengan tujuan untuk mendenaturasi DNA sampel pada tahap awal reaksi PCR untuk mencegah DNA sampel mengalami denaturasi parsial. Sampel asam deoksiribonukleat (DNA) yang tidak terdenaturasi sempurna akan

menyebabkan amplifikasi PCR pada awal reaksi menjadi kurang optimal, sehingga perlu dilakukan denaturasi awal pada saat pembuatan matriks asam deoksiribonukleat (DNA) agar mengalami denaturasi sempurna. Waktu dan suhu bergantung pada struktur sampel DNA yang akan diamplifikasi. Suhu optimal yang digunakan adalah 94°C selama 2 hingga 5 menit. Denaturasi awal terjadi hanya dalam satu siklus pada awal tahap reaksi PCR, sedangkan 35 hingga 40 siklus terjadi pada tahap denaturasi, annealing, dan ekstensi.

b. Denaturasi

Reaksi replikasi atau segmen DNA diawali dengan denaturasi DNA cetakan melalui pemanasan sehingga DNA untai ganda tersebut terpisah menjadi untai DNA tunggal. Denaturasi dilakukan pada suhu hangat yaitu 95°C (30-30 detik) atau 97°C (15 detik). Sedangkan denaturasi VRSA dilakukan pada suhu 94°C (3 menit) dan siklus amplifikasi yang terdiri dari 1 menit pada suhu 94°C , 1 menit pada suhu 54°C , 1 menit pada suhu 72°C .

c. Annealing

Tahap reaksi annealing adalah suatu tahap dimana primer melekat sebagai oligonukleotida pertama (maju) yang mempunyai urutan yang sama/identik dengan salah satu untai DNA cetakan pada ujung 5'-fosfat dan oligonukleotida kedua (terbalik) yaitu identik bersama-sama urutan pada ujung 3'-OH rantai DNA. Durasi langkah reaksi inkubasi PCR kurang lebih 1 hingga 2 menit. Keberhasilan proses annealing tergantung pada desain primer dan suhu leleh (T). Suhu saat separuh molekul DNA mengalami denaturasi tersebut T. Idealnya T_{m} antara primer sama, baik maju maupun mundur. Rumus menghitung suhu T adalah 2°C

$x (AT) + 4 \text{ } ^\circ\text{C} \times (G + C)$. Kisaran suhu yang umum digunakan adalah dari 50 hingga 60 $^\circ\text{C}$.

Desain lapisan primer sangat mempengaruhi proses annealing. Jika desain primer tidak memenuhi persyaratan maka akan mempengaruhi hasil reaksi PCR.

Perancangan primer memerlukan beberapa persyaratan antara lain:

- a. Primer harus mempunyai oligonukleotida dengan ukuran 17-28 bp
 - b. Komponen G dan C harus mempunyai 50-60% agar peningkatan primer kuat, karena pasang G dan C terdiri dari 3 pasangan: ikatan hidrogen
 - c. Ujung primer harus berakhir (3') dengan basa C atau G atau GG atau GC
 - d. Perkiraan suhu ikatan yang digunakan adalah 55 hingga 80 $^\circ\text{C}$, tetapi suhu yang paling sering digunakan adalah 50 hingga 60 $^\circ\text{C}$
 - e. Primer pada ujung 3' menghindari basa komplementer, hingga menghasikan primer dimer
 - f. Memprediksi terbentuknya struktur sekunder pada primer sehingga rangkaian DNA tidak saling komplementer
 - g. Hindari desain primer dengan nukleotida C dan G dan tiga atau lebih sekuens pada ujung 3' karena dapat menyebabkan kesalahan primer, terutama di daerah yang kaya akan sekuens G + C
- d. Extension (Pemanjangan primer)

Langkah ini melibatkan enzim polimerase (disebut Taq polimerase) untuk memperluas primer dari ujung 5' ke ujung 3'. Laju perakitan nukleotida enzim ini pada suhu 72 $^\circ\text{C}$ diperkirakan antara 35 dan 100 nukleotida per detik tergantung pada buffer, PH, konsentrasi molekul

garam, dan molekul DNA target. Taq polimerase tidak memiliki aktifitas eksonuklease 3' hingga 5' sehingga bekerja cepat dengan enzim mampu menahan suhu tinggi yang diperlukan untuk memisahkan untai DNA sampel. Kelemahan Taq polimerase adalah enzim ini mampu melakukan kesalahan dalam penggabungan nukleotida sehingga menyebabkan kemungkinan terjadinya mutasi pada segmen gen yang diamplifikasi. Enzim Taq polimerase dapat menambahkan nukleotida, khususnya dATP, ke ujung 3' segmen DNA yang terpolimerisasi, bahkan tanpa adanya cetakan. Situasi ini dimanfaatkan dengan memasukkan faktor plasmid dalam kloning rekombinan. Durasi langkah reaksi PCR yang diperpanjang biasanya 1 menit atau bergantung pada panjang polinukleotida.

e. Extension akhir

Ekstension akhir terjadi pada akhir seluruh siklus reaksi PCR. Kondisi ini dicapai dengan tambahan suhu ekstensi primer, biasanya 72 °C menggunakan Taq polimerase, selama 5 sampai 15 menit untuk menyelesaikan dan menyempurnakan proses polimerisasi. Perpanjangan akhir hanya terjadi satu siklus pada akhir rantai reaksi PCR dalam thermal cycler.

4. Kelebihan dan Kekurangan PCR

Aplikasi PCR atau teknologi amplifikasi telah banyak digunakan biasanya di klinik/rumah sakit hingga membuat area spesifik dari DNA dan diperbanyak untuk digunakan dalam cloning teknologi. Menurut (Tan *et al*, 2022) kelebihan teknologi amplifikasi adalah sebagai berikut :

- a. Hasil cepat diperoleh (tergantung metode ataupun kit PCR yang digunakan dan dikembangkan oleh pihak developer)
- b. Lebih sensitif dan spesifik dibandingkan metode konvensional
- c. Reprodusibilitinya sangat baik (kembali tergantung jenis kit PCR dari berbagai developer)
- d. Hasil amplifikasi dapat di hitung secara kuantitatif atau semi kuantitatif, biasanya untuk teknik RT-PCR
- e. Mudah dikembangkan teknologi terbaru dalam pemeriksaan penanda kelainan genetik

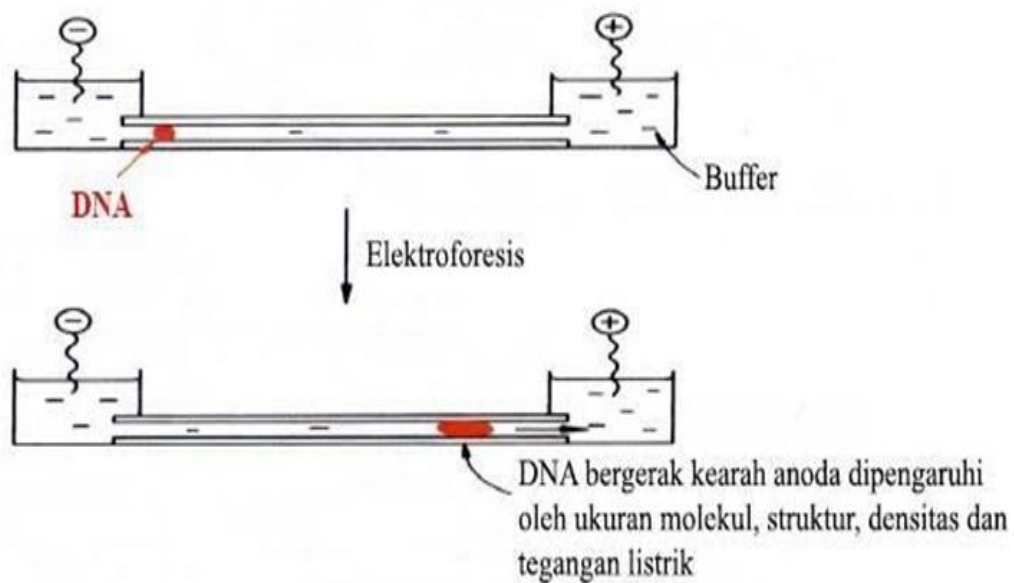
Menurut (Tan *et al*, 2022) kekurangan teknologi PCR sebagai berikut :

- a. Memerlukan ruangan dengan alur proses kerja satu arah (untuk mencegah kontaminasi)
- b. Mudah terkontaminasi dalam melakukan pekerjaan
- c. Target sekuensing DNA sasaran harus diketahui terlebih dahulu dan harus melakukan perancangan primer serta kondisi alat yang sesuai dengan tujuan target yang diinginkan
- d. Biaya alat dan bahan untuk metode RT-PCR mahal

5. Elektroforesis

Elektroforesis DNA adalah teknik pemisahan sampel DNA berdasarkan ukuran (berat molekul) dan struktur fisik molekul. Gel yang biasa digunakan antara lain agrosa. Elektroforesis gel agrosa dapat dilakukan untuk memisahkan sampel DNA dengan ukuran mulai dari

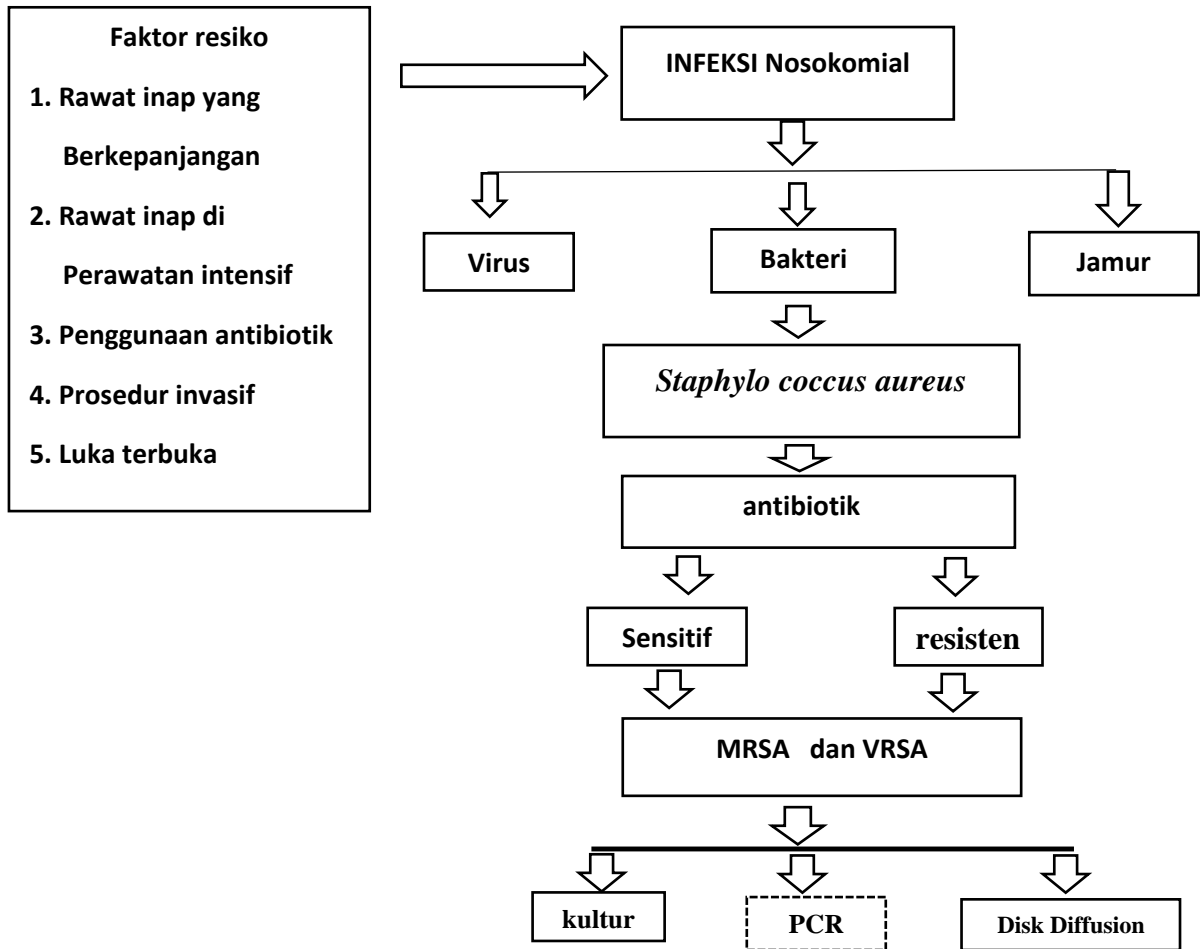
beberapa ratus hingga 20.000 pasangan basa (bp). Molekul DNA membawa muatan negatif (anion) sehingga jika dimasukkan ke dalam gel dengan baik dan diberi medan listrik, maka DNA akan bergerak melalui gel dari kutub negatif (anoda) ke kutub positif (katoda) (Bimhwal *et al*, 2020).



Gambar 5.Perangkat Elektroforesis (Bimhwal *et al*, 2020)

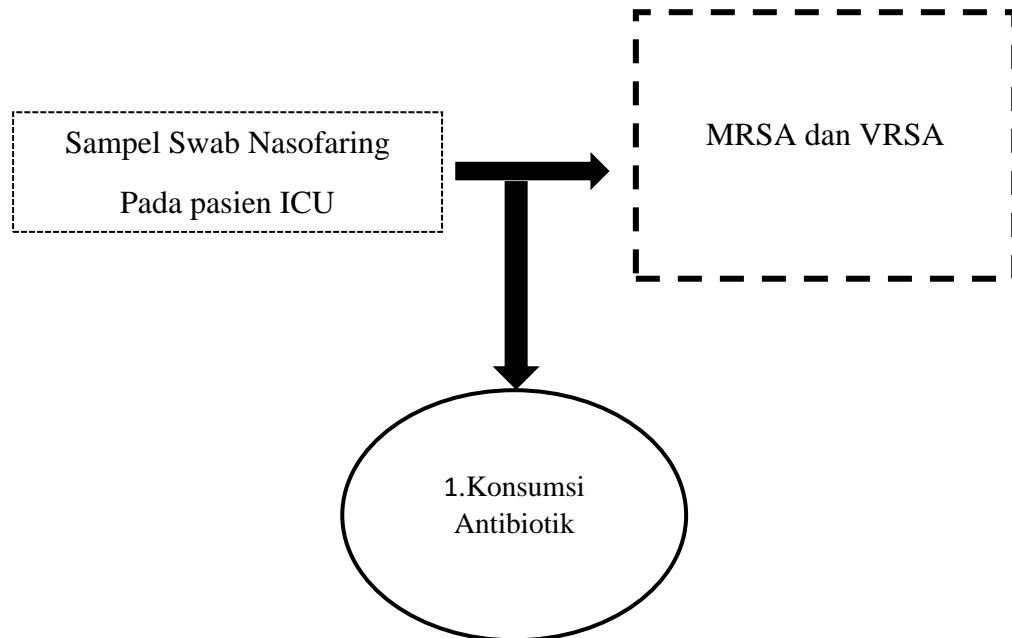
Elektroforesis menunjukkan hasil positif jika menghasilkan pola pita-pita yang jelas dan tidak berbayang. Beberapa faktor yang mempengaruhi laju migrasi DNA pada gel agrosa antara lain ukuran, fragmen DNA, konfirmasi DNA, besarnya arus listrik, konsentrasi, dan jenis gel, lamanya waktu elektroforesis, serta komposisi buffer yang digunakan. Molekul DNA penanda, atau marker digunakan untuk mengetahui ukuran molekul-molekul DNA hasil isolasi, restriksi, maupun purifikasi (Bimhwal *et al*, 2022)

E. Kerangka Teori






Gambar 6. Kerangka Teori

F. Kerangka Konsep



Gambar 7. Kerangka Konsep

Keterangan :

-  Variabel Bebas/Independent
-  Variabel Terikat /Dependent
-  Variabel Perancu

G. Definisi Operasional

1. MRSA adalah jenis strain bakteri *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap antibiotik methicillin gen mecA pada pasien infeksi nosokomial di ruang ICU Rumah Sakit Ibnu Sina
2. VRSA adalah strain *Staphylococcus aureus* yang telah mengembangkan resistensi terhadap antibiotik vankomisin gen vanA pada pasien infeksi nosokomial ruang ICU Rumah Sakit Ibnu Sina

3. Swab nasofaring adalah sampel yang di ambil dari mukosa saluran napas bagian belakang hidung dan tenggorokan pasien infeksi nosokomial yang di ruang ICU di Rumah Sakit Ibnu Sina.
4. Pasien ICU (*intensive care unit*) adalah pasien khusus yang membutuhkan pengawasan ketat di ruangan ICU yang dilengkapi dengan peralatan medis khusus untuk menunjang proses pengobatan dan pemulihan pasien dengan rata-rata rawat inap di ICU selama 3 hari.
5. *Polymerase Chain Reation* (PCR) adalah salah satu metode pemeriksaan yang dilakukan untuk mendeteksi keberadaan material ginetik dari suatu bakteri *Staphylococcus aureus* yang akan dideteksi pada target bend MRSA 147 bp dan target bend VRSA 673 bp pada sampel swab nasofaring pasien infeksi nosokomial yang dirawat di Rumah Sakit Ibnu Sina.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah penelitian deskriptif dengan pendekatan *cross sectional* pada MRSA (*Methicilin Resistant Staphylococcus aureus*) dan VRSA (*Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus*) pada pasien infeksi nosokomial menggunakan sampel swab nasofaring.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Rumah Sakit Ibnu Sina dan analisis sampelnya akan dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler *HUM-RC (Hasanuddin Medical Research Center)*, pada bulan Mei-Juni 2025

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini yaitu pasien infeksi nosokomial di ruang ICU Rumah Sakit Ibnu Sina

2. Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel swab nasofaring pada pasien infeksi nosokomial di ruang ICU Rumah Sakit Ibnu dengan jumlah sampel 10 sampel berdasarkan total sampling selama periode penelitian

3. Teknik Sampling

Pengambilan sampel dilakukan dengan purposive sampling yang mana hanya pasien infeksi nosokomial di ruang ICU yang memiliki kriteria spesifik yang dapat menjadi sampel pada penelitian ini

D. Kriteria Sampel

1. Kriteria Inklusi

- a. Pasien ICU yang dirawat lebih dari 3 hari
- b. Pasien yang mengalami demam 38° C selama 3 hari
- c. Pasien yang telah diberi antibiotik

2. Kriteria Eksklusi

- a. Pasien yang sudah pernah terinfeksi nosokomial
- b. Tidak bersedia jadi responden

E. Alat dan Bahan

Alat -alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu, coolbox, Sentrifus mini (*Biofuge pico*), Vortex (*Heidolph REAX Control*), Inku bator (*Titramax-100*), Mikropipet, tip, microtube *Adjustable Socrus Bio-rad (single channel 0,5-10 µl, 20-200 µl, 100-1000µl)*, laminar air flow (ESCO), Neraca (Kern), cetak gel, *geldoc transilluminator (Bio-rod)*, Spin Down, Freezer, Kulkas, Rak Tabung Eppendorf, Gelas Ukur, com (sisiran gel), *microwave (Electrolux)*, alat PCR (*Applied Biosytem*), Chamber elektroforesis (*Bio rad*).

Adapun bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sampel swab nasofaring, Kontrol Positif (Isolat MRSA), handsscoon, *proteinase K*, wash buffer, bubuk agarose 1,5, marker 100 bp, TBE 0,5%, *nuclease free water*

(ddH₂O), buffer lisis, *wash buffer*, *bashing bead buffer*, *ethidium bromide* (EtBr), enzim PCR, nuclease free water, Primer reverse *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) (5'-AGTTCTGCAGTACCGGATTTGC-3') dan primer forward (5'-AAAATCGATGGTAAAGGTTGGC-3) dengan target bend 147 bp (Faisal *et al*, 2019), Primer forward VRSA (AGGAGACAGGAGCATGAATAG) primer reverse (CAATACCCGCACAACCGAC) dengan target band 673 bp (Soleha,dkk. 2024).

F. Prosedur Kerja

a. Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan adalah swab nasofaring pada pasien rawat inap. Sampel diambil dengan menggunakan swab amis yang dilengkapi dengan media transportasi yang sesuai untuk menjaga vabilitas sampel yang akan dibawa ke laboratorium Diagnostik Molekuler untuk dianalisis

b. Ekstraksi DNA

Sampel swab nasofaring dimasukkan kedalam tabung tube sebanyak 200 µl, dan dicampur dengan 20 µl, Proteinase-k diinkubasi 60 °C selama 5 menit kemudian ditambahkan GSB buffer 200 µl lalu dinkubasi lagi 5 menit dengan suhu 60 °C, selanjutnya dimasukkan 200 µl, etanol absolut kemudian di vortex setelah itu dipindahkan ke dalam spin column sebanyak 650 µl. Disentrifuge dengan kecepatan 10.000 rpm selama 1 menit, dibuang cairan pada tabung penampung. Hasil saringan DNA pada spin column ditambahkan 400 µl, buffer washing (W1), lalu di sentrifus dengan

kecepatan 10.000 rpm selama 1 menit, pada penampungan dibuang kemudian tambahkan 600 µl, wash buffer dan etanol. Sentrifus dengan kecepatan 13.000 rpm selama 1 menit dan dibuang lagi cairan pada penampungan. Disentrifus kosong dengan kecepatan 13.000 rpm selama 3 menit, dipindahkan spin column kedalam tabung microcentrifuge atau tube kemudian ditambahkan buffer elution sebanyak 50 µl, dan di sentrifus dengan kecepatan 13.000 rpm selama 1 menit lalu dibuang spin column dan DNA murni diberi label pada tube /tabung microcentrifuge.

c. Amplifikasi DNA

Dilakukan amplifikasi hasil ekstraksi dengan membuat PCR mix dengan mencampurkan dream taq PCR mix 7 µl 0,5 konsentrasi mecA reverse 15 CCACTICATATCTTGTAACG-3 dan mecA forward 15 TCCAGATTACAACCTICACCAGG-3 sedangkan vanA reverse CAATTACCGCCAACCGAC dan vanA forward AGGAGACAGGAGCATGAATAG] dan nuklease free water lalu dihomogenkan diatas spin down, kemudian dipetik PCR mix kedalam tabung sebanyak 10 µl lalu tambahkan masing-masing sampel DNA kedalam tabung sebanyak 5 µl, lalu 1 tabung PCR yang berisi PCR mix ditambahkan kontrol positif mecA dan kontrol positif vanA dan 1 tabung untuk kontrol negatif. Setelah itu di proses didalam mesin PCR, kondisi PCR yang digunakan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) sebagai berikut : pra denaturasi dalam suhu 94°C selama 45 detik, denaturasi 95 °C selama 20 detik, annealing 57 °C selama 15 detik, kemudian diikuti post extension terakhir 72 °C

selama 2 menit dengan 39 siklus. Sedangkan *Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus* (VRSA) pra denaturasi dalam suhu 94 °C selama 5 menit, denaturasi 95 °C selama 30 detik, annealing 57 °C selama 30 detik, extension 72 °C selama 1 menit, kemudian diikuti post extension terakhir 72 °C selama 5 menit dengan 34 siklus.

Ditimbang bubuk agrosa sebanyak 1,5 gram lalu dilarutkan dalam 100 ml TBE (Rris-borete-EDTA), kemudian di homogenkan dan dipanaskan menggunakan hot plate sehingga larut pada suhu 250 °C selama 3 menit lalu di pasangkan sisir elektroforesis pada cetakan dengan posisi hampir menyentuh dasar, jika sudah sekitar 50 °C -60 °C ditambahkan ethidium bromida sebanyak 3 mikron dihomogenkan. Kemudian tuangkan gel agrosa kedalam cetakan yang sudah dipasangkan sisiran, jika agrosa sudah mengeras di lepas sisiran lalu di pindahkan kedalam chamber. Setelah itu masukan larutan buffer 0,5 X TBE kedalam chamber sampai gel terendam, kemudian dimasukan masing-masing hasil PCR sebanyak 10 µl masukan tiap well setelah semua hasil PCR dimasukam ke dalam well, selanjutnya dimasukan sul marker. Chamber di tutup sesuai dengan kutub negatif dan positif elektroforesis dilakukan pada kondisi 50 volt selama 50 menit lalu di raning, kemudian gel agarose dimasukan kedalam UV reader/gel documentation untuk melihat pola pita DNA yang tervisualisasi.

G. Interpretasi Hasil

Hasil analisa dinyatakan positif MRSA jika ditemukan pita DNA yang didapat berada kisaran 147 bp yang merupakan ukuran DNA dari gen resisten bakteri *Staphylococcus aureus* dan Analisa dinyatakan VRSA jika pita DNA

yang didapat berada di kisaran 673 bp *Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus*

H. Teknik Pengolahan Data

1. Pengumpulan Data

Data diperoleh dengan melakukan observasi, wawancara terstruktur kepada pasien infeksi nosokomial yang berada di Rumah Sakit Ibnu Sina

2. Analisa Data

Teknik analisa data penelitian ini yaitu menggunakan pendekatan secara deskriptif kualitatif yang disajikan dalam bentuk gambar dan tabel berupa terdeteksi ada atau tidak adanya Gen *mecA* pada (MRSA) *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* dan gen *vanA* pada (VRSA) *Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus*.

I. Teknik dan Analisis Data

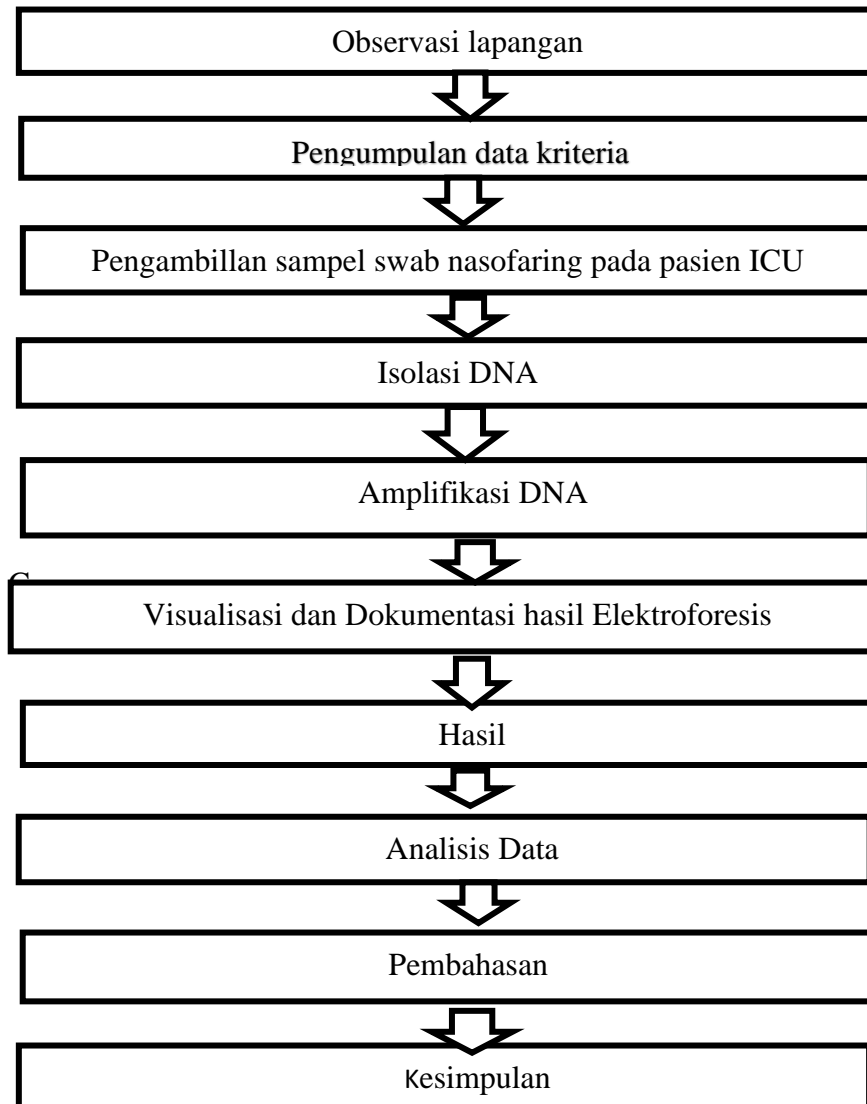
1. Editing

Data yang diperoleh dilakukan pengecekan kembali sehingga ketika terdapat kesalahan bisa langsung dikoreksi

2. Coding

Lembaran persetujuan yang ditandatangani berikan kode atau inisial. Tujuannya agar dapat disederhanakan sehingga mudah untuk ditandatangani

3. Tabulatin Menyusun data dengan sedemikian rupa agar dapat disusun dalam tabel

J. Alur Penelitian**Gambar 8. Alur Penelitian**

K. Etika Penelitian

Sebelum penelitian ini dilakukan, peneliti akan senantiasa memperhatikan dan menjaga etika, antara lain sebagai berikut :

1. Informed Consent

Lembar persetujuan yang akan diberikan terlebih dahulu kepada calon responden, kemudian peneliti akan menjelaskan maksud dan tujuan peneliti sebelum calon responden menyetujui lembar persetujuan tersebut. Jika calon responden bersedia dijadikan sebagai responden maka responden tersebut akan menandatangani lembar persetujuan demikian halnya juga dengan peneliti. Tetapi jika calon responden tersebut tidak bersedia untuk di jadikan responden maka peneliti tidak akan memaksakan calon responden tersebut dan peneliti akan menghormati keputusan dari calon responden tersebut.

2. Anonimity

Untuk kerahasiaan dari calon responden, peneliti tidak akan mencantumkan nama dari responden yang telah menandatangani lembar persetujuan. Tetapi peneliti akan memberikan kode yang berbeda bagi setiap responden

3. Confidentiality

Peneliti akan menjamin semua informasi dari calon responden dan responden yang telah didapat karena seluruh datanya hanya digunakan untuk kepentingan penelitian

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

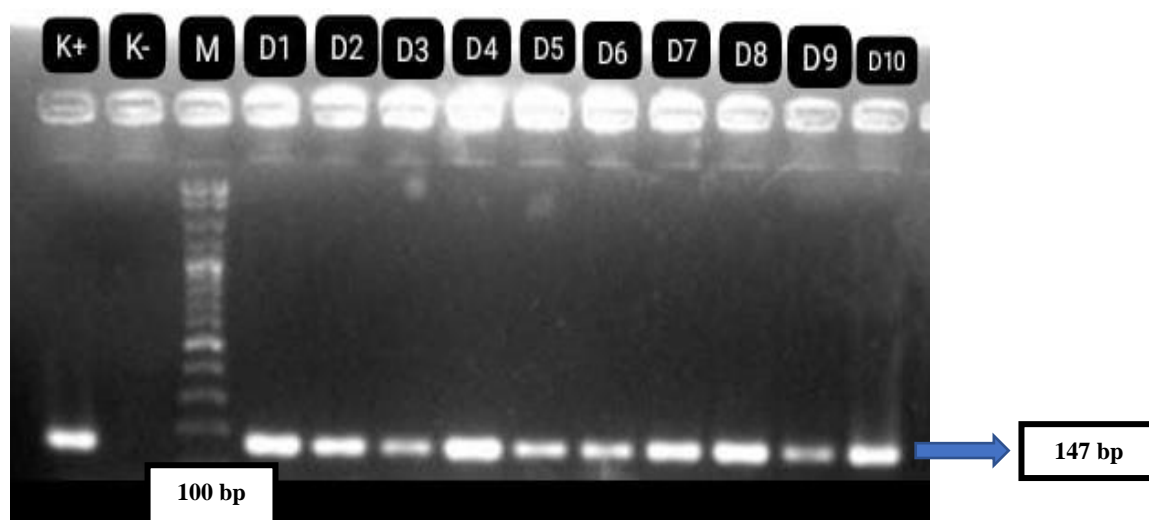
Pada penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan *Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus* (VRSA) pada sampel swab nasofaring pasien infeksi nosokomial menggunakan metode PCR, telah dilakukan penelitian deskriptif dengan subjek penelitian adalah pasien infeksi nosokomial yang dirawat lebih dari 3 hari. Sampel yang digunakan dapat dilihat berdasarkan kriteria sabagai berikut

1. Karakteristik Saampel Penelitian

Karakteristik Sampel	Jumlah	Persentase
1. Umur		
50-60 Tahun	5	50%
61-70 Tahun	2	20%
71-80 Tahun	2	20%
81-90 Tahun	1	10%
Total	10	100%
2. Jenis Kelamin		
Laki – Laki	6	60%
Perempuan	4	40%
Total	10	100%
3. Lama Perawatan		
> 3 hari	10	100%
Total	10	100%

Pada tabel 4.1 Karakteristik usia dikategorikan menjadi 4 kelompok yakni kelompok pertama usia 50-60 tahun berjumlah 5 responden (50%), kelompok kedua usia 61-70 tahun berjumlah 2 responden (20%), kelompok ketiga usia 71-80 tahun berjumlah 2 responden (20%) dan kelompok keempat 81-90 tahun berjumlah 1 responden (10%). karakteristik responden berjenis kelamin laki – laki sebanyak 6 responden (60%) dan perempuan 4 responden (40%). Karakteristik responden pada umur 50-60 tahun sebanyak 5 (50%) responden, 61-70 tahun sebanyak 2 (20%) responden, 71-80 sebanyak 2 (20%) responden, 8—90 sebanyak 1 (10%). karakteristik lama perawatan pasien di ruang ICU dikategorikan menjadi satu kelompok yaitu > 3 hari.

1. Hasil deteksi MRSA



Gambar .1 Hasil Elektroforesis MRSA

Keterangan :

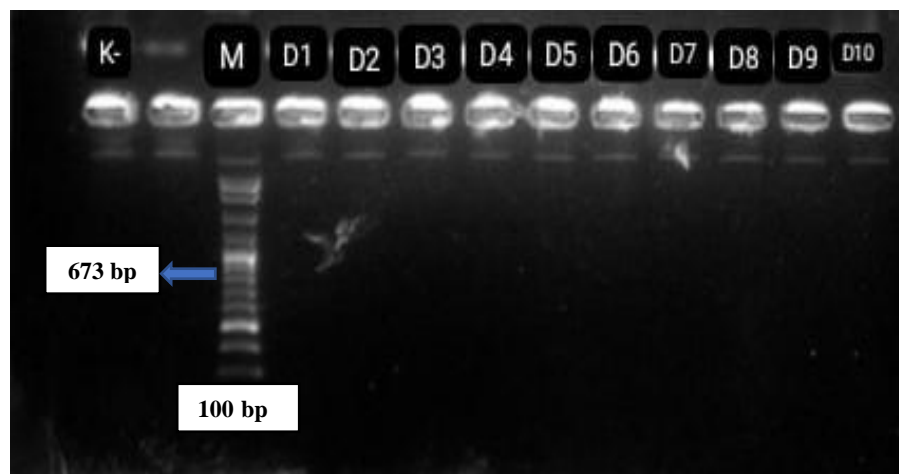
- M : Marker (penanda)
- D1-10 : Kode Sampel
- K + : Kontrol Positif
- K- : Kontrol Negatif

100 bp : Ukuran Marker yang digunakan

147 : Gen target MecA MRSA

Berdasarkan Gambar 1. diketahui bahwa dari 10 responden didapatkan hasil visualisasi gel doc pada deteksi *Metisillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dimana dari 10 sampel yang dideteksi terbentuknya pita DNA, sehingga dapat diketahui bahwa 10 sampel positif terdapat adanya *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* dalam sampel swab nasofaring hal ini ditunjukkan dengan munculnya pita DNA pada hasil elektroforesis tersebut.

2. Hasil Deteksi VRSA



Gambar 2 Hasil Elektroforesis VRSA

Keterangan :

M : Marker (penanda)

D1-D10 : Kode Sampel

K- : Kontrol Negatif

100 bp : Ukuran Marker yang digunakan

673 bp : Gen target VanA VRSA

Pada gambar 2 diketahui dari 10 responden didapatkan hasil visualisasi gel doc pada deteksi *Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus* (VRSA), dimana 10 sampel yang dideteksi tidak terbentuk pita DNA, sehingga dapat diketahui bahwa 10 sampel negatif tidak terdapatnya *Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus* dalam sampel swab nasofaring karena tidak terbentuk pita DNA pada hasil elektroforesis tersebut

Tabel 4.2 Hasil Pemeriksaan MRSA dan VRSA Berdasarkan Hasil Elektroforesis

Kode Sampel	MRSA	VRSA
D1	(+)	(-)
D2	(+)	(-)
D3	(+)	(-)
D4	(+)	(-)
D5	(+)	(-)
D6	(+)	(-)
D7	(+)	(-)
D8	(+)	(-)
D9	(+)	(-)
D10	(+)	(-)

Sumber : Data Primer (2025)

Keterangan :

- (+) : Terdeteksi gen MecA (MRSA) dan gen VanA (VRSA)
- (-) : Tidak terdeteksi gen MecA (MRSA) dan gen VanA (VRSA)

Berdasarkan tabel 4.2 tentang hasil pemeriksaan gen *mecA Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* pada sampel swab nasofaring di Rumah Sakit Ibnu Sina Kota Makassar menggunakan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*), diketahui bahwa sampel dengan kode 1-10 negatif yang menandakan tidak terdeteksi Gen *mec-A Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dengan target didapat berada di kisaran 147 bp.

Tabel 4.3 Persentase Hasil Identifikasi *aureus* (MRSA) dan (VRSA)

Hasil	MRSA		VRSA	
	Jumlah	Persentase	Jumlah	Persentase
Positif	10	100%	0	0%
Negatif	0	0%	10	100%

Sumber (Data primer 2025)

Berdasarkan tabel 4.3 diketahui bahwa dari 10 responden terdeteksi positif *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dengan jumlah terbanyak adalah responden yang positif *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* sebanyak 10 responden (100%), sedangkan jumlah responden yang negatif dengan jumlah 0 responden (0%). Dan pada tabel 4.3 juga diketahui bahwa dari 10 responden terdeteksi negatif *Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus* dengan jumlah terbanyak negatif *Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus* sebanyak 10 responden (100%), sedangkan positif dengan jumlah 0 responden (0%).

B. Pembahasan

Penelitian ini dilakukan selama periode bulan Mei – Juni 2025 di Laboratorium *Hasanuddin University Medical-Research Centre* (HUM-RC) Makassar menggunakan 10 sampel swab nasofaring pada pasien infeksi nosokomial di ruang ICU Rumah Sakit Ibnu Sina yang memenuhi kriteria. Objek pada penelitian ini adalah pasien infeksi nosokomial. Sebelum melaksanakan penelitian di Laboratorium *Hasanuddin University Medical-Research* (HUM-RC) Makassar pengambilan sampel swab nasofaring pada pasien infeksi nosokomial di ruang ICU

Rumah Sakit Ibnu Sina sebanyak 10 responden, pengambilan sampel swab di dampingi oleh tenaga kesehatan yang sudah memiliki STR. Setelah pengambilan sampel dilakukan pelabelan 1-10 pada tabung transfer dan dimasukkan ke dalam cool box yang berisi ice pack gel untuk mempertahankan stabilitas kondisi sampel ketika dalam perjalanan menuju *Laboratorium Hasanuddin University Medical-Research (HUM-RC)*. Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendeteksi *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)* dan *Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus (VRSA)* pada sampel swab nasofaring pasien infeksi nosokomial di Rumah Sakit Ibnu Sina Menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction (PCR)*

Pada penelitian ini menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction (PCR)*, karena ada beberapa alasan yakni, sensitivitas tinggi dapat mendeteksi DNA target dengan sensitivitas yang tinggi, sehingga dapat mendeteksi MRSA dan VRSA dengan akurat, spesifitas tinggi dapat dirancang untuk mendeteksi gen spesifik yang terkait dengan resistensi antibiotik, sehingga dapat membedakan antara MRSA dan VRSA, dan cepat memberikan hasil dalam waktu yang relatif singkat, sehingga dapat membantu dalam diagnosis dan pengobatan yang tepat

Penelitian ini menggunakan gen *MecA* untuk deteksi *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)* karena gen *MecA* adalah penanda yang spesifik untuk MRSA, sehingga dapat digunakan untuk mendeteksi MRSA dengan akurat, sementara gen *VanA Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus (VRSA)* adalah gen yang terkait dengan resistensi *Staphylococcus aureus* terhadap vankomisin dan juga penanda yang spesifik untuk VRSA, sehingga dapat digunakan untuk

mendeteksi VRSA dengan akurat. Digunakan sampel swab nasofaring karena *Staphylococcus aureus* banyak menjajah kulit dan membran mukosa sekitar sepertiga manusia. Kolonisasi hidung merupakan faktor resiko berbagai jenis infeksi *Staphylococcus aureus* pada semua populasi. Data terakhir menunjukkan bahwa rata-rata prevalensi kolonisasi *Staphylococcus aureus* masing-masing adalah 24% disaluran hidung (Gangnaire et al., 2019). Sehingga ini sejalan dengan penelitian yang saya lakukan yang dimana munculnya pita DNA yang menandakan adanya MRSA pada sampel swab nasofaring. Penelitian yang dilakukan oleh (Arsih, dkk (2019). Deteksi MRSA dilakukan menggunakan metode PCR dengan amplifikasi MecA yang dimana fragmen DNA terdeteksi dengan ukuran 500bp.

Adapun beberapa faktor yang menyebabkan dari 10 sampel terdeteksi MRSA antara lain, pasien yang sudah di rawat lebih dari tiga hari memiliki resiko yang lebih besar terkena MRSA karena pasien menggunakan alat bantu seperti kateter, jarum infus, ventilator dan sudah lama dalam lingkungan rumah sakit infeksi nosokomial terjadi setidaknya 3 x 24 jam setelah dimulainya pengobatan, sampel yang terdeteksi MRSA kemungkinan memiliki gen MecA yang terkait dengan resistensi methicillin, kondisi PCR yang optimal seperti suhu, waktu, dan konsentrasi reagen dapat meningkatkan sensitifitas deteksi MRSA, dan penggunaan kontrol positif dan negatif dapat membantu memastikan bahwa hasil deteksi MRSA akurat dan dapat diandalkan (Konoralma, 2019). Sementara faktor-faktor yang menyebabkan hasil deteksi VRSA negatif antara lain, ketiadaan gen VanA jika sampel tidak memiliki gen VanA yang resisten vankomisin, maka hasil deteksi VRSA dapat negatif, suhu annealing yang tidak optimal dapat mengurangi

spesifisitas dan sensitifitas deteksi VRSA, dan penggunaan enzim PCR yang tidak sesuai dapat mengurangi efisiensi PCR dan menyebabkan hasil deteksi VRSA negatif.

Hasil deteksi VRSA menunjukan dari 10 sampel tidak terdeteksi gen VanA (100%) ada beberapa kemungkinan yaitu, Karakteristik pasien yang tidak mendukung pasien tidak memiliki faktor resiko yang kuat untuk terinfeksi VRSA, seperti tidak memiliki riwayat penggunaan vankomisin yang lama atau tidak memiliki kondisi medis yang mendasarinya, penggunaan antibiotik yang efektif pasien mungkin telah menerima antibiotik yang efektif untuk mengobati infeksi *Staphylococcus aureus*, sehingga tidak ada VRSA yang terdeteksi.

adapun beberapa syarat-syarat untuk deteksi VRSA antara lain, primer yang spesifik untuk gen VanA yang terkait dengan resistensi vankomisin pada VRSA, kualitas DNA yang baik DNA yang digunakan harus memiliki kualitas yang baik dan tidak terdegradasi (molekul Dna telah rusak), konsentrasi DNA yang cukup untuk mendeteksi VRSA menggunakan PCR, pengaturan PCR yang optimal seperti, suhu, waktu dan konsentrasi reagen harus optimal untuk mendeteksi VRSA, kontrol positif dan negatif harus digunakan untuk memastikan hasil PCR yang akurat, sensitifitas PCR harus memiliki sensitifitas yang tinggi untuk mendeteksi VRSA dalam sampel, penggunaan enzim yang PCR yang sesuai, dan penggunaan buffer PCR yang sesuai.

MRSA yang didapat di rumah sakit (HA-MRSA) adalah patogen nosokomial terkemuka yang terkait dengan rawat inap yang lama, kateter perkutan, dialisis, ventilasi mekanis, trakeostomi, dan pasien yang lemah, lanjut usia, dan

immunocompromised. Peningkatannya yang signifikan di unit perawatan intensif (ICU) merupakan penyebab kekhawatiran bahkan di negara-negara di mana langkah-langkah pengendalian infeksi yang efektif secara rutin dilaksanakan (Mehta *et al.*, 2020). Hal ini jelas sejalan dengan penelitian yang saya lakukan pada pasien infeksi nosokomial yang dimana ditemukan MRSA pada pasien di ruang ICU menggunakan sampel swab nasofaring.

Sampel yang telah dikumpulkan akan dilakukan pemeriksaan dengan tahapan Ekstraksi DNA, Amplifikasi PCR, dan Elektroforesis. Menurut Gupta, (2019) ekstraksi DNA adalah metode pemurnian DNA dengan menggunakan metode fisika dan/atau kimia dari sampel yang memisahkan DNA dari membran sel, protein, dan komponen seluler lainnya. Ekstraksi DNA melibatkan lisis sel dan pelarutan DNA, yang diikuti dengan metode kimia atau enzimatik untuk menghilangkan makromolekul, lipid, RNA, atau protein.

Setelah dilakukan Ekstraksi DNA kemudian tahap selanjutnya dilakukan proses perbanyakan DNA (amplifikasi) menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) adalah teknik yang digunakan untuk melakukan perbanyakan DNA (amplifikasi DNA) dimana dalam metode PCR ini ada tiga tahapan yang dilakukan yaitu *denaturasi*, *annealing*, dan *extension* adalah proses pemanjangan DNA dengan bantuan enzim *Taq Polymerase Chain Reaction* diharapkan terbentuk DNA untai ganda.

Menurut Yuenleni, (2019) ciri hasil PCR dengan band yang optimal adalah adanya pita/band yang jelas, tidak terdapat smear yang terbentuk, serta ukurannya sesuai dengan target DNA yang diinginkan. Adapun faktor yang dapat

menyebabkan hasil pita DNA tidak spesifik atau tidak jelas disebabkan karena primer tidak dapat menempel dengan sempurna pada suhu yang terlalu rendah, sehingga enzim polimerase juga tidak dapat mengkatalisasi proses PCR jika primer tidak dapat menempel (Rosiana & Widhiantara, 2018). Selain itu, karena faktor penggunaan konsentrasi agarose, ukuran pori yang semakin kecil.

Setelah proses PCR selesai akan dilanjutkan ke tahap elektroforesis. Elektroforesis adalah suatu teknik pemisahan berdasarkan ukurannya dan pergerakan partikel (ion, molekul, makromolekul) dalam medan listrik DNA yang digunakan dalam elektroforesis ini adalah DNA yang bermuatan negatif, jika dialiri arus listrik dan molekul DNA yang melalui suatu medium maka akan bergerak dari kutub negatif ke kutub positif. Gel agarosa digunakan untuk analisis kualitas dari sampel DNA. Setelah di elektroforesis, molekul DNA dapat divisualisasikan dibawah sinar UV menggunakan *gel doc* UV Transilluminator setelah diwarnai dengan pewarna yang sesuai. Dimana pewarna DNA yang di pakai pada elektroforesis yaitu pewarna EtBr (*Ethidium Bromide*) karena EtBr akan berflouresensi bila disinari sinar UV.

Pada penelitian ini, menggunakan kontrol positif dari isolat bakteri *methicillin resistant staphylococcus aureus* yang diambil di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Makassar. Kontrol positif digunakan untuk mengetahui keberhasilan amplifikasi DNA serta pembanding hasil amplifikasi pada DNA sampel. Kontrol positif yang digunakan merupakan isolat bakteri yang telah diketahui dari penelitian sebelumnya memiliki gen *MecA*.

Berdasarkan gambar hasil elektroforesis yang telah visualisasi dengan Gel doc UV Transilluminator, (Gambar 4.1) menunjukkan bahwa dari 10 sampel yang telah diperiksa dalam penelitian terdeteksi adanya gen *MecA Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* pada sampel swab nasofaring pasien ICU. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Arsih dkk,(2019). Munculnya pita DNA yang menandakan adanya MRSA pada sampel swab nasofaring. (Gambar 4.2) menunjukkan bahwa dari 10 sampel yang telah diperiksa dalam penelitian tidak terdeteksi gen *VanA Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus* pada sampel swab nasofaring pasien ICU karena tidak munculnya pita DNA pada gen *VanA*. Menurut Purnomo dkk. (2021), bakteri MRSA ini sudah resisten terhadap sejumlah obat β -laktam, antara lain *sefalosporin, karbapenem, penisilin, metisilin, ampicilin, amoksisilin, nafcillin, karbenisilin,* dan oksasilin. Sejalan dengan penelitian yang saya lakukan yang dimana 10 responden pasien infeksi nosokomial di ruang ICU.

Pelayanan pasien yang buruk dan lingkungan rumah sakit yang tidak bersih, yang dapat mendorong pertumbuhan mikroorganisme yang tidak diinginkan, merupakan dua penyebab yang kontribusi terhadap temuan baik dalam penelitian ini. Pasien yang hasil tesnya positif MRSA juga memiliki resisten antibiotik terutama disebabkan oleh penggunaan antibiotik yang tidak rasional, kualitas antibiotik yang buruk, dan tidak adanya pengawasan pada saat pemberian antibiotik. Oleh karena itu, penting untuk mengatasi masalah ini untuk mencegah berkembangnya resistensi antibiotik. Penelitian ini terkait dengan penelitian sebelumnya Suyasa, (2020) karena pemberian antibiotik yang tidak tepat dapat

menyebabkan terbentuknya strain bakteri *Staphylococcus aureus* baru, sehingga mempersulit pengobatan dan memungkinkan penyebaran infeksi.

Mikroorganisme yang resisten terhadap antibiotik muncul akibat penggunaan antibiotik yang berlebihan. Sebagai fasilitas kesehatan, secara tidak langsung bertanggung jawab atas peningkatan dan penyebaran kuman yang resisten terhadap antibiotik, termasuk MRSA memiliki modifikasi genetik yang mengakibatkan resistensi terhadap berbagai kelas obat. Penyisipan kromosom *Staphylococcal Mec* kedalam kromosom *Staphylococcus aureus* menghasilkan kekebalan terhadap antibiotik. MRSA yang didapat di rumah sakit menimbulkan resiko yang signifikan karena, selain merugikan para medis, MRSA juga merupakan faktor penyebab HAI (*healthcare Association Infection*), yang memperpanjang perawatan pasien dan mempunyai dampak negatif tidak langsung terhadap situasi keuangan keluarga pasien. Di lingkungan layanan kesehatan, terdapat berbagai cara penyebaran kuman : melalui sentuhan para medis dengan pasien, melalui kontak pasien dengan peralatan medis yang kotor, atau bahkan dari pengunjung pasien ke pasien, dan sebaliknya (Priastiningrum dkk., 2021).

Antibiotik dapat digunakan untuk mengobati infeksi *Staphylococcus aureus* di sebagian besar keadaan. Namun, methisilin dan antibiotik lain yang banyak digunakan termasuk *amoksisisilin*, *penisilin*, dan *sefalosporin* tidak efektif melawan bentuk *Staphylococcus aureus* yang resisten methisilin yang dikenal sebagai MRSA. Penggunaan antibiotik yang berlebihan akan menyebabkan berkembangnya resistensi antibiotik. Permintaan akan antibiotik baru yang berspektrum lebih luas muncul dari resistensi antibiotik, yang menyebabkan

penyakit dengan kuman yang resisten terhadap pengobatan antibiotik standar. Biaya pengobatan yang dikeluarkan sendiri oleh pasien akan meningkat ketika jenis jenis antibiotik yang lebih baru digunakan. Dampak tambahannya mencakup perubahan ekologi infeksi di rumah sakit, toksisitas yang kuat, dan masalah psikologis bagi pasien dan keluarganya (Hayati dkk., 2022).

Pasien yang terinfeksi MRSA memiliki masa rawat di ruang ICU yang lebih lama dan memiliki prognosis yang buruk. Lamanya perawatan lebih dari 3 hari di ruang ICU dapat menjadi salah satu faktor terinfeksi MRSA. Berdasarkan penelitian Mehta *et al.*, (2020) *Staphylococcus aureus* yang resisten methicillin dikaitkan dengan hasil klinis yang buruk di ICU. Hal ini menimbulkan beban yang signifikan terhadap praktik pengendalian infeksi di rumah sakit. Selain itu, ICU merupakan tempat yang penting untuk penyebaran MRSA yang lebih luas, karena pasien dirawat dan dipulangkan ke fasilitas pelayanan kesehatan yang berbeda seperti bangsal dan rumah sakit lain. Penelitian ini juga berhubungan dengan penelitian sebelumnya Nuryah dkk., (2019) tungginya prevalensi pasien MRSA yang menerima perawatan di ruang ICU ini dapat menjelaskan bahwa infeksi MRSA dengan kondisi klinis yang lemah atau penggunaan alat-alat medis yang lama serta lamanya perawatan dapat menyebabkan infeksi MRSA. Selain itu bukan hanya di ruang ICU saja tetapi di ruang rawat inap dapat terinfeksi MRSA dikarenakan faktor angka kuman di bangsal yang harus diperhatikan sehingga menurunkan angka resistensi antibiotik.

Salah satu upaya pengendalian infeksi yang disebabkan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) di fasilitas perawatan jangka panjang

adalah deteksi dini keberadaan MRSA dalam tubuh manusia. Deteksi dini di rumah sakit dapat terjadi pada saat pasien masih berada di unit gawat darurat, sebelum pasien mendapat perawatan lebih lanjut di ruang perawatan (Nismawati dkk., 2018). Penggunaan antibiotik yang merupakan salah satu upaya pengendalian infeksi *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), hal ini sangat penting diperhatikan untuk menghindari terjadinya resistensi antibiotik. Selain itu penerapan jadwal kunjungan pasien, kepadatan orang yang berada di ruangan, meningkatkan pelayanan kesehatan yang baik, kebersihan ruangan perlu dilakukan pengendalian sehingga bisa menurunkan tingkat penyebaran infeksi nosokomial.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian pada swab nasofaring pasien infeksi nosokomial yang dirawat di ruang ICU didapatkan hasil dari 10 sampel yang dideteksi didapatkan hasil 100% sampel positif terdeteksi gen *MecA Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) sementara tidak ditemukan gen *VanA Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus* (VRSA) pada swab nasofaring menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

B. Saran

Pada peneliti selanjutnya disarankan untuk memperbanyak jumlah sampel, penyimpanan sampel pada suhu yang optimal dan lebih menspesifikasikan sampel agar hasil yang didapatkan lebih akurat.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahsan, Elvira sari Dewi.(2021) Knowledge Manajemen dan penerapannya pada asuhan Keperawatan Pencegahan Infeksi Nosokomial.21-87
- Algammal, A. M., Hetta, H. F., Elke lish, A., Alkhalifah, D. H. H., Hozzein, W. N., Batiha, G. E. S., Nahhas, N. El, & Mabrok, M. A. (2020). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): One health perspective approach to the bacterium epidemiology, virulence factors, antibiotic-resistance, and zoonotic impact. *Infection and Drug Resistance*, *13*, 3255–3265.
- Bhimwal R, Rustandi RR, Payne A, Dawod M. (2022) *Recent advances in capillary gel electrophoresis for the analysis of proteins*. J Chromatogr A. 1682:463453. doi: 10.1016/j.chroma.2022.463453. Epub 2022 Aug 28. PMID: 36162253.
- Darmadi, (2008). *Infeksi Nosokomial*. Penerbit Salemba. <https://books.google.co.id>
- Dewi, E. S., & Media, T. (2021). *Knowledge Management & Penerapannya pada Asuhan Keperawatan Pencegahan Infeksi Nosokomial*. Tidar Media.
- Dwiyanti A, R., Achmad M., Ahmad M. (2015) MRSA dan VRSA Pada Para Medis RSUD Ratu Zalecha Martapura
- Djokosujono, K., A'yun, Q. H., Nurlita, H. (2014). Deteksi Methicillin Resistant *Staphylococcus Aureus* (MRSA) menggunakan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR) Gen nuc dan mecA
- Ethica, S. N. (2019). *Pengantar Bioinformatika Untuk Mahasiswa Laboratorium Medis*. Deepublish. <https://books.google.co.id/books?id=n6D6DwAAQBAJ>
- Faisal, M., Sari, R., & Apridamayanti, P. (2019). Optimasi Suhu Annealing Gen mecA Resistensi Antibiotik Amoksilin Dari Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Pasien Ulkus Diabetik. *Jurnal Farmasi*, *4*(1), 1–12.
- Gagnaire, J., Botelho-Nevers, E., Martin-Simoes, P., Morel, J., Zéni, F., Maillard, N., Mariat, C., Haddar, C. H., Carricajo, A., Fonsale, N., Grattard, F., Pozzetto, B., Laurent, F., Berthelot, P., & Verhoeven, P. O. (2019). The interplay of nasal and rectal carriage of *Staphylococcus aureus* in intensive care unit patients. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, *38*(10), 1811–1819.
- Green MR, Sambrook J. (2018) Analysis and Normalization of Real-Time Polymerase Chain Reaction (PCR) Experimental Data. Cold Spring Harb Protoc. doi: 10.1101/pdb.top095000. PMID: 30275081.
- Hanina, Humaryanto, Gading, P. W., Aurora, W. I. D., & Harahap, H. (2022). Nurul Iman Tentang Infeksi *Staphylococcus Aureus* Di Kulit Dengan Metode

- Penyuluhan. *Medic*, 5(2), 426–430.
- Hassoun, A., Linden, P. K., & Friedman, B. (2017). Incidence, prevalence, and management of MRSA bacteremia across patient populations-a review of recent developments in MRSA management and treatment. *Critical Care* (London, England), 21(1), 211. <https://doi.org/10.1186/s13054-017-1801-3>
- Hastuti HS., A. M. P. (2020.) *Pengawasan Mutu Hasil Perikanan Melalui Pengujian Staphylococcus Aureus*. Guepedia.
- Husna, C. A. (2018). Peranan Protein Adhesi Matriks Ekstraselular Dalam Patogenitas Bakteri Staphylococcus Aureus. *Averrous: Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan Malikussaleh*, 4(2), 99.
- Khairunnisa, N., Lisa Yuniati, K., St Fahirah Arsal, A., & Faisal Syamsu, R. (2023). Efektifitas Ekstrak Daun Kemangi & Ekstrak Daun Sirih Merah sebagai Anti Mikroba Staphylococcus aureus Penyebab Furunkle. *Fakumi Medical Journal: Jurnal Mahasiswa Kedokteran*, 3(2), 106–111.
- Konoralma, K. (2019). Identifikasi Bakteri Penyebab Infeksi Nosokomial di Rumah Sakit Umum Gmim Pancaran Kasih Manado. *Jurnal Kesmas*, 8(1), 23–35.
- Kusnadi, J., & Arumingtyas, E. L. (2020). *Polymerase Chain Reaction (PCR): Teknik dan Fungsi*. Universitas Brawijaya Press.
- Larasati, S. A., Windria, S., & Cahyadi, A. I. (2020). Virulence Factorsofstaphylococcus Aureus Which Play an Important Role in the Occurrence of Mastitis in Dairy Cattle: a Literature Review. *Indonesia Medicus Veterinus*, 9(6), 984–999.
- Lee, A. S., Lencastre, H. De, Garau, J., Kluytmans, J., Malhotra-kumar, S., Peschel, A., & Harbarth, S. (2018). Methicillin-resistant Staphylococcus aureus. *Nature Publishing Group*, 4(May) ,1–23. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.33>
- Maharjan M, dkk. 2021. Konfirmasi molekuler Staphylococcus aureus yang resisten terhadap vankomisin dengan gen VanA di RS. Kathmandu.
- Mehta, Y., Hegde, A., Pande, R., Zirpe, K. G., Gupta, V., Ahdal, J., Qamra, A., Motlekar, S., & Jain, R. (2020). Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in Intensive Care Unit Setting of India: A Review of Clinical Burden, Patterns of Prevalence, Preventive Measures, and Future Strategies. *Indian Journal of Critical Care Medicine*, 24(1), 55–62. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10071-23337>
- Nandhini, P., Kumar, P., Mickymaray, S., Alothaim, A. S., Somasundaram, J., &

- Rajan, M. (2022). Recent Developments in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Treatment: A Review. *Antibiotics*, 11(5), 1–21. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11050606>
- Nuryah, A., Yuniarti, N., & Puspitasari, I. (2019). Prevalensi dan Evaluasi Kesesuaian Penggunaan Antibiotik pada pasien dengan Infeksi Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* di RSUP Dr. Soeradji Tirtonegoro Klatem. *Majalah Farmaseutik*, 15(2), 123
- Prasasti, A., Oktafiani, D., Kasiyati, M., Widiyastuti, N. E., Kawitantri, O. H., Susilawati, N. M., Wulandari, E. Y., Warella, J. C., Bria, M., & others. (2023). *Mikrobiologi & Parasitologi*. Sada Kurnia Pustaka.
- Pratomo, Y. W., Zahids, F., & Yuda, P. (2021). Perbandingan Metode Isolasi DNA sebagai Templat PCR untuk identifikasi jenis kelamin Cerek Jawa (*Charadrius javanicus*) Secara Molekuler) Menggunakan Primer
- Putri, A. K., & Sonia, D. (2021). Efektivitas Pengembalian Berkas Rekam Medis Rawat Inap dalam Menunjang Kualitas Laporan di Rumah Sakit Bhayangkara Sartika Asih Bandung. *Jurnal Inovasi Penelitian*, 2(3), 909–916.
- Rahman, I. W., Arfani, N., & Tadoda, J. V. (2023). Deteksi Bakteri MRSA *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* pada Sampel Darah Pasien Rawat Inap. *Jurnal Ilmu Alam Dan Lingkungan*, 14(1), 48–54.
- Rismayanti, M., & Hardisman, H. (2019). Gambaran Pelaksanaan Program Pencegahan dan Pengendalian Infeksi Di Rumah Sakit Umum X Kota Y. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 8(1), 182. <https://doi.org/10.25077/jka.v8i1.989>
- Rosiana, I. W., & Widhiantara, I. G. (2018). Optimalisasi Produk PCR (Polymerase Chain Reaction) Pada Analisa Keragaman Genetik Mikrosatelit Burung kakatua Kecil Jambul Kuning (*Cacatua sulphurea*). *Jurnal Media Sains*, 2(1), 37-42.
- Sahambangung, I., Mantiri, M., & Sampe, S. (2021). Kualitas Pelayanan Kesehatan Di Rumah Sakit Umum Daerah Lapangan Sawang Kabupaten Kepulauan Siau Tagulandang Biaro. *Jurnal Governance*, 1(2), 2.
- Sahli, I. T. (2023). *Protein Biofilm Bakteri Staphylococcus aureus Dan Produksi Antibodi Poliklonal*. Feniks Muda Sejahtera.
- Soleha, U. T., Sutyarso, Asep. S., Sunardi, Sutopo. H. (2024) Identification Of vanA gene on Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus* from Diabetic Ulcer Isolate at Lampung Province. *Journal Biomedical dan Pharmacology*, 17(1).
- Suarmayasa, I. N. (2023). Pola Kuman Pada Manset Sphygmomanometer : Studi

Deskriptif Di Rsd Mangusada. *Jurnal Riset Kesehatan Nasional*, 7(2), 163–168. <https://doi.org/10.37294/jrkn.v7i2.481>

Sugireng, & Rosdarni. (2020). Deteksi MRSA (Methicilin Resistant Staphylococcus aureus) dengan Metode PCR Pada Pasien Ulkus Diabetikum. *Jurusan Biologi, Fakultas Sains Dan Teknologi, UIN Alauddin Makassar, September*, 31–35.

Suyasa, I. B. O. (2020). Gambaran Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Pada Petugas Kesehatan RSUD Wangaya Kota Denpasar. *Meditory : The Journal of Medical Laboratory*, 8(1), 46–52.

Tan M, Liao C, Liang L, Yi X, Zhou Z, Wei G. Recent advances in recombinase polymerase amplification: Principle, advantages, disadvantages, and applications. *Front Cell Infect Microbiol.* 12:1019071. doi: 10.3389/fcimb.2022.1019071. PMID: 36519130

Utaminingsih, B. V.M. (2015). Pengaruh Pemberian Minyak Nigella Sativa Dan Kombinasinya Dengan Seftariakson Terhadap Jumlah Kuman Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Pada Kultur Otak Mencit BABL/C: *Karya Tulis Ilmiah*

Yuwono, (2011). Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA): Ancaman Serius Pada Penatalaksanaan Pasien Infeksi: *Syifa Medika*, 1(2)

LAMPIRAN

Lampiran 1. Master Data

No	Kode sampel	Umur	Jenis Kelamin	Lama Rawat (Hari)	Penyakit Pernapasan	Alat Bantu	Antibiotik
1	D1	50 th	L	6	Ya (Asma)	Ventilator, Keteter,infus	<i>Ceptryzxone</i>
2	D2	85 th	L	9	Ya (Asma)	Ventilator, Keteter,infus	<i>Mekopenem</i>
3	D3	74 th	L	6	Ya (Asma)	Ventilator, Keteter,infus	<i>Ceftriaxon</i>
4	D4	51 th	P	4	Ya (Asma)	Ventilator, Keteter,infus	<i>Meropanem</i>
5	D5	57 th	P	11	Ya (Asma)	Ventilator, Keteter,infus	<i>Ceftriazone</i>
6	D6	50 th	L	4	Ya (Asma)	Ventilator, Keteter,infus	<i>Meropenem</i>
7	D7	72 th	L	4	Tidak	Keteter, Infus	<i>ceptryzxone</i>
8	D8	66 th	L	4	Ya (Asma)	Ventilator, Keteter,infus	<i>Ceftriazone</i>
9	D9	51 th	P	5	Ya (Asma)	Ventilator, Keteter,infus	<i>Cefotzime</i>
10	D10	66 th	P	5	Ya (Asma)	Ventilator, Keteter,infus	<i>Meropenem</i>

Lampiran 2 Kuesioner Penelitian (Sebelum Pengumpulan Data)**LEMBAR KUESIONER PENELITIAN**

Berikut ini adalah kuesioner yang berkaitan dengan penelitian tentang
Deteksi GEN MEC-A *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan
GEN VAN-A *Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus* (VRSA) PADA
PASIEN ICU DEGAN METODE PCR

Identitas Responden

Nama :

Umur :

Jenis Kelamin :

1) Berapa lama pasien dirawat di ruang ICU?

Jawab:

2) Apakah ada penyakit pernapasan yang diderita oleh pasien?

a. Ya

b. Tidak

3) Apakah ada riwayat penyakit lain yang diderita oleh pasien?

a. Ya

b. Tidak

4) Apakah pasien baru-baru mengonsumsi antibiotik?

Jawab:

Jenis antibiotik apa yang di konsumsi?

Jawab:

5) Apakah pasien Menerima perawatan yang melibatkan masuknya alat ke dalam tubuh, misalnya infus, keteter, atau alat bantu napas?

a. Ya

b. Tidak

Lampiran 3 Kuesioner Penelitian (Setelah Pengumpulan Data)**LEMBAR KUESIONER PENELITIAN**

Berikut ini adalah kuesioner yang berkaitan dengan penelitian tentang
Deteksi GEN MEC-A *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan
GEN VAN-A *Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus* (VRSA) PADA
PASIEN ICU DENGAN METODE PCR

Identitas Responden

Nama : TN , ...
Umur : 50 thn
Jenis Kelamin : LAKI - LAKI

1) Berapa lama pasien dirawat di ruang ICU?

Jawab: 4 Hari

2) Apakah ada penyakit pernapasan yang diderita oleh pasien?

- a. Ya
 b. Tidak

3) Apakah ada riwayat penyakit lain yang diderita oleh pasien?

- a. Ya
 b. Tidak

4) Apakah pasien baru-baru mengonsumsi antibiotik?

Jawab: ~~Amoksisilin~~ YA

Jenis antibiotik apa yang di konsumsi?

Jawab: MEROPENEM

5) Apakah pasien Menerima perawatan yang melibatkan masuknya alat
kedalam tubuh, misalnya infus, kateter, atau alat bantu napas?

- a. Ya
 b. Tidak

Lampiran 4 Informed Consent

LEMBAR PERSETUJUAN RESPONDEN (Informed Consent)
Deteksi GEN MEC-A *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan
GEN VAN-A *Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus* (VRSA) PADA
PASIEN ICU DENGAN METODE PCR


Saya yang bertanda tangan dibawah ini :


Nama : Th Amir
 Umur : 50 thn
 Jenis Kelamin : Laki - laki
 Alamat : Jl. Pongtiku I

Judul : "Deteksi Gen mec-A *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan Gen van-A *Vancomycin Resistant Staphylococcus aureus* (VRSA) PADA PASIEN ICU DENGAN METODE PCR


Bahwa saya yang bertanda tangan di bawah ini menyatakan, memahami dan menyadari bahwa penelitian ini tidak akan mempengaruhi atau mengakibatkan hal yang merugikan saya. Oleh karena itu saya bersedia menjadi responden dalam penelitian ini dengan menjawab semua pertanyaan dengan jujur sesuai kondisi yang sebenarnya dan secara sukarela tanpa ada paksaan dari siapapun

Makassar, 5 Mei 2025

Responden

 (.....)

Peneliti

 (Maria Ermelinda Fono)

Lampiran 5 Surat Rekomendasi Penelitian LPPM



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

Kampus II - Jalan Antang Raya No. 43 Telp. 0411 - 492 401 - 496401 Fax 496614 Website : <http://universitasmegarezky.ac.id> Email : info@universitasmegarezky.ac.id

Makassar, 15 April 2025

Nomor : **159** /07.091056/IV/2025
 Lampiran : -
 Perihal : **Rekomendasi Izin Penelitian**

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

DI -
Makassar


Dengan hormat,
 Dalam rangka penyelesaian tugas akhir Mahasiswa Fakultas Teknologi Kesehatan Program Studi DIV 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 : Maria Ermelinda Fono
NIM : B1D121124
Judul Skripsi/KTI : *DETEKSI METHICILLIN-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) dan VANCOMYCIN Resistant Staphylococcus aureus (VRSa) PADA Pasien ICU DENGAN MENGGUNAKAN METODE PCR*
Pembimbing : 1. Indas Wari Rahman, S.Si.,M.Kes
 2. Andi Meinar Dwi Rantisari,SKM.,M.Kes
Tempat Penelitian : Laboratorium Biologi Molekuler *Hasanuddin University Research Center (HUMRC)*

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

Tembusan Kepada Yth:

1. Yang Bersangkutan
2. Arsip



Kepala LPPM
Ns. Swanthy Yuliyana Sabar, M.Kep
 MDN:09-151186 02

Lampiran 6 Surat Rekomendasi Penelitian Dinas Penanaman Modal Dan Pelayanan Terpadu Satu Pintu (DPMPTSP)



**PEMERINTAH PROVINSI SULAWESI SELATAN
DINAS PENANAMAN MODAL DAN PELAYANAN TERPADU SATU PINTU**

Jl. Bougainville No.5 Telp. (0411) 441077 Fax. (0411) 448936
Website : <http://simap-new.sulselprov.go.id> Email : ptsp@sulselprov.go.id
Makassar 90231

Nomor	: 8909/S.01/PTSP/2025	Kepada Yth.
Lampiran	: -	Direktur HUM-RC RSP Univ. Hasanuddin Makassar
Perihal	: <u>Izin penelitian</u>	

di-
Tempat

Berdasarkan surat Kepala LPPM Universitas Megarezky, Makassar Nomor : 1159/07.091056/IV/2025 tanggal 15 April 2025 perihal tersebut diatas, mahasiswa/peneliti dibawah ini:

N a m a	: MARIA ERMELINDA FONO
Nomor Pokok	: B1D121124
Program Studi	: D-IV 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 METHICILLIN- RESISTANT Staphylococcus aureus (MRSA) DAN VANCOMYCIN - RESISTANT Staphylococcus aureus (VRSA) PADA PASIEN ICU DENGAN METODE PCR ***

Yang akan dilaksanakan dari : Tgl. *05 Mei s/d 05 Juni 2025*

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

Demikian Surat Keterangan ini diberikan agar dipergunakan sebagaimana mestinya.

Diterbitkan di Makassar
Pada Tanggal 05 Mei 2025


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



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

Tembusan Yth
1. Kepala LPPM Universitas Megarezky, Makassar di Makassar,
2. *Pertinggal.*

Lampiran 7 Surat Rekomendasi Penelitian HUMRC

	ADMINISTRASI	FORMULIR 1
	Nomor : 166/05/FR1/2025	Tanggal : 7 Mei 2025
SURAT PENGANTAR PENELITIAN		

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

Dengan ini menerangkan bahwa peneliti/mahasiswa berikut ini :

Nama : Maria Ermelinda Fono
NIM : B1D121124
Institusi : DIV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Megarezky

Akan melakukan pengambilan data/ analisa bahan hayati :

Pada tanggal : 7 Mei 2025 s/d Selesai
Jumlah subjek : ± 15 sampel swab nasofaring
Jenis data : Data Primer

Untuk penelitian dengan judul :

"Deteksi Methicillin- Resistant Staphylococcus Aureus (Mrsa) Dan Vancomycin-Resistant Staphylococcus Aureus (Vrsa) Pada Pasien Icu Dengan Metode PCR"

Harap dilakukan pembimbingan dan pendampingan seperlunya. Terima Kasih.

Staf Administrasi,




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



Lampiran 8 Surat Kode Etik



Kementerian Kesehatan

**Direktorat Jenderal
Sumber Daya Manusia Kesehatan**
Politeknik Kesehatan Makassar
Jalan Wijaya Kusuma Raya No. 46 Banta-Bantaeng
Makassar, Sulawesi Selatan 90222
08115566600
<https://portal.poltekkes-mks.ac.id>

KETERANGAN LAYAK ETIK
DESCRIPTION OF ETHICAL EXEMPTION
"ETHICAL EXEMPTION"
No.: 0719/M/KEPK-PTKMS/V/2025

Protokol penelitian yang diusulkan oleh :
The research protocol proposed by

Peneliti Utama : **Maria Ermelinda Fono**
Principal in Investigator

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

Dengan Judul
Title

"Deteksi Methicillin Resistant - Staphylococcus aureus (MRSA) dan Vancomycin - Resistant Staphylococcus aureus (VRSA) pada pasien ICU metode PCR"

"Detection of Methicillin - Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) and Vancomycin - Resistant Staphylococcus aureus (VRSA) in ICU patients Using PCR Method"

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

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

Pernyataan Layak Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 01 Mei 2025 sampai dengan tanggal 01 Mei 2026.

Declaration of ethics applies during the period May 01, 2025 until May 01, 2026.



Lampiran 9 Surat Selesai Penelitian

 HUM-RC <small>HASILAHUNDA UNIVERSITY MEDICAL RESEARCH CENTER</small> <small>science for a better future</small>	ADMINISTRASI	FORMULIR 2
	Nomor : 669/12/FR2/2025	Tanggal : 11 Desember 2025
SURAT KETERANGAN SELESAI PENGAMBILAN DATA/ ANALISA BAHAN HAYATI		

Dengan hormat,

Dengan ini menerangkan bahwa peneliti/mahasiswa berikut ini :

Nama : Maria Ermelinda Fono
 NIM : B1D121124
 Institusi : DIV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Megarezky
 Judul Penelitian : **Deteksi Methicillin- Resistant Staphylococcus Aureus (Mrsa) Dan Vancomycin- Resistant Staphylococcus Aureus (Vrsa) Pada Pasien Icu Dengan Metode PCR.**

Telah selesai melakukan pengambilan data/ analisa bahan hayati :

Pada tanggal : 7 Mei s.d 8 Desember 2025
 Jumlah subjek : ± 15 sampel swab nasofaring
 Jenis data : Data Primer

Dengan staf pendamping/pembimbing :

Nama : Marina Binti Ali
 Konsultan : -

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

Demikian surat ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Pendamping/Pembimbing



Marina Binti Ali, S.Si
 NIP


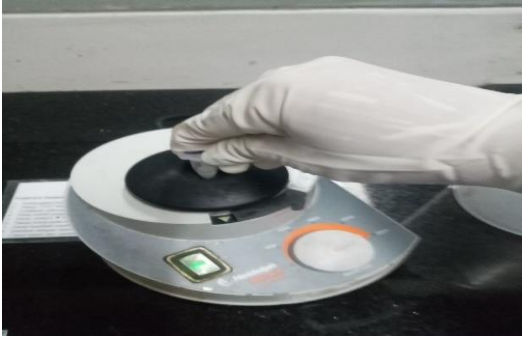

Mengetahui,
 Kepala Laboratorium,





dr. Rusdina Bte Ladju, Ph.D
 NIP 198108302012122002

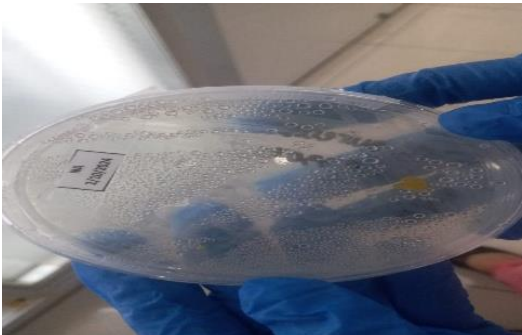


Lampiran 9 Surat Selesai Peneliti
Lampiran 10 Dokumentasi
Ekstraksi DNA MRSA dan VRSA



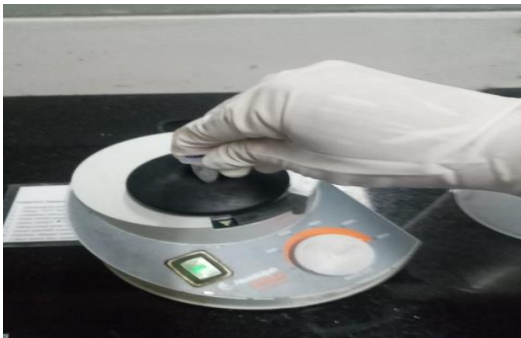
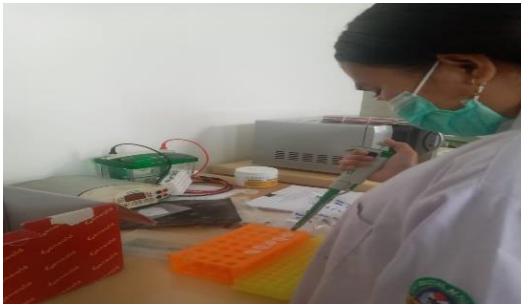
NO	Gambar	Keterangan
1		Penggumpulan Sampel Swab Nasofaring
2		Vortex Sampel
3		Pemipetan Sampel



4		Penambahan Proteinase- K
5		Proses Inkubasi
6		Penambahan GSB Buffer
7		Penambahan Etanol Absolut

<p>8</p>		<p>Proses Sentrifugasi</p>
<p>9</p>		<p>Pebambahan Buffer Wasing (w1) dan W2</p>

<p>10</p>		<p>Kontrol positif MRSA</p>
-----------	---	------------------------------------

Amplifikasi DNA MRSA dan VRSA

No	Gambar	Keterangan
1		Proses PCR Mix Mencampurkan Dream Taq
2		Proses penambahan primer MRSA dan VRSA
3		Di Vorteks
4		Pemipetan Template DNA

5		Di homogenkan
6		Proses didalam mesin PCR

Elektroforesis MRSA dan VRSA

No	Gambar	Keterangan
1		Proses pembuatan Gel Agarose
2		Proses Elektroforesis