

SKRIPSI

**DESAIN PRIMER DAN OPTIMASI METODE *POLYMERASE
CHAIN REACTION* UNTUK DETEKSI SPESIFIK BAKTERI
*Salmonella typhi***



Oleh :

PUTU SURYA KENCANA TALIA DEWI
NIM. P07134220003

**KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
POLTEKKES KEMENKES DENPASAR
JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
PRODI SARJANA TERAPAN
DENPASAR
2024**

SKRIPSI
DESAIN PRIMER DAN OPTIMASI METODE POLYMERASE
CHAIN REACTION UNTUK DETEKSI SPESIFIK BAKTERI
Salmonella typhi

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat
Menyelesaikan Pendidikan Sarjana Terapan
Jurusan Teknologi Laboratorium Medis

Oleh :
PUTU SURYA KENCANA TALIA DEWI
NIM. P07134220003

KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
POLTEKKES KEMENKES DENPASAR
JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
PRODI SARJANA TERAPAN
DENPASAR
2024

LEMBAR PERSETUJUAN

DESAIN PRIMER DAN OPTIMASI METODE POLYMERASE CHAIN REACTION UNTUK DETEKSI SPESIFIK BAKTERI *Salmonella typhi*

OLEH :

PUTU SURYA KENCANA TALIA DEWI
NIM. P07134220003

TELAH MENDAPATKAN PERSETUJUAN

Pembimbing Utama :

Pembimbing Pedamping :



Burhannuddin S.Si., M.Biomed
NIP. 198602282009121003



Drs. I Gede Sudarmanto, B.Sc., M.Kes.
NIP. 196005061983021001

MENGETAHUI :

KETUA JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
POLTEKKES KEMENKES DENPASAR



I Gusti Ayu Sri Dyanaputri, S.KM., M.PH.
NIP. 197209011998032003

SKRIPSI DENGAN JUDUL :

DESAIN PRIMER DAN OPTIMASI METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION* UNTUK DETEKSI SPESIFIK BAKTERI *Salmonella typhi*

Oleh :

PUTU SURYA KENCANA TALIA DEWI
NIM.P07134220003

TELAH DIUJI DI HADAPAN TIM PENGUJI

PADA HARI : SENIN

TANGGAL : 06 MEI 2024

TIM PENGUJI :

1. Dr. dr. I Gusti Agung Dewi Sarihati, (Ketua Penguji) 
M.Biomed.
2. Burhannuddin S.Si., M.Biomed (Anggota Penguji 1) 
3. Dr. drg. I Gusti Agung Ayu Dharmawati, (Anggota Penguji 2) 
M. Biomed

MENGETAHUI :

**KETUA JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
POLTEKKES KEMENKES DENPASAR**



LEMBAR PERSEMBAHAN

Puja dan puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan karunia dan rahmat-Nya sehingga saya mampu menyelesaikan Skripsi dengan baik dan tepat pada waktunya.

Ucapan terima kasih saya ucapkan kepada keluarga saya tercinta, terutama Ibu, Ayah, Om Nyoman Sudarma, sahabat dokumen negara (Lestariw,Mitoel,Ardha), teman-teman, anabul saya Barnney, teman seperjuangan penelitian saya Delia & Eva, dan idola saya Bangtan Sonyeondan yang senantiasa memberikan doa, dukungan dan motivasi secara mental serta material hingga saya bisa sampai di titik ini.

Terima kasih kepada Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Denpasar yang telah memberikan ilmu pengetahuan, bimbingan dan pengalaman yang sangat berarti selama masa perkuliahan.

Terima kasih kepada Bapak Burhannuddin S.Si., M.Biomed dan Bapak Drs. I Gede Sudarmanto, B.Sc., M.Kes. selaku dosen pembimbing yang sabar memberikan bimbingan, masukan dan dukungan dalam menyelesaikan skripsi ini

Terima kasih kepada teman-teman yang sudah bersama saya melewati suka dan duka selama 4 tahun berkuliah di Poltekkes Kemenkes Denpasar. Terima kasih atas dukungan moral dan bimbingannya sehingga saya senantiasa bersemangat untuk menyelesaikan Skripsi ini.

Skripsi ini saya persembahkan sebagai tanda bukti kepada orang tua tercinta, Om Nyoman Sudarma, sahabat dokumen negara (Lestariw,Mitoel,Ardha), teman-teman, anabul saya Barnney dan idola saya Bangtan Sonyeondan yang selalu memberi support untuk menyelesaikan Skripsi ini.

RIWAYAT PENULIS



Penulis bernama Putu Surya Kencana Talia Dewi, lahir di Dencarik pada tanggal 15 November 2001.

Penulis beralamat tinggal di Jalan Griya Anyar, Kota Denpasar. Penulis merupakan anak pertama dari dua bersaudara dari pasangan I Ketut Hartawan dan Nyoman Swartini.

Penulis memulai pendidikan pada tahun 2007-2008 di TK Kusuma Sari. Pada tahun 2008-2014 penulis melanjutkan pendidikan jenjang Sekolah Dasar di SD Tunas Harapan Jaya. Pada tahun 2014-2017 penulis melanjutkan pendidikan ke jenjang Sekolah Menengah Pertama di SMP Ganesha Denpasar. Pada tahun 2017-2020 penulis melanjutkan pendidikan ke jenjang Sekolah Menengah Kejuruan di SMK Kesehatan Bali Medika Denpasar. Pada tahun 2020 penulis menyelesaikan pendidikan di SMK dan melanjutkan pendidikan di Poltekkes Kemenkes Denpasar Program Studi Sarjana Terapan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis.

SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Putu Surya Kencana Talia Dewi

NIM : P07134220003

Program Studi : Sarjana Terapan

Jurusan : Teknologi Laboratorium Medis

Tahun Akademik : 2023/2024

Alamat : Jalan Griya Anyar, Gang Bandeng, No. 37, Pemogan,
Denpasar Selatan.

1. Skripsi dengan judul *DESAIN PRIMER DAN OPTIMASI METODE POLYMERASE CHAIN REACTION* UNTUK DETEKSI SPESIFIK BAKTERI *Salmonella typhi* adalah benar **karya sendiri atau bukan plagiat hasil karya orang lain.**
2. Apabila dikemudian hari terbukti bahwa Skripsi ini bukan karya saya sendiri atau plagiat hasil karya orang lain, maka saya sendiri bersedia menerima sanksi sesuai Peraturan Mendiknas RI No. 17 Tahun 2010 dan ketentuan perundang-undangan yang berlaku.

Demikian surat pernyataan ini saya sampaikan untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Denpasar, 06 Mei 2024

Yang membuat pernyataan



Putu Surya Kencana Talia Dewi

NIM. P07134220003

PRIMER DESIGN AND OPTIMIZATION OF *POLYMERASE CHAIN
REACTION* METHOD TO DETECT SPECIFIC BACTERIA *Salmonella typhi*

ABSTRACT

Background: WHO estimates 11-20 million global cases of typhoid fever per year, with a mortality rate of 128,000-161,000 per year. This disease is caused by *Salmonella typhi* and spreads through contaminated food or water. The development of PCR methods aims for faster and more specific diagnosis, allowing for the detection of *Salmonella typhi* from various types of samples. This study aims to obtain specific primer designs, optimize PCR reaction conditions to detect *Salmonella typhi* using PCR methods, and analyze the qualitative and quantitative results of *Salmonella typhi* identification. This research is of a descriptive qualitative type. The study resulted in a pair of primers: forward 5' GCGTGGTGAAAGATGCCTTC3' and reverse 5' ATGTCGATGGCCACGGAAAT3', designed using in silico bioinformatics methods. Optimization results showed that the optimal PCR reaction was achieved at a primer concentration of 500 mM, an annealing temperature of 55°C, and 35 cycles. PCR identification results for suspected *Salmonella typhi* bacteria showed amplification results that were not identical to the positive control, thus indicating a negative result.

Keywords: Primer Design; Optimazation; Polymerase Chain Reaction; *Salmonella typhi*

DESAIN PRIMER DAN OPTIMASI METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION* UNTUK DETEKSI SPESIFIK BAKTERI *Salmonella typhi*

ABSTRAK

Latar belakang WHO memperkirakan 11-20 juta kasus demam tifoid global per tahun, dengan tingkat kematian 128.000-161.000 per tahun. Penyakit ini disebabkan oleh *Salmonella typhi*, menyebar melalui makanan atau air terkontaminasi. Pengembangan metode PCR untuk diagnosis lebih cepat dan spesifik seperti metode PCR, untuk deteksi *Salmonella typhi* dari berbagai jenis sampel. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan desain primer yang spesifik, reaksi optimasi PCR yang optimal untuk mendeteksi bakteri *Salmonella typhi* dengan metode PCR serta menganalisis hasil identifikasi bakteri *Salmonella typhi* secara kualitatif dan kuantitatif. Jenis penelitian pada penelitian ini yaitu deskriptif kualitatif. Hasil penelitian didapatkan sepasang primer yaitu *forward* 5' GCGTGGTGAAAGATGCCTTC3' dan *reverse* 5' ATGTCGATGGCCACGGAAAT3' dengan metode *in silico* berbasis bioinformatika. Hasil optimasi menunjukan reaksi PCR yang optimal didapatkan pada konsentrasi primer 500mM, suhu annealing 55°C, dan 35 siklus. Hasil identifikasi PCR pada bakteri terduga *Salmonella typhi* menunjukkan hasil amplikasi yang tidak identik dengan control positif sehingga dinyatakan negatif.

Kata kunci: Desain Primer; Optimasi *Polymerase Chain Reaction*; *Salmonella typhi*

RINGKASAN PENELITIAN

DESAIN PRIMER DAN OPTIMASI METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION* UNTUK DETEKSI SPESIFIK BAKTERI *Salmonella typhi*

Oleh: Putu Surya Kencana Talia Dewi (P07134220003)

Demam typhoid tercatat 81,7 per 100.000 di Indonesia, penderita demam typhoid yang dirawat inap di Rumah Sakit sebanyak 41.081 kasus dan 279 diantaranya meninggal dunia berdasarkan Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2018 (Kemenkes RI, 2018). Menurut Riset Kesehatan Dasar Tahun 2017, jumlah kasus penyakit demam typhoid di Bali Terdapat 1.652 kasus rawat inap di Rumah Sakit Umum Provinsi Bali. Hal ini dapat disebabkan oleh masih kurangnya kesediaan air bersih, dan kurang memadainya sanitasi lingkungan atau mungkin karena masih rendahnya kebersihan dari masing-masing individu itu sendiri (WHO, 2018). Demam tifoid disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi*. Biasanya, bakteri ini menyebar melalui konsumsi makanan atau minuman yang terkontaminasi. Kasus penyakit *Salmonella typhi* perlu diagnosis yang spesifik dan lebih cepat. Selama ini sudah terdapat metode-metode pemeriksaan untuk menunjang diagnosis adanya bakteri *Salmonella typhi*. Pemeriksaan laboratorium tersebut diantaranya pemeriksaan serologis, kultur dengan cara isolasi, dan biologi molekuler. Perlu dilakukan pengembangan metode diagnostik untuk *Salmonella typhi* agar bisa mendapatkan hasil pemeriksaan yang lebih cepat dan spesifik, salah satu metode yang bisa digunakan adalah metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Dengan mendesain primer menggunakan teknologi biofarmatika memungkinkan untuk mencari primer-primer yang spesifik untuk mendeteksi bakteri *Salmonella typhi*.

Berdasarkan uraian diatas peneliti tertarik untuk merancang sepasang primer yang spesifik dengan metode PCR untuk deteksi bakteri *Salmonella typhi*. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mendeteksi *Salmonella typhi* dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menggunakan primer spesifik.

Pada penelitian ini menggunakan jenis penelitian deskriptif dengan metode kualitatif. Pada penelitian ini akan menjelaskan hasil primer yang sudah di desain sebelumnya di NCBI (*National Centre for Biotechnology Information*) untuk deteksi bakteri *Salmonella typhi* secara spesifik. Penelitian ini menggunakan metode *in silico*

pada perancangan desain primer dan metode *in vitro* pada metode optimasi PCR, dilakukan pada sampel DNA *Salmonella typhi* ATCC. Komponen optimasi PCR meliputi konsentras primer, suhu annealing, dan siklus. Setelah didapatkan reaksi yang optimal, dilakukan pemeriksaan metode PCR pada 13 sampel yang terdiri dari 10 sampel DNA dari isolate bakteri yang terduga bakteri *Salmonella typhi*, 1 bakteri ATCC *Salmonella typhi*, 1 kontrol negative, dan 1 NTC sebagai kontrol kontaminasi dari apa pun dari reagen yang digunakan.

Hasil penelitian telah didapatkan satu pasang primer yang terdiri dari primer *forward* 5' GCGTGGTGAAAGATGCCTTC3' dengan ukuran 20 bp, 55% GC, T_m 59,8°C, nol nilai hairpin, serta primer *reverse* 5' ATGTCGATGGCCACGGAAAT3' dengan ukuran 20 bp, 50% GC, T_m 60,1°C dan nol hairpin. Berdasarkan uraian diatas pasangan primer tersebut telah memenuhi syarat karakteristik primer.

Hasil optimasi PCR dilakukan dengan memvariasikan reaksi PCR pada konsentrasi primer, suhu annealing dan siklus. Reaksi optimasi yang menghasilkan satu pita yang paling terang dengan reaksi PCR yang optimal yaitu dengan konsentrasi primer 500mM, suhu annealing 55°C, dan 35 siklus.

Hasil identifikasi isolat terduga bakteri *Salmonella typhi* metode PCR pada sampel pangan 1,2,3 tidak ditemukan pita DNA, hal ini menandakan primer tidak mendeteksi genom bakteri *Salmonella typhi* pada DNA template. Hasil yang berbeda didapatkan pada sampel 4-10. Pada sampel-sampel tersebut terdapat pita DNA dengan jumlah pita lebih dari satu dan tidak identik dengan bakteri *Salmonella typhi* ATCC. Hasil ini mengindikasikan bahwa isolat yang terduga *Salmonella typhi* pada metode kultur berdasarkan pemeriksaan PCR dengan primer yang didesain adalah negative *Salmonella typhi*. Ada berbagai kemungkinan dihasilkan pita DNA pada sampel-sampel tersebut, antara lain adalah primer bisa mengenali bakteri yang berkerabat dekat dengan *Salmonella typhi*. Hasil analisi saat mendesain primer menunjukkan bahwa desain tersebut masih bisa mengenali jenis bakteri lain yang berkerabat dekat dengan bakteri *Salmonella typhi*. Untuk memastikan jenis bakteri tersebut bisa dilakukan dengan metode pemeriksaan sekuensing.

Daftar bacaan : 31 (tahun 2015-2023)

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena atas berkat dan rahmat-Nya saya dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul **“Desain Primer dan Optimasi Metode *Polymerase Chain Reaction* Untuk Deteksi Spesifik Bakteri *Salmonella typhi*”** dengan baik.

Skripsi ini diajukan untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Program Sarjana Terapan Politeknik Kesehatan Kemenkes Denpasar. Pada kesempatan ini, saya ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Dr. Sri Rahayu, S.Tr. Keb., S.Kep., Ners., M.Kes., selaku Direktur Poltekkes Kemenkes Denpasar yang telah memberikan kesempatan dalam mengikuti pendidikan di Politeknik Kesehatan Kemenkes Denpasar.
2. Ibu I Gusti Ayu Sri Dhyanaputri, S.KM., M.PH., selaku Ketua Jurusan Teknologi Laboratorium Medis yang telah memberikan kesempatan kepada penulis dalam penyusunan skripsi dapat terselesaikan.
3. Bapak Heri Setiyo Bakti, S.ST., M. Biomed., selaku ketua program studi Sarjana Terapan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis atas dukungan dalam proses pembelajaran.
4. Bapak Burhannuddin, S.Si., M.Biomed., selaku pembimbing utama atas bimbingan dalam proses penyusunan skripsi.
5. Bapak Drs. I Gede Sudarmanto, B.Sc., M.Kes., selaku pembimbing pendamping atas bimbingan dalam proses penyusunan skripsi.

6. Bapak I Gusti Ngurah Dwija Putra, A.Md. Kes, selaku pranata laboratorium atas bimbingan dalam pengujian di laboratorium.
7. Orang tua yang telah memberikan dukungan baik moral maupun material, sehingga pembuatan ini dapat berjalan dengan lancar sesuai harapan penulis.
8. Rekan – rekan di jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Denpasar yang telah memberi dukungan serta menjadi rekan diskusi dalam penyusunan skripsi.
9. Semua pihak yang telah membantu dari awal proses skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, segala kritik dan saran sangat diharapkan demi pengembangan penelitian di masa mendatang.

Denpasar, 02 Mei 2024

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
LEMBAR PERSEMBAHAN	v
RIWAYAT PENULIS	vi
SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIAT	vii
ABSTRACT.....	viii
ABSTRAK.....	ix
RINGKASAN PENELITIAN.....	x
KATA PENGANTAR	xii
DAFTAR ISI.....	xiv
DAFTAR TABEL.....	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xviii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xix
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJUAN PUSTAKA	5
A. <i>Salmonella typhi</i>	5
B. Diagnosa <i>Salmonella typhi</i>	8

C. Polymerase Chain Reation (PCR).....	9
D. Desain Primer.....	11
BAB III KERANGKAP KONSEP	13
A. Kerangka Konsep.....	13
B. Variabel dan Definisi Operasional Variabel	15
BAB IV METODE PENELITIAN	17
A. Jenis Penelitian.....	17
B. Alur Penelitian	17
C. Tempat dan Waktu Penelitian.....	17
D. Sampel Penelitian.....	18
E. Prosedur Kerja	18
F. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data	26
G. Pengolahan dan Analisis Data	28
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	29
A. Hasil Penelitian	29
B. Pembahasan.....	35
BAB VI SIMPULAN DAN SARAN	41
A. Simpulan	41
B. Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	43
Lampiran	46

DAFTAR TABEL

Tabel 1 Definisi Operasional Variabel	15
Tabel 2. Sepasang Primer yang di Rancang pada Situs NCBI & Primer3plus.....	29
Tabel 3. Karakteristik Primer	29
Tabel 4. Hasil Ekstraksi DNA Bakteri	31
Tabel 5. Hasil Pemeriksaan Gen 16s.....	32
Tabel 6. Hasil Optimasi PCR	33
Tabel 7 Hasil Pemeriksaan Sampel Koloni Terduga Bakteri S.typhi.....	35

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Bakteri <i>Salmonella typhi</i>	6
Gambar 2. Kerangka Konsep Penelitian	13
Gambar 3. Alur Penelitian	17
Gambar 4. Hasil Ekstraksi DNA Bakteri terduga <i>S.typhi</i>	30
Gambar 5 Hasil Pemeriksaan Gen 16s.....	32
Gambar 6. Hasil Optimasi PCR	33
Gambar 7 Hasil Pemeriksaan Sampel Koloni Terduga Bakteri <i>S.typhi</i> dengan Primer Spesifik dan Reaksi PCR.....	34

DAFTAR SINGKATAN

dATP	: <i>Deoksiadenosin trifosfat</i>
dCTP	: <i>Deoksisitidin trifosfat</i>
dGTP	: <i>Deoksiguanosin trifosfat</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
dNTP	: <i>Deoksiribonukleotida trifosfat</i>
dNTPs	: <i>Deoxynucleotide triphosphates</i>
dTTP	: <i>Deoksitimidin trifosfat</i>
ELISA	: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
EMB	: <i>Eosin Methylene Blue</i>
NCBI	: <i>National Centre for Biotechnology Information</i>
PCIA	: <i>Phenol Chloroform Isoamyl Alcohol</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
RNA	: <i>Ribonucleic Acid</i>
SSA	: <i>Salmonella Shigella Agar</i>
T _m	: <i>Primer Melting Temperature</i>
UV	: <i>Ultra Violet</i>
PCIA	: <i>Phenol Chloroform Isoamyl Alcohol</i>
XLD	: <i>Xylose Lysine Deoxycholate agar</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Etika Penelitian.....	46
Lampiran 2. Lampiran 2 Tabel hasil BLAST Prime.....	50
Lampiran 3 Dokumentasi Penelitian.....	51