

SKRIPSI

**DESAIN PRIMER DAN OPTIMASI METODE *POLYMERASE
CHAIN REACTION* UNTUK DETEKSI GEN *MECA*
BAKTERI *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus***



Oleh

IDA AYU EKA ANINDITA PRAMESWARI

NIM. P07134221028

**KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
POLTEKKES KEMENKES DENPASAR
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
PROGRAM SARJANA TERAPAN
DENPASAR
2025**

SKRIPSI

**DESAIN PRIMER DAN OPTIMASI METODE *POLYMERASE
CHAIN REACTION* UNTUK DETEKSI GEN *MECA*
BAKTERI *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus***

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

Oleh

**IDA AYU EKA ANINDITA PRAMESWARI
NIM. P07134221028**

**KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
POLTEKKES KEMENKES DENPASAR
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
PROGRAM SARJANA TERAPAN
DENPASAR
2025**

LEMBAR PERSETUJUAN

DESAIN PRIMER DAN OPTIMASI METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION* UNTUK DETEKSI GEN *MECA* BAKTERI *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*

Oleh
IDA AYU EKA ANINDITA PRAMESWARI
NIM. P07134221028

TELAH MENDAPATKAN PERSETUJUAN

Pembimbing Utama :

Pembimbing Pendamping :

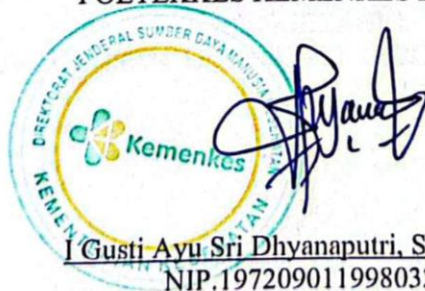


Burhannuddin, S.Si., M.Biomed
NIP.198602282009121003



Ida Bagus Oka Suyasa, S.Si., M.Si
NIP.197506012002121002

MENGETAHUI
KETUA JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
POLTEKKES KEMENKES DENPASAR



Gusti Ayu Sri Dhyanaputri, S.K.M., M.PH
NIP.197209011998032003

SKRIPSI DENGAN JUDUL

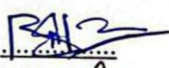
DESAIN PRIMER DAN OPTIMASI METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION* UNTUK DETEKSI GEN *MECA* BAKTERI *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*

Oleh

IDA AYU EKA ANINDITA PRAMESWARI
NIM. P07134221028

TELAH DIUJI DI HADAPAN TIM PENGUJI
PADA HARI : SENIN
TANGGAL : 28 APRIL 2025

TIM PENGUJI :

1. Dr. dr. I Gusti Agung Dewi Sarihati, M.Biomed (Ketua Penguji) 
2. Burhannuddin, S.Si., M.Biomed (Anggota Penguji 1) 
3. Nur Habibah, S.Si., M.Sc (Anggota Penguji 2) 

MENGETAHUI
KETUA JURUSAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS



I Gusti Ayu Sri Dhyanaputri, S.K.M., M.PH
NIP. 197209011998032003

SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ida Ayu Eka Anindita Prameswari
NIM : P07134221028
Program Studi : Sarjana Terapan
Jurusan : Teknologi Laboratorium Medis
Tahun Akademik : 2024/2025
Alamat : Br. Sandan Dauh Yeh Baleran, Sesandan, Tabanan

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Skripsi dengan judul Desain Primer dan Optimasi Metode *Polymerase Chain Reaction* Untuk Deteksi Gen *mecA* Bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* 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 buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Denpasar, 18 April 2025

Yang membuat pernyataan



Ida Ayu Eka Anindita Prameswari
NIM. P07134221028

**PRIMER DESIGN AND OPTIMIZATION OF POLYMERASE CHAIN
REACTION METHOD FOR DETECTION OF THE *mecA* GENE
IN *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* BACTERIA**

ABSTRACT

Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) is one of the main causes of nosocomial infections and exhibits resistance to beta-lactam antibiotics due to the presence of the *mecA* gene. Detection of MRSA is generally performed using traditional methods. However, these approaches have several limitations. With technological advancements, the Polymerase Chain Reaction (PCR) method has become a more effective option, as it can detect the presence of target DNA more quickly, accurately, and specifically. This study aimed to design specific primers and optimize the PCR method for detecting the *mecA* gene in MRSA. The research conducted qualitative descriptive by in silico method in primer design and in vitro method in optimization of PCR. DNA samples were obtained from MRSA ATCC 33591 isolates and extracted using the PCIA method. PCR optimization was conducted with annealing temperature variations from 47,5°C to 63,6°C. The results showed that the primer pair forward 5'-TGGCTCAGGTACTGCTATCC-3' and reverse 5'-TGGAACCTTGTTGAGCAGAGGT-3' successfully amplified the *mecA* gene fragment of 156 bp specifically at the optimal annealing temperature of 55,5°C. It can be concluded that the primer with optimal PCR reaction produced in this study can be used as a rapid and accurate detection method for identifying the *mecA* gene in MRSA.

Keywords: Primer Design; Optimization; Polymerase Chain Reaction; *mecA* gene; *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*

DESAIN PRIMER DAN OPTIMASI METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION* UNTUK DETEKSI GEN *mecA* BAKTERI *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*

ABSTRAK

Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) merupakan salah satu bakteri penyebab utama infeksi nosokomial yang menunjukkan resistensi terhadap antibiotik golongan beta-laktam karena keberadaan gen *mecA*. Deteksi MRSA umumnya dilakukan secara konvensional, namun metode tersebut memiliki berbagai kelemahan. Seiring perkembangan teknologi, metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menjadi pilihan yang lebih efektif karena mampu mendeteksi keberadaan DNA target dengan lebih cepat, akurat, dan spesifik. Penelitian ini bertujuan untuk mendesain primer spesifik dan mengoptimalkan metode PCR untuk deteksi gen *mecA* pada MRSA. Jenis penelitian yaitu deskriptif kualitatif yang terdiri dari metode *in silico* dalam desain primer dan *in vitro* dalam optimasi metode PCR. Sampel DNA bakteri MRSA diperoleh dari isolat MRSA ATCC 33591, kemudian diekstraksi menggunakan metode PCIA. Optimasi PCR dilakukan dengan variasi suhu *annealing* dari 47,5°C hingga 63,6°C. Hasil menunjukkan bahwa pasangan primer *forward* 5'-TGGCTCAGGTACTGCTATCC-3' dan *reverse* 5'-TGGAACCTTGTTGAGCAGAGGT-3' mampu mengamplifikasi fragmen gen *mecA* berukuran 156 bp secara spesifik pada suhu *annealing* optimal 55,5°C. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa desain primer dan reaksi PCR yang dihasilkan dalam penelitian dapat digunakan sebagai metode deteksi yang cepat dan akurat untuk identifikasi gen *mecA* pada MRSA.

Kata kunci: Desain Primer; Optimasi; *Polymerase Chain Reaction*; gen *mecA*; *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*

RINGKASAN PENELITIAN

DESAIN PRIMER DAN OPTIMASI METODE *POLYMERASE CHAIN REACTION* UNTUK DETEKSI GEN *MECA* BAKTERI *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*

Oleh: Ida Ayu Eka Anindita Prameswari
(P07134221028)

Infeksi nosokomial merupakan tantangan besar di dunia medis, dengan *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) sebagai salah satu penyebab utamanya. Bakteri ini merupakan strain *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap antibiotik beta-laktam karena keberadaan gen *mecA* yang mengkode protein PBP2a, sehingga menghambat efektivitas pengobatan dan meningkatkan risiko komplikasi. Deteksi dini gen *mecA* sangat penting untuk penanganan infeksi yang tepat. Metode konvensional seperti kultur dan uji biokimia memakan waktu dan membutuhkan sumber daya besar, sedangkan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menawarkan deteksi yang lebih cepat, akurat, dan spesifik. Keberhasilan PCR sangat bergantung pada desain primer yang harus spesifik dan efisien agar hanya mengikat target tanpa menghasilkan amplifikasi non-spesifik.

Penelitian ini bertujuan untuk mendesain sepasang primer spesifik yang dapat digunakan untuk mendeteksi gen *mecA* dari bakteri MRSA secara efektif menggunakan metode PCR, mengoptimalkan kondisi reaksi PCR, serta menganalisis hasil deteksi gen tersebut secara kualitatif menggunakan elektroforesis. Jenis penelitian ini adalah deskriptif dengan pendekatan kualitatif yang dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Biologi dan Molekuler Poltekkes Kemenkes Denpasar pada bulan September 2024 hingga April 2025. Sampel penelitian berupa DNA bakteri MRSA ATCC 33591 yang telah diremajakan dan diekstraksi menggunakan metode *Phenol-Chloroform Isoamyl Alcohol* (PCIA).

Desain primer dilakukan secara *in silico* dengan bantuan situs bioinformatika seperti NCBI, NetPrimer, dan Benchling. Dari hasil desain awal, diperoleh 10 pasangan kandidat primer yang kemudian dianalisis lebih lanjut berdasarkan parameter seperti panjang, persentase GC, suhu leleh, kemungkinan pembentukan struktur sekunder (*hairpin*, *self-dimer*, *heterodimer*), serta spesifisitas terhadap

gen target. Setelah dilakukan evaluasi menyeluruh, pasangan primer terbaik yang terpilih adalah primer forward 5'-TGGCTCAGGTACTGCTATCC-3' dan primer reverse 5'-TGGAACCTTGTTGAGCAGAGGT-3' dengan ukuran produk sebesar 156 bp. Primer ini memiliki semua kriteria ideal dan tidak membentuk struktur sekunder yang dapat mengganggu reaksi PCR. Hasil uji spesifisitas melalui NCBI Nucleotide BLAST menunjukkan bahwa primer ini hanya berikatan dengan gen *mecA* dari MRSA dengan kemiripan 100%, menunjukkan bahwa primer tersebut sangat spesifik.

Tahapan berikutnya adalah optimasi metode PCR secara *in vitro* untuk menentukan suhu *annealing* terbaik yang menghasilkan amplifikasi DNA yang spesifik dan intens. Optimasi dilakukan dengan dua kali PCR *gradient*, menggunakan variasi suhu *annealing* dari 47,5°C hingga 63,6°C. Produk PCR kemudian dianalisis menggunakan metode elektroforesis gel *agarose* dan diamati di bawah sinar UV untuk melihat keberadaan pita DNA. Hasil PCR menunjukkan bahwa suhu *annealing* optimal adalah 55,5°C, di mana pita DNA target terlihat paling tajam dan spesifik pada ukuran 156 bp. Pada suhu *annealing* yang lebih rendah dari 55,5°C, banyak terlihat pita yang samar atau smear yang menunjukkan amplifikasi non spesifik. Sementara pada suhu yang lebih tinggi dari 55,5°C, hasil amplifikasi cenderung melemah atau menghilang.

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa desain primer yang dilakukan secara *in silico* mampu menghasilkan sepasang primer yang spesifik dan memenuhi kriteria untuk mendeteksi gen *mecA*. Primer tersebut berhasil digunakan dalam metode PCR dan memberikan hasil yang optimal pada suhu *annealing* 55,5°C. Keberhasilan ini membuktikan bahwa metode PCR dengan primer spesifik yang dirancang dalam penelitian ini dapat menjadi alternatif metode diagnostik yang lebih cepat, akurat, dan efisien dibandingkan metode konvensional untuk mendeteksi keberadaan MRSA melalui gen *mecA*. Penelitian ini merupakan tahap awal dengan fokus penelitian terkait dengan desain primer serta optimasi reaksi PCR dalam deteksi gen *mecA* bakteri MRSA dan perlu dilanjutkan untuk mendapatkan metode pemeriksaan terbaik dalam deteksi gen *mecA* bakteri MRSA. Peneliti selanjutnya dapat melanjutkan penelitian dengan

melakukan pengujian pada berbagai sampel biologis maupun non biologis dengan reaksi PCR optimal dan desain primer yang dihasilkan dalam penelitian ini.

Daftar bacaan: 31 (tahun 2001 – 2024)

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena atas berkat dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul “Desain Primer dan Optimasi Metode *Polymerase Chain Reaction* untuk Deteksi Gen *mecA* Bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*” dengan baik. Skripsi ini dibuat sebagai bagian dari tugas menyelesaikan mata kuliah skripsi prodi Sarjana Terapan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Denpasar. Pada kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Sri Rahayu, S.Tr. Keb., S.Kep., Ners., M.Kes., selaku Direktur Poltekkes Kemenkes Denpasar yang telah memberikan kesempatan dalam menempuh pendidikan di Poltekkes Kemenkes Denpasar.
2. 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. Heri Setiyo Bakti, S.ST., M. Biomed., selaku Ketua Program Studi Sarjana Terapan Jurusan Teknologi Laboratorium Medis atas dukungan dalam proses pembelajaran.
4. Burhannuddin, S.Si., M.Biomed., selaku pembimbing utama atas bimbingan dalam proses penyusunan skripsi.
5. Ida Bagus Oka Suyasa, S.Si., M.Si., selaku pembimbing pendamping atas bimbingan dalam proses penyusunan skripsi.

6. Orang tua yang telah memberikan dukungan baik moral maupun material, sehingga pembuatan skripsi ini dapat berjalan dengan lancar sesuai harapan penulis.
7. Rekan-rekan di jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Denpasar yang telah memberi dukungan serta menjadi rekan diskusi dalam penyusunan skripsi.
8. Seluruh pihak yang telah membantu dari awal proses penyusunan 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, 18 April 2025

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PERSETUJUAN.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIAT.....	iv
ABSTRACT.....	v
ABSTRAK	vi
RINGKASAN PENELITIAN	vii
KATA PENGANTAR	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR SINGKATAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Rumusan Masalah.....	5
C. Tujuan	6
D. Manfaat	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
A. <i>Staphylococcus aureus</i>	7
B. <i>Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus</i>	9
C. <i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i>	11
D. Desain Primer.....	14

BAB III KERANGKA KONSEP	17
A. Kerangka Konsep	17
B. Variabel dan Definisi Operasional	19
BAB IV METODE PENELITIAN	20
A. Jenis Penelitian.....	20
B. Alur Penelitian	20
C. Tempat dan Waktu Penelitian.....	20
D. Populasi dan Sampel	21
E. Prosedur Kerja	21
F. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data	36
G. Pengolahan dan Analisis Data	37
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	39
A. Hasil	39
B. Pembahasan.....	49
BAB VI SIMPULAN DAN SARAN.....	64
A. Simpulan	64
B. Saran	64
DAFTAR PUSTAKA	66

DAFTAR TABEL

Tabel 1 Definisi Operasional	19
Tabel 2 Komposisi Reaksi PCR.....	31
Tabel 3 Optimasi PCR Pertama	32
Tabel 4 Optimasi PCR Kedua	33
Tabel 5 Hasil Perancangan Primer pada NCBI Primer-BLAST	39
Tabel 6 Karakteristik Struktur Sekunder Kandidat Primer pada NetPrimer.....	40
Tabel 7 Karakteristik Primer <i>mecA</i>	42
Tabel 8 Hasil NCBI Nucleotide BLAST Primer <i>Forward mecA</i>	43
Tabel 9 Hasil NCBI Nucleotide BLAST Primer <i>Reverse mecA</i>	44
Tabel 10 Hasil Analisis Pita DNA gen <i>mecA</i>	48

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Kerangka Konsep Penelitian	17
Gambar 2 Alur Penelitian.....	20
Gambar 3 Hasil Ekstraksi DNA.....	45
Gambar 4 Hasil PCR <i>Internal Control</i>	46
Gambar 5 Hasil Optimasi PCR	47

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Etika Penelitian.....	70
Lampiran 2 Dokumentasi Penelitian.....	72
Lampiran 3 Hasil Uji Plagiasi	76
Lampiran 4 Anggaran Biaya Penelitian	79
Lampiran 5 Sertifikat Hasil Pengujian.....	80
Lampiran 6 Lembar Bimbingan.....	82
Lampiran 7 Surat Pernyataan Persetujuan Publikasi <i>Repository</i>	83

DAFTAR SINGKATAN

ATCC	: <i>American Type Culture Collection</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
dATP	: <i>Deoxyadenosine triphosphate</i>
dCTP	: <i>Deoxycytidine triphosphate</i>
dGTP	: <i>Deoxyguanosine triphosphate</i>
dNTP	: <i>Deoksiribonukleotida trifosfat</i>
dNTPs	: <i>Deoxynucleotide triphosphates</i>
dTTP	: <i>Deoxythymidine triphosphate</i>
EDTA	: <i>Ethylene Diamine Tetraacetic Acid</i>
EtBr	: <i>Ethidium bromide</i>
H ₂ O	: <i>Dihydrogen monoxide</i>
MgCl ₂	: <i>Magnesium chloride</i>
MRSA	: <i>Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus</i>
NCBI	: <i>National Centre for Biotechnology Information</i>
NFW	: <i>Nuclease Free Water</i>
PBP	: <i>Penicillin Binding Protein</i>
PBP2a	: <i>Penicillin Binding Protein 2a</i>
PCIA	: <i>Phenol-Chloroform Isoamyl Alcohol</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
TAE buffer	: <i>Tris-Acetate-EDTA buffer</i>
TE buffer	: <i>Tris-EDTA buffer</i>
TSB	: <i>Tryptic Soy Broth</i>
UV	: <i>Ultra Violet</i>