

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Infeksi nosokomial, yang kini lebih dikenal dengan sebutan *Healthcare Associated Infections* (HCAI), adalah infeksi yang terjadi pada pasien selama perawatan medis dan tidak ada saat pasien pertama kali masuk ke rumah sakit atau fasilitas kesehatan lainnya. Salah satu penyebab utama infeksi nosokomial adalah bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), yang dapat menyebabkan infeksi pascaoperasi, infeksi saluran pernapasan, infeksi saluran urin, serta infeksi pada sistem peredaran darah (Kemalaputri dkk., 2017). Infeksi MRSA menjadi masalah global dengan tingkat mortalitas dan morbiditas yang tinggi. Salah satu faktor penyebabnya adalah penggunaan antibiotik yang tidak terkontrol dengan baik, terutama di negara-negara berkembang. Di sisi lain, prevalensi infeksi MRSA cenderung rendah di negara-negara Eropa karena pengawasan penggunaan antibiotik yang sangat ketat (Pristianingrum dkk., 2021). Asia merupakan kawasan dengan prevalensi infeksi MRSA yang lebih dari 50%, menjadikannya yang tertinggi di dunia (Fitria, Widiiasi dan Airlangga, 2021).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan di wilayah Asia Pasifik pada tahun 2000 – 2016, sekitar 23,5% populasi teridentifikasi sebagai pembawa MRSA, dengan 0,7% hingga 10,4% di antaranya ditemukan di rumah sakit. Prevalensi MRSA tertinggi tercatat di India, berkisar antara 16,5% hingga 23,5%, diikuti oleh Vietnam dengan 7,9%, dan Taiwan dengan angka 3,5% hingga 3,8% (Wong dkk., 2018). Berdasarkan data surveilans MRSA di Indonesia pada tahun 2022 yang dilakukan oleh *Surveillance of Indonesian Network on Antimicrobial*

Resistance (SINAR), infeksi MRSA tertinggi terjadi di Papua (100%), disusul oleh Sumatera (60%), Kalimantan (42%), Jawa Tengah – Daerah Istimewa Yogyakarta (33%), Jawa Timur (32%), DKI Jakarta (30%), Bali – Nusa Tenggara Barat (26%), dan Jawa Barat (19%). Berdasarkan spesimen, infeksi MRSA tertinggi berasal dari spesimen LCS (50%), cairan asites (44%), urine (35%), darah (34%), saluran napas bawah (34%), cairan pleura (32%), cairan perikardium (30%), dan cairan sendi (18%).

Bakteri MRSA merupakan strain dari bakteri *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap antibiotik golongan *beta lactam*. *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu spesies bakteri yang membentuk flora normal pada manusia dan dapat bersifat komensal maupun patogen oportunistik. Bakteri ini dapat mengkolonisasi sekitar 30% pada orang dewasa yang sehat, terutama di area seperti lubang hidung, perineum, nasofaring, mukosa, dan kulit, sehingga memudahkan bakteri ini untuk menyebabkan infeksi pada manusia (Kurniawan, Tyas dan Supriyadi, 2021). *Staphylococcus aureus* yang telah berkembang menjadi MRSA memiliki kemampuan untuk menghambat ikatan *beta lactam* di dinding sel bakteri. Proses ini terjadi akibat mutasi gen *mecA* yang mengkode *penicillin binding protein* (PBP) menjadi PBP2A yang memiliki afinitas rendah terhadap gugus *beta lactam* antibiotik (Fitria, Widiyasa dan Airlangga, 2021).

Identifikasi MRSA secara konvensional dapat dilakukan dengan kultur bakteri pada media agar. Namun, metode ini memiliki alur pemeriksaan yang panjang. Dengan alur pemeriksaan yang panjang tentunya waktu yang dibutuhkan cukup lama serta membutuhkan sumber daya yang lebih banyak dan terampil, sehingga kurang efisien untuk diterapkan. Oleh karena MRSA menjadi penyebab utama

kematian dan penyakit di seluruh dunia, pengembangan metode diagnostik yang efektif untuk mendeteksi MRSA sangat diperlukan agar pemeriksaan dapat dilakukan dengan lebih cepat dan spesifik. Saat ini, pendekatan molekuler menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dianggap lebih efisien dibandingkan dengan metode deteksi konvensional. Metode PCR memungkinkan pemeriksaan dilakukan lebih cepat dengan sensitivitas dan akurasi yang lebih tinggi. Desain primer yang spesifik diperlukan untuk memperbesar fragmen gen yang diinginkan, dan metode PCR dapat digunakan untuk mendeteksi keberadaan fragmen gen tersebut pada sampel yang diuji. Baku emas (*gold standard*) dalam proses identifikasi MRSA adalah dengan mendeteksi gen tetap atau terpelihara, yaitu gen *mecA*, yang senantiasa ditemukan pada MRSA (Pristianingrum dkk., 2021). Dengan mendesain primer menggunakan teknologi biofarmatika maka memungkinkan untuk mencari primer yang spesifik pada gen *mecA* untuk mendeteksi bakteri MRSA (Koentjoro dkk., 2024).

Arbefeville (2011) melakukan penelitian mengenai deteksi bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan *Methicillin-Sensitive Staphylococcus aureus* (MSSA) dengan metode *real-time* PCR (qPCR). Hasil yang didapat menunjukkan 19 dari 20 isolat MSSA ditemukan negatif untuk MRSA dan positif untuk *S. aureus*. Sedangkan, isolat MSSA yang mengandung gen *mecA* menunjukkan hasil positif untuk MRSA dan *S. aureus*. Berdasarkan kit PCR yang digunakan, primer yang digunakan menargetkan gen *spa*, gen *mecA*, dan sambungan gen *SCCmec-attB*, yang tidak secara langsung menargetkan gen *mecA*. Sehingga, kedua primer mengalami deteksi positif palsu karena elemen menyerupai *SCCmec* yang tidak memiliki gen *mecA* dan negatif palsu karena

ketidakmampuan mendeteksi jenis atau tipe baru dari *SCCmec* yang memiliki variasi dalam susunan genetiknya serta *SCCmec* yang tidak dapat dikategorikan ke dalam salah satu dari tipe yang telah dikenal.

Penelitian oleh Syamsidi (2021) telah berhasil merancang primer yang spesifik terhadap gen *mecA* pada bakteri MRSA, dengan primer *forward* 5'-GTGAAGCAACCATCGTTAC-3' dan primer *reverse* 5'-CCTTCTACACCTCCATATCAC-3', di mana primer *forward* memiliki berat molekul 19 bp, nilai %GC sebesar 47,4%, dan nilai T_m sebesar 51,5°C serta primer *reverse* memiliki berat molekul 21 bp, nilai %GC sebesar 47,6%, dan nilai T_m sebesar 52°C. Namun, kedua primer yang dihasilkan memiliki *hairpin* dan *dimer*. Adanya *hairpin* maupun *dimer* akan memengaruhi proses penempelan primer pada *template* pada proses PCR dan proses PCR menjadi tidak optimal (Melati, Nurjanah dan Rahayu, 2022).

Berdasarkan masalah yang dihadapi, maka dilakukan penelitian untuk merancang desain primer yang dioptimalkan dengan metode PCR untuk mendeteksi gen *mecA* pada bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*. Primer yang dirancang harus memenuhi kriteria tertentu, seperti berat molekul 18 – 20 bp, persentase GC antara 40 – 60%, suhu leleh (T_m) antara 50 – 65°C, serta tidak mengandung *hairpin* atau *dimer* (Melati, Nurjanah dan Rahayu, 2022). Proses PCR sangat dipengaruhi oleh suhu denaturasi, suhu *annealing*, suhu *extension*, jumlah siklus yang digunakan, kemurnian DNA *template*, serta konsentrasi dari komponen reaksi, meliputi DNA *template*, primer, *buffer*, $MgCl_2$, H_2O , dan enzim DNA polimerase. Agar mendapatkan kondisi dan komposisi PCR yang tepat untuk hasil PCR yang lebih spesifik, maka perlu dilakukan optimasi

sebelum melakukan metode PCR pada sampel penelitian. Untuk mendapatkan *band* PCR yang optimal, dibutuhkan optimasi suhu *annealing* pada primer yang digunakan. Proses *annealing* merupakan tahapan primer untuk menempel pada DNA target. Apabila suhu *annealing* terlalu tinggi, primer yang sudah melekat pada DNA *template* dapat terlepas dan DNA target tidak akan terbentuk. Sedangkan, apabila suhu *annealing* terlalu rendah, primer akan melekat pada DNA *template* yang tidak tepat dan menghasilkan produk PCR yang tidak spesifik (Listiani dkk., 2023). Oleh karena itu, penelitian ini juga mengoptimalkan metode PCR meliputi variasi suhu *annealing*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan sensitivitas dan spesifisitas dalam mendeteksi gen *mecA* pada bakteri MRSA, sehingga metode PCR dapat menjadi alternatif diagnostik yang lebih baik daripada metode konvensional dalam mengidentifikasi bakteri.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan di atas, maka rumusan masalah yang akan diteliti adalah:

1. Bagaimana desain primer yang spesifik untuk deteksi gen *mecA* bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*?
2. Bagaimana reaksi *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang optimal dan hasil identifikasi gen *mecA* bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menggunakan desain primer spesifik?

C. Tujuan

1. Tujuan umum

Untuk mendeteksi gen *mecA* bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menggunakan primer spesifik.

2. Tujuan khusus

- a. Mendapatkan sepasang primer spesifik untuk mendeteksi gen *mecA* bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*.
- b. Mendapatkan reaksi *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang optimal dan menganalisis hasil identifikasi gen *mecA* bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menggunakan primer spesifik.

D. Manfaat

1. Manfaat teoritis

Diharapkan temuan dari penelitian ini dapat menambah wawasan para peneliti mengenai pembuatan desain primer dan peningkatan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) untuk mengidentifikasi gen *mecA* bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*.

2. Manfaat praktis

Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan hasil yang lebih cepat dan meningkatkan kualitas hasil pemeriksaan terhadap gen *mecA* bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) secara spesifik kepada masyarakat.