

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Infeksi Saluran Pernapasan Akut (ISPA) adalah salah satu permasalahan kesehatan yang sering ditemukan baik di negara berkembang maupun di negara maju. Salah satu jenis penyakit yang termasuk dalam infeksi saluran pernapasan akut bagian bawah adalah pneumonia. Pneumonia menjadi penyebab utama morbiditas dan mortalitas pada anak di bawah usia 5 tahun. Berdasarkan data dari (UNICEF, 2023), lebih dari 1.400 kasus pneumonia tercatat per 100.000 anak setiap tahunnya, dengan jumlah kasus terbanyak ditemukan di wilayah Asia Selatan serta Afrika Barat dan Tengah. Di Indonesia, pneumonia termasuk dalam kategori penyakit yang serius dan dapat menimbulkan dampak kesehatan yang signifikan. Menurut data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas, 2018), prevalensi pneumonia diseluruh provinsi Indonesia sebesar 2,0%, khususnya pada provinsi Bali memperoleh prevalensi sebesar 1,0% dengan jumlah kasus sebanyak 16.481 orang (Riskesdas, 2018). Sedangkan berdasarkan Survei Kesehatan Indonesia Tahun 2023, menunjukkan bahwa terjadi penurunan prevalensi pneumonia di Indonesia dengan prevalensi total sebanyak 0,48%, khususnya pada provinsi Bali memperoleh prevalensi sebesar 0,44% dengan jumlah kasus sebanyak 13.859 orang (SKI, 2023). Meskipun terdapat penurunan prevalensi pneumonia dari tahun sebelumnya, jumlah kasus yang masih banyak tetap menimbulkan kekhawatiran.

Pneumonia adalah infeksi akut yang menyerang jaringan paru-paru (alveoli) yang disebabkan oleh bakteri, virus, jamur, mikroba atau kombinasinya. Prevalensi

kasus pneumonia tertinggi disebabkan oleh infeksi bakteri. Beberapa bakteri penyebab pneumonia yang paling umum diantaranya *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Legionella sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Acinobacter sp* (Dahlan, 2015). Pada penelitian (Ma dkk., 2017) *Staphylococcus aureus* adalah bakteri penyebab pneumonia terbanyak yaitu sebesar 51 dari 119 sampel yang terdeteksi sebagai Gram positif. Hasil penelitian oleh (Agustina dkk., 2019) juga menunjukkan hasil yang sama, dimana dari 10 sampel penelitian, 6 sampel yang terdeteksi sebagai gram positif termasuk dalam spesies *Staphylococcus aureus*.

Staphylococcus aureus adalah bakteri berbentuk kokus yang bersifat gram positif, tersebar luas di lingkungan dan dapat hidup sebagai flora normal pada manusia. Bakteri ini memiliki sejumlah mekanisme fisiologis yang dapat meningkatkan kelangsungan hidup sel pada permukaan fomite dalam jangka waktu yang lama. Selain itu, *Staphylococcus aureus* juga sering ditemukan sebagai kontaminan pada berbagai permukaan sarana kesehatan. Sehingga, resiko paparan ke petugas kesehatan atau penularan ke lingkungan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* juga semakin meningkat (Koentjoro dkk., 2024). Dengan meningkatnya penyebaran infeksi *Staphylococcus aureus*, maka diperlukan alternatif identifikasi dini yang spesifik untuk mendeteksi bakteri ini (Sugireng dan Rosdarni, 2021)

Identifikasi *Staphylococcus aureus* secara konvensional dilakukan melalui kultur bakteri. Namun, metode ini memiliki keterbatasan, seperti waktu pengerjaan yang relatif lama serta kebutuhan bahan dan peralatan yang kompleks, sehingga kurang efisien untuk diterapkan (Mesa dkk., 2020). Pada masa seperti sekarang ini, pendekatan molekuler menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

dianggap lebih efisien dibandingkan menggunakan kultur bakteri untuk mendeteksi *Staphylococcus aureus*. Metode PCR mampu memberikan hasil yang lebih cepat serta memiliki sensitivitas dan akurasi yang lebih tinggi daripada metode kultur bakteri (Javid dkk., 2018). Namun, kualitas dan kuantitas sampel sangat berpengaruh terhadap tingkat akurasi pada metode PCR. Untuk mendapatkan kualitas dan kuantitas sampel DNA yang baik, perlu melalui proses isolasi DNA terlebih dahulu (Widyastuti dan Nurdyansyah, 2017).

Isolasi DNA merupakan proses memisahkan materi genetik (DNA) dari komponen sel-sel lainnya seperti karbohidrat, protein, lemak dan lain-lain. Dalam tahapan isolasi DNA perlu melalui proses pelisisan dinding sel baik secara kimiawi, secara fisika dan berbasis kit. Namun, semua metode ini membutuhkan biaya yang besar, penggunaan bahan kimia berbahaya serta memerlukan waktu yang lama. Oleh karena itu, metode alternatif lain dengan metode perebusan akan sangat membantu dalam mengatasi beberapa keterbatasan tersebut (Fihiruddin, Ilmi dan Khusuma, 2022).

Pada metode perebusan, isolasi DNA dilakukan dengan memanaskan sel pada suhu tinggi. Pemanasan ini menyebabkan dinding sel menjadi lebih permeabel dan mengalami kerusakan, sehingga memungkinkan cairan dan molekul di sekitar sel berpindah serta berinteraksi dengan komponen yang terdapat di dalam sel (Afif dan Putri, 2019). Isolasi DNA menggunakan metode perebusan memiliki beberapa keuntungan, seperti biaya yang lebih terjangkau, prosedur yang sederhana dan mudah dilakukan, waktu pengerjaan yang relatif singkat, serta lebih ramah lingkungan dibandingkan metode lainnya (Fihiruddin, Ilmi dan Khusuma, 2022).

Berdasarkan uji pendahuluan yang telah dilakukan peneliti pada Kamis, 19 Desember 2024 di Laboratorium Terpadu Poltekkes Kemenkes Denpasar didapatkan hasil bahwa isolasi metode perebusan saja belum sanggup untuk mengisolasi DNA bakteri *Staphylococcus aureus*. Seperti yang diketahui, *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif yang dimana memiliki dinding sel yang relatif lebih kuat karena tersusun atas peptidoglikan yang lebih tebal jika dibandingkan dengan bakteri gram negatif. Namun metode perebusan dengan beberapa modifikasi telah berhasil diterapkan untuk mengekstraksi *whole blood cell* dari *eukaryote*, *Echinococcus granulosus* (parasit), *Salmonella enteritica* (bakteri gram negatif) dan *Streptococcus suis* (bakteri gram positif) (Muna dkk., 2014).

Sehingga pada penelitian ini peneliti melakukan percobaan modifikasi pada isolasi metode perebusan dengan penambahan etanol sebagai tahap presipitasi. Presipitasi adalah tahap final pada proses isolasi DNA yang memiliki tujuan untuk memisahkan dan mengendapkan protein histon. Dengan pengendapan tersebut, ikatan antara DNA dengan protein histon akan hilang serta menyebabkan untai-untai DNA yang tidak lagi menggulung (*coiling*) sehingga pada akhirnya DNA menjadi terlihat (Utami, Kusharyati dan Pramono, 2013). Presipitasi DNA dapat dilakukan dengan berbagai cara salah satunya dengan larutan etanol. Penambahan etanol yang telah didinginkan dapat menurunkan *solubilitas* DNA sehingga DNA akan mengalami presipitasi ke arah lapisan bawah. Sementara itu, protein dan lemak akan mengendap di dalam larutan pada lapisan bawah (Purwoko, 2018). Dengan adanya modifikasi ini diharapkan akan meningkatkan konsentrasi dan kemurnian hasil isolat DNA. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk

menganalisis kemurnian dan konsentrasi DNA *Staphylococcus aureus* yang diisolasi menggunakan metode perebusan dengan modifikasi presipitasi etanol. Dengan melakukan serangkaian eksperimen, penelitian ini akan mengevaluasi efektivitas metode isolasi ini dalam menghasilkan DNA berkualitas tinggi serta menilai kemurnian dan konsentrasi DNA yang diperoleh. Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan metode isolasi DNA yang lebih sederhana, efisien, dan terjangkau, serta mendukung kemajuan penelitian di bidang mikrobiologi dan bioteknologi.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan diatas, adapun rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu tentang “Bagaimana hasil analisis kemurnian dan konsentrasi DNA *Staphylococcus aureus* hasil isolasi metode perebusan dengan modifikasi presipitasi etanol?”.

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan umum

Untuk mengetahui hasil analisis kemurnian dan konsentrasi DNA *Staphylococcus aureus* hasil isolasi metode perebusan dengan modifikasi presipitasi etanol.

2. Tujuan khusus

- a. Untuk mengidentifikasi gen 16S rRNA pada DNA *Staphylococcus aureus* yang dihasilkan dari metode isolasi perebusan tanpa modifikasi presipitasi etanol dan metode isolasi perebusan dengan modifikasi presipitasi etanol.

- b. Untuk mengidentifikasi tingkat kemurnian dan konsentrasi DNA *Staphylococcus aureus* yang dihasilkan dari metode isolasi perebusan tanpa modifikasi presipitasi etanol.
- c. Untuk mengidentifikasi tingkat kemurnian dan konsentrasi DNA *Staphylococcus aureus* yang dihasilkan dari metode isolasi perebusan dengan modifikasi presipitasi etanol.
- d. Untuk menganalisis perbedaan kemurnian DNA *Staphylococcus aureus* tanpa modifikasi presipitasi etanol dan dengan modifikasi presipitasi etanol.
- e. Untuk menganalisis perbedaan konsentrasi DNA *Staphylococcus aureus* tanpa modifikasi presipitasi etanol dan dengan modifikasi presipitasi etanol.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat teoritis

Penelitian ini dapat digunakan untuk memperkaya ilmu pengetahuan dan memberikan kontribusi dalam pengembangan metode isolasi DNA, khususnya mengenai pengaruh modifikasi presipitasi etanol dalam teknik isolasi DNA *Staphylococcus aureus* menggunakan metode perebusan.

2. Manfaat praktis

a. Bagi peneliti

Bagi para peneliti, diharapkan hasil yang didapatkan dari penelitian ini bisa berkontribusi sebagai acuan teoritis bagi studi-studi mengenai pengembangan metode isolasi DNA yang lebih sederhana dan efektif dari bakteri *Staphylococcus aureus*.

b. Bagi masyarakat

Hasil penelitian ini nantinya diharapkan dapat memberikan metode isolasi DNA yang lebih sederhana dan efisien di laboratorium kesehatan sehingga masyarakat bisa mendapatkan layanan kesehatan yang lebih cepat, tepat dan ekonomis.