

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan salah satu permasalahan kesehatan yang paling umum terjadi di negara berkembang, dengan infeksi bakteri sebagai penyebab utamanya (Savitri dkk., 2019). Bakteri adalah organisme yang paling banyak dan tersebar luas jika dibandingkan dengan makhluk hidup lainnya. Terdapat ratusan ribu spesies bakteri yang dapat ditemukan di berbagai lingkungan, mulai dari gurun pasir, wilayah bersalju, hingga lautan. Dalam kehidupan sehari-hari, bakteri memiliki peran yang penting bagi manusia. Namun, beberapa kelompok bakteri memiliki karakteristik khusus yang membuatnya dapat menyebabkan berbagai penyakit. Salah satu kelompok bakteri patogen yang sering menimbulkan infeksi adalah bakteri gram positif kokus, yaitu mikroorganisme berbentuk bulat dengan sifat khusus yang memungkinkan mereka menginfeksi dan menyebabkan penyakit pada manusia (Nadjamuddin dkk., 2023).

Bakteri gram positif kokus terdiri dari berbagai genus dan spesies, seperti *Staphylococcus*, *Streptococcus*, dan *Enterococcus*. Salah satu jenisnya adalah *Staphylococcus aureus*, bakteri berbentuk bulat (kokus) yang berkelompok menyerupai anggur, bersifat aerob fakultatif, dengan diameter sekitar 0,8-1,0 μm dan memiliki tebal dinding sel sekitar 20-80 nm. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan infeksi pada manusia melalui invasi jaringan atau efek toksin yang dihasilkannya. Infeksi ini bermula dari koloni patogen yang ada di tubuh, kemudian menyebar melalui kontak tangan ke area yang memungkinkan bakteri masuk, seperti luka pada kulit, sayatan bedah, tempat pemasangan kateter vaskuler, atau

area dengan pertahanan tubuh yang lemah, seperti eksim atau luka lecet kecil. Pada infeksi kulit, bakteri ini membentuk abses, yang kemudian dapat menyebar melalui aliran darah (hematogen). Berkat enzim proteolitiknya, *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan berbagai penyakit seperti pneumonia, infeksi tulang dan sendi, serta endokarditis (Soedarto, 2015).

Mengingat potensi patogeniknya, identifikasi *Staphylococcus aureus* menjadi langkah penting dalam diagnosis dan penanganan infeksi yang disebabkan. Mengisolasi spesies bakteri merupakan tahap awal dalam menentukan bakteri yang berperan dalam suatu penyakit (Nadjamuddin dkk., 2023). Secara konvensional, identifikasi *Staphylococcus aureus* dilakukan melalui metode kultur bakteri, yaitu dengan menumbuhkan bakteri pada media pertumbuhan yang sesuai, kemudian mengamati morfologi sel dan koloninya, serta menguji aktivitas biokimianya. Namun, metode ini memiliki keterbatasan, terutama dalam hal waktu yang dibutuhkan serta kompleksitas alat dan bahan yang diperlukan, sehingga dinilai kurang efisien untuk diterapkan (Mesa dkk., 2020).

Seiring berkembangnya pendidikan dan teknologi, identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilakukan dengan pendekatan molekuler menggunakan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*), baik qPCR (*Quantitative-PCR*), RT-PCR (*Reverse Transcriptase*), *Nested PCR*, *Inverse-PCR*, dan lain sebagainya. Metode PCR dinilai lebih efisien karena mampu menyelesaikan proses deteksi dengan lebih cepat serta memiliki tingkat sensitivitas dan akurasi yang lebih tinggi dibandingkan metode kultur (Javid dkk., 2018).

Dalam pelaksanaannya, metode PCR memerlukan tahap ekstraksi terlebih dahulu untuk memperoleh DNA atau RNA dari sampel biologis yang akan dianalisis. Ekstraksi DNA merupakan tahapan yang memiliki peranan krusial dalam kegiatan analisis molekuler yang akan menentukan keberhasilan tahapan-tahapan selanjutnya. Secara umum, DNA dapat diekstraksi dari berbagai bahan biologis, seperti jaringan hidup, sel, partikel virus, dan sebagainya. Pada metode ekstraksi DNA, materi genetik dilepaskan dari inti sel sehingga diperoleh DNA murni yang telah terpisah dari komponen cairan seluler dan protein. (Nugroho dkk., 2022)

Berbagai metode ekstraksi DNA telah banyak dikembangkan mulai dari yang bersifat manual/konvensional, penggunaan kit ekstraksi komersial, hingga teknik robotik. Salah satu bentuk inovasi dalam proses ekstraksi DNA adalah penggunaan kit ekstraksi komersial berbasis *spin column* yang sudah dilengkapi dengan campuran reagen yang diperlukan untuk proses ekstraksi, sehingga memungkinkan proses ekstraksi berlangsung dalam waktu relatif singkat (sekitar ± 2 jam), (Hutami dkk., 2018). Metode ini sangat mudah digunakan serta menghasilkan konsentrasi dan kemurnian DNA yang tinggi. Metode ini memanfaatkan interaksi antara asam nukleat dengan resin silika yang ada di dalam *spin column*, yang memungkinkan DNA atau RNA untuk terikat pada resin tersebut sementara kontaminan lainnya dibersihkan melalui serangkaian langkah pencucian. Namun, meskipun efektif, metode ini memiliki beberapa keterbatasan. *Spin column* komersial hanya dapat digunakan sekali (*single use*) dan biaya yang dibutuhkan sangat mahal yang dapat menjadi penghalang bagi laboratorium dengan anggaran terbatas, (Shi dkk., 2018).

Pembuatan *spin column* buatan sendiri merupakan sebuah pendekatan alternatif yang efektif dan hemat biaya. Salah satu bahan alternatif yang menarik perhatian adalah kertas saring. Kertas saring dikenal luas karena kemampuannya dalam melakukan filtrasi, memiliki daya serap tinggi, dan sifatnya yang dapat dimodifikasi secara kimiawi untuk berbagai tujuan spesifik. Selain itu, kertas saring memiliki keunggulan utama yaitu harganya yang jauh lebih murah dan ketersediaannya yang lebih luas. Modifikasi yang tepat menjadikan kertas saring dapat digunakan sebagai medium pemurnian asam nukleat, yang tidak hanya lebih terjangkau tetapi juga lebih ramah lingkungan (Shi dan Panthee, 2017).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, kertas saring yang terbuat dari serat selulosa dapat menjadi alternatif yang unggul menggantikan bahan berbasis silika dalam menyiapkan *96-well spin plates* untuk pemurnian DNA genom tanaman dengan hasil tinggi dari ekstraksi CTAB/NaCl, (Shi dan Panthee 2017). Dalam penelitian lain, disebutkan bahwa kertas saring dapat digunakan untuk pemurnian cepat asam nukleat dari ekstrak kasar untuk analisis berbasis PCR, (Zou dkk., 2017). Kertas saring dapat dengan mudah digunakan untuk mengisi ulang *spin column* bekas atau *spin column* buatan sendiri untuk mengurangi biaya laboratorium. Oleh karena itu kertas saring dapat menjadi komponen penting untuk pemurnian asam nukleat di laboratorium biologi molekuler, (Shi dkk., 2018).

Potensi kertas saring sebagai medium pemurnian memang dikatakan sangat menjanjikan, tetapi masih diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengoptimalkan desain dan proses penggunaannya dalam *spin column* terutama untuk proses ekstraksi DNA bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini mencakup penentuan parameter optimal seperti kemampuan kertas saring dalam mengikat DNA bakteri

dilihat dari batas minimal konsentrasi bakteri yang dapat terdeteksi serta konsentrasi dan kemurnian materi genetik yang dihasilkan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menguji efektivitas pemakaian *spin column* berbasis kertas saring dalam proses ekstraksi DNA bakteri *Staphylococcus aureus* pada berbagai konsentrasi.

Adapun sebelumnya telah dilakukan uji pendahuluan terkait penelitian pembuatan *spin column* berbasis kertas saring dalam proses ekstraksi DNA bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 2 *McFarland* dengan melakukan serangkaian uji dimulai dari proses ekstraksi, PCR, dan elektroforesis. Hasil uji pendahuluan menunjukkan bahwa *spin column* berbasis kertas saring yang dibuat berhasil mengekstraksi DNA bakteri *Staphylococcus aureus*, dilihat dari hasil elektroforesis yang menunjukkan terbentuknya pendaran pita DNA pada gel agarose pada 1.550 *basepair* yang menunjukkan bahwa terdapat DNA bakteri (gen 16sRNA) pada sampel hasil ekstraksi menggunakan *spin column* buatan berbasis kertas saring. Adapun penelitian akan dilanjutkan dengan menguji konsentrasi dan kemurnian hasil ekstraksi menggunakan *spektrofotometer nanodrop*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi nyata dalam penyediaan alat pemurnian yang lebih terjangkau, efektif, dan hemat biaya, yang dapat mendukung kemajuan ilmu pengetahuan dan kesehatan.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut “Bagaimana Efektivitas Pemakaian *Spin Column* Berbasis Kertas Saring dalam Proses Ekstraksi DNA Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Berbagai Konsentrasi?”.

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan umum

Menguji efektivitas pemakaian *spin column* berbasis kertas saring dalam proses ekstraksi DNA bakteri *Staphylococcus aureus* pada berbagai konsentrasi.

2. Tujuan khusus

- a. Melakukan proses ekstraksi menggunakan *spin column* berbasis kertas saring pada sampel bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 0,5; 1; dan 2 *McFarland*.
- b. Mendeteksi DNA bakteri *Staphylococcus aureus* hasil ekstraksi menggunakan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*).
- c. Mengetahui konsentrasi DNA bakteri *Staphylococcus aureus* hasil ekstraksi menggunakan metode *spektrofotometer nanodrop*.
- d. Menguji tingkat kemurnian DNA bakteri *Staphylococcus aureus* hasil ekstraksi menggunakan metode *spektrofotometer nanodrop*.

D. Manfaat

1. Manfaat teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat menambah ilmu dalam bidang bioteknologi mengenai inovasi material baru seperti kertas saring untuk pemurnian DNA bakteri.

2. Manfaat praktis

Penelitian ini diharapkan dapat mengembangkan penggunaan kertas saring sebagai medium pemurnian DNA yang dapat menjadi dasar untuk penelitian lanjutan dan aplikasi lainnya di bidang biologi molekuler serta mendukung peningkatan aksesibilitas teknologi pemurnian asam nukleat di daerah dengan sumber daya minim.