

DETEKSI GEN *nuc* PADA BAKTERI *Staphylococcus aureus* DARI PASIEN ULKUS DIABETIKUM DAN POLA SENSITIVITASNYA TERHADAP ANTIBIOTIK DI RSUD DR. WAHIDIN SUDIRO HUSODO MOJOKERTO

Siti Nur Azizah¹ · Amellya Octifani² · Yulianto Ade Prasetya³

^{1,2,3} D3 Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Anwar Medika Sidoarjo, Jawa Timur, Indonesia

e-Mail: amellya.octifani@uam.ac.id

No Tlp WA: 082257249206

Abstract

Diabetes mellitus (DM) is a metabolic disease characterized by increased blood sugar and caused by disruption of the insulin hormone. One of the complications of diabetes that is often encountered is diabetic ulcers and is caused by Staphylococcus aureus bacteria. The purpose of this study was to determine the prevalence of the nuc gene and antibiotic sensitivity patterns in S. aureus causing diabetic ulcers which were identified molecularly from DM patients at Dr. Wahidin Sudiro Husodo Hospital, Mojokerto in May - July 2024. The method used was polyphasic systematics including conventional identification, PCR, and antibiotic sensitivity testing using the Kirby-Bauer method. Based on the research that has been done, the results of the identification of the nuc gene of Staphylococcus aureus bacteria causing diabetic ulcers at Dr. Wahidin Sudiro Husodo Hospital, Mojokerto molecularly were 4 isolates (57%) from 7 isolates originating from the general surgery clinic polyclinic with an amplicon of 270bp. The results of the antibiotic sensitivity test using the Kirby-Bauer method showed that the most sensitive results were 100% against gentamicin, 100% ampicillin, and 50% chloramphenicol, so it can be used as a therapy for diabetic ulcer patients because it can inhibit the spread of S. aureus bacteria.

Keywords : *Staphylococcus aureus*; diabetic ulcer; *nuc* gene; PCR

Abstrak

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan adanya kenaikan gula darah dan disebabkan oleh terganggunya hormon insulin. Salah satu komplikasi diabetes yang sering dijumpai yaitu ulkus diabetikum dan disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui prevalensi gen *nuc* dan pola sensitivitas antibiotik pada *S. aureus* penyebab ulkus diabetikum yang diidentifikasi secara molekular dari pasien DM di RSUD Dr. Wahidin Sudiro Husodo Mojokerto pada bulan Mei - Juli 2024. Metode yang digunakan yaitu sistematika polifasik antara lain identifikasi konvensional, PCR, dan uji sensitivitas antibiotik dengan metode *Kirby-Bauer*. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil identifikasi gen *nuc* bakteri *Staphylococcus aureus* penyebab ulkus diabetikum di RSUD Dr. Wahidin Sudiro Husodo Mojokerto secara molekular yaitu 4 isolat (57%) dari 7 isolat yang berasal dari ruangan poli klinik bedah umum dengan amplicon sebesar 270bp. Hasil uji sensitivitas antibiotik metode *Kirby-Bauer* didapatkan hasil sensitif dengan urutan terbesar sebanyak 100% terhadap gentamisin, ampicilin 100%, dan kloramfenikol 50% sehingga dapat dijadikan sebagai terapi pada pasien ulkus diabetikum karena dapat menghambat penyebaran bakteri *S. aureus*.

Kata kunci : *Staphylococcus aureus*; ulkus diabetikum; gen *nuc*; PCR

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan adanya kenaikan gula darah dan disebabkan oleh terganggunya hormon insulin yang

memiliki fungsi untuk menjaga hemostasis tubuh dengan cara menurunkan kadar gula dalam darah (Dewa *et al.*, 2022). Indonesia merupakan negara yang menduduki peringkat keempat dari jumlah penyandang diabetes melitus tertinggi di dunia dan diperkirakan akan meningkat hingga 2-3 kali lipat di tahun 2030 dibandingkan tahun 2000 (Leonita & Muliani, 2015). Salah satu komplikasi diabetes yang sering dijumpai yaitu ulkus diabetikum (Hasdianah, 2021).

Ulkus diabetikum merupakan luka terbuka pada permukaan kulit yang disebabkan oleh adanya makroangiopati sehingga vaskuler insufisiensi dan neuropati berkembang menjadi infeksi karena masuknya kuman (Setyoningsih *et al.*, 2022). Risiko amputasi terjadi 10-30 kali lebih tinggi pada pasien diabetes dibandingkan dengan populasi umum dan secara global diperkirakan terdapat satu juta pasien mengalami beberapa amputasi ekstremitas bawah setiap tahunnya (Setiawan *et al.*, 2022). Penyebab amputasi tersering pada ulkus diabetikum adalah iskemik (50-70%) dan infeksi (30-50%) (Wibisono *et al.*, 2022). Bakteri Gram positif penyebab ulkus diabetikum paling banyak disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*, selain itu juga dapat disebabkan oleh bakteri spesies *Streptococci* group b, *Enterococcus* sp., dan bakteri Gram negatif seperti *Proteus* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, dan *Escherichia coli* (Rizqiyah *et al.*, 2020).

Staphylococcus aureus merupakan flora normal pada kulit, saluran pernafasan, dan saluran pencernaan makanan pada manusia. Infeksi oleh *Staphylococcus aureus* ditandai dengan adanya kerusakan jaringan yang disertai abses bernanah (Deyno *et al.*, 2017) (Rianti *et al.*, 2022). Bakteri ini mampu menyebabkan ulkus diabetikum dan menduduki peringkat pertama untuk infeksi luka diabetes. Menurut penelitian Naeem *et al.* (2019) prevalensi bakteri *S. aureus* penyebab ulkus diabetikum sebesar 83% (Darmawati, 2019).

Metode sistematika polifasik merupakan sistematika modern yang mengintegrasikan data fenotipik dan genotipik yang terdiri atas sistematika numerik-fenetik, sistematika kimiawi (konvensional), dan sistematika molekular yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi mikroorganisme secara akurat (Darmawati, 2019). Sejak penemuan PCR dan sekuensing DNA, perbandingan urutan gen dari spesies bakteri *S. aureus* menghasilkan nuklease termotabil ekstraseluler yang dikode oleh gen *nuc* yang merupakan gen pengkode Tnase (*thermonuclease*) yaitu berupa enzim yang bersifat termotabil atau tahan pada suhu tinggi penanda

spesifik yang berguna untuk mengidentifikasi bakteri *S. aureus* (Sugireng & Rosdarni, 2021).

Identifikasi molekular bakteri *S. aureus* penyebab ulkus diabetikum dengan metode *polymerase chain reaction* (PCR) pada rumah sakit di Indonesia masih jarang dilakukan, termasuk di RSUD Dr. Wahidin Sudiro Husodo Mojokerto. Di RSUD Dr. Wahidin Sudiro Husodo belum dilakukan identifikasi molekular bakteri *S. aureus* penyebab ulkus diabetikum dengan metode *polymerase chain reaction* (PCR) yang merupakan standar baku emas dalam identifikasi bakteri. Berdasarkan uraian diatas peneliti tertarik untuk melakukan penelitian deteksi gen *nuc* bakteri *Staphylococcus aureus* dan uji pola sensitivitas antibiotik pada sampel ulkus diabetikum di RSUD Dr. Wahidin Sudiro Husodo Mojokerto.

BAHAN DAN METODE

Alat dan bahan yang digunakan adalah media *blood agar plate* (BAP), media *mueller hinton agar* (MHA), media *nutrient agar* (NA), media *triple sugar iron agar* (TSIA), media *methyl red-voges proskauer* (MR-VP), media *sulfide indol motility* (SIM), media *simmons citrate* (SC), media *mannitol salt agar* (MSA), reagen pewarnaan *crystal violet*, iodine, alkohol 96%, safranin, reagen metil merah, reagen *kovac*, reagen Barrit, reagen H₂O₂, kertas cakram dan antibiotik (gentamisin, klindamisin, tetrasiklin, ampisilin, kloramfenikol). Reagen PCR yaitu Mastermix dengan merk promega sebanyak 12.5 μ l yang terdiri dari (0.5 U *Taq polymerase*, 0.2mM dNTP, 1.5mM MgCl₂, dan *Buffer* 1x), primer spesifik *forward nuc* yang terdiri dari (6.705,4 g/nmol MW, 5.2 OD, dan TM 54.4°C) dengan urutan basa nitrogen yaitu [5'TCAGCAAATGCATCACAAACAG-3'], primer *reverse nuc* yang terdiri (6.421,2 g/nmol MW, 4.1 OD, dan TM 54.6°C) dengan urutan basa nitrogen yaitu [5'CGTAAATGCACTTGCAGG-3'], *nuclear for water* (NFW), dan *DNA template*. Reagen elektroforesis berupa 2% *agarosa gel* yang dibuat dengan dicampurkan 0.4 gr *agarosa ultrapure* dengan 1x *TBE Buffer* (Tris Base 242.0 gr ditambahkan asam asetat glasial 57.1 mL dan dilarutkan dengan 0.5 M EDTA pH 8.00), dan *gel green*.

Desain penelitian yang digunakan adalah observatif dengan pendekatan deskriptif kualitatif. Populasi target dari penelitian ini adalah ulkus diabetikum pasien DM di RSUD Dr. Wahidin Sudiro Husodo Mojokerto yang dikumpulkan selama dua bulan yaitu bulan Juni-juli 2024.

Isolasi dan Identifikasi Sampel Ulkus Diabetikum Metode Konvensional

Tahap awal dari penelitian ini adalah sampel yang sebelumnya telah diambil menggunakan swab steril dan dimasukkan dalam tabung ulir berisi media transport *nutrient broth* (NB) diinokulasikan pada media *blood agar plate* (BAP). Setelah inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, masing-masing media diperiksa dan dilanjutkan dengan menanam koloni yang tumbuh pada media uji biokimia dan uji resisten. Identifikasi konvensional dari sampel ulkus diabetikum yaitu dengan pewarnaan Gram, karakteristik morfologi, dan uji biokimia seperti uji *triple sugar iron agar* (TSIA), uji *sulfide indol motility* (SIM), uji *simmons citrate* (SC), uji *methyl red-voges proskauer* (MR-VP), uji katalase, dan uji *mannitol salt agar* (MSA).

Pemurniaan Bakteri dan Panen Sel

Koloni bakteri yang tumbuh pada cawan Petri berisi media BAP di kultur pada media *tryptic soy agar* (TSA) dengan metode gores (*streak plate method*) menggunakan jarum ose lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setiap koloni murni yang bebas dari hasil pemurnian dipindahkan ke media NA miring untuk mendapatkan isolat bakteri dan dilakukan ekstraksi DNA dengan metode *boiling heat* di mini PCR 16.

Isolasi Genom Bakteri Metode Molekular

1) Ekstraksi DNA Genom Bakteri

Ekstraksi DNA dilakukan dengan metode *boiling heat* di mini PCR 16. Satu ose koloni yang tumbuh disuspensikan dalam 0,1 mL akuadest steril dalam microtube dan diinkubasi dalam mini PCR 16 suhu 99°C selama 5-10 menit untuk melisiskan sel. Sel yang telah lisis kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 6.000 rpm selama 10 menit dalam suhu ruang. Supernatan yang terbentuk diambil secara hati-hati sebanyak 15 µl dan digunakan untuk *template* PCR.

2) Amplifikasi Gen *nuc* dengan Teknik PCR

Tabel 1. Primer yang digunakan dan metode dilakukan dengan PCR

Nama Primer	Sekuensi Primer	Gen Target	Amplicon in bp
<i>nuc</i> - F	5'TCAGCAAATGCATCACAAACAG-3'	<i>nuc</i>	270bp
<i>nuc</i> - R	5'CGTAAATGCACTTGCAAGG-3'		

Tahapan amplifikasi gen *nuc* metode PCR yang digunakan yaitu denaturasi awal pada suhu 94°C selama 4 menit, denaturasi pada suhu 94°C

selama 60 detik, *annealing* pada suhu 53°C selama 50 detik, *extension* pada suhu 72°C selama 70 detik, dan *final extension* pada suhu 72°C selama 10 menit.

3) Visualisasi Produk PCR

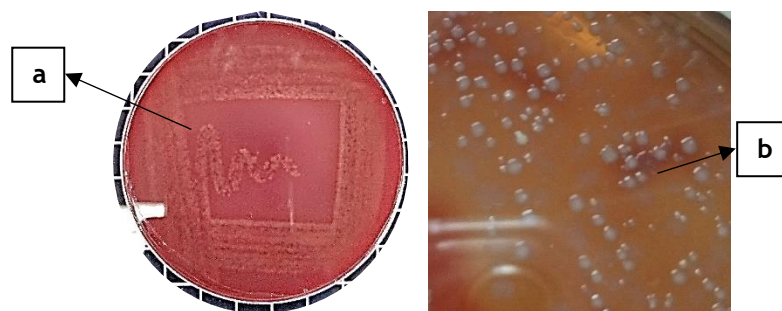
Produk hasil PCR divisualisasikan dengan metode elektroforesis dalam gel agarosa 2%. Gel agarosa ditimbang sebanyak 0.4 gr dan dilarutkan dalam 20 mL 1x TBE *buffer* lalu dipanaskan hingga homogen. Selanjutnya ditambahkan pewarna *gel green* kemudian dicetak ke dalam cetakan gel lalu dibiarkan hingga mengeras. Jika gel agarosa sudah mengeras, dipindahkan ke dalam alat elektroforesis. Produk PCR sebanyak 5 µl dan marker sebanyak 7 µl dimasukkan ke dalam sumur gel. Marker yang digunakan adalah 1000bp dengan amplikon gen *nuc Staphylococcus aureus* sebesar 270bp. penentuan ukuran fragmen dilakukan dengan cara membandingkan pergerakan fragmen DNA dengan DNA penanda yang telah diketahui ukurannya.

Uji Pola Sensitivitas Antibiotik Pada Bakteri *Staphylococcus aureus*

Uji pola sensitivitas bakteri dilakukan dengan metode difusi cakram sumuran *Kirby-Bauer*. Isolasi biakan bakteri pada *mueller hinton agar* (MHA) hingga rata memenuhi semua zona media. Kertas cakram yang digunakan yaitu gentamisin 10 µg, klindamisin 2 µg, tetrasiklin 30 µg, ampisilin 10 µg, dan kloramfenikol 30 µg. Setelah itu, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram diukur menggunakan penggaris untuk menghitung diameter zona hambat.

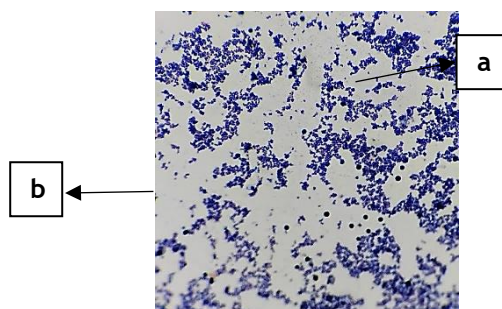
HASIL

Penelitian telah dilaksanakan pada Juni - Juli 2024 di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Anwar Medika. Isolasi dan identifikasi bakteri dilakukan pada sampel ulkus diabetikum diperoleh sebanyak 10 sampel. Dari 10 sampel dilakukan kultur pada media *blood agar plate* (BAP) dan dihasilkan 15 isolat dengan pertumbuhan koloni penuh yaitu berbentuk bulat, berwarna putih, berukuran kecil, halus, kering, dan dapat menghemolisis media yang ditunjukkan pada (Gambar 1.) dibawah ini:



Gambar 1. Hasil Koloni *Staphylococcus aureus* Pada Kultur Media BAP
a) Beta Hemolisis Pada Media BAP ; b) Koloni Warna Putih, Kecil, Kering

Identifikasi bakteri dilakukan secara mikroskopik dengan pewarnaan Gram dan diperoleh 7 isolat dari 15 isolat Gram positif berbentuk bulat bergerombol, berwarna ungu dengan latar belakang putih ditunjukkan pada (Gambar 2.) sebagai berikut:



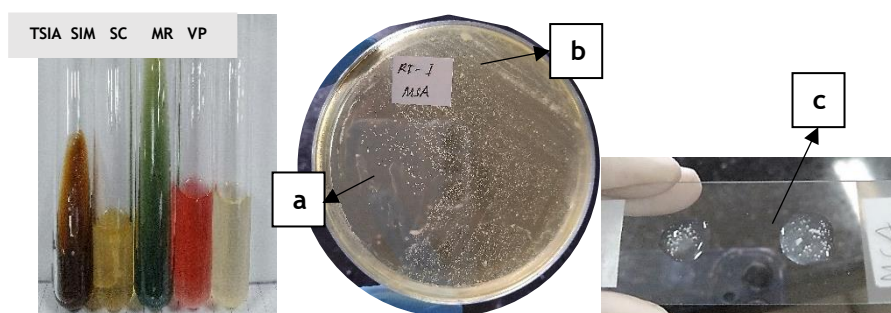
Gambar 2. Hasil Mikroskopis Gram *Staphylococcus aureus* Perbesaran 1000x/lp
a) Bentuk Bulat Bergerombol dan Warna Sel Ungu ; b) Warna Latar Putih

Pemeriksaan lanjutan dalam identifikasi bakteri adalah reaksi biokimia. Uji konvensional dijadikan sebagai parameter pendukung dalam mengidentifikasi bakteri melalui karakteristik biokimia yang biasa dilakukan diantaranya adalah uji *triple sugar iron agar* (TSIA), uji sulfur, indol, motil (SIM), uji *simmons citrate* (SC), uji katalase, dan uji *mannitol salt agar* (MSA). Dari 7 isolat diperoleh hasil pada Tabel 1. dan Gambar 3. sebagai berikut:

Tabel 1. Karakteristik Biokimia *S. aureus* dari Sampel Ulkus Diabetikum di RSUD Dr. Wahidin Sudiro Husodo Mojokerto

No	Karakteristik Biokimia	Kode Isolat						
		J3a	J4a	J4c	J4d	J6	J8	l1
1	Gram Positif	+	+	+	+	+	+	+
2	Motilitas	-	-	-	-	-	-	-
3	Sitrat	-	-	-	-	-	-	-

No	Karakteristik Biokimia	Kode Isolat						
		J3a	J4a	J4c	J4d	J6	J8	I1
4	Indol	-	-	-	-	-	-	-
5	MR/VP	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
6	TSIA	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A
7	H ₂ S	-	-	-	-	-	-	-
8	Katalase	+	+	+	+	+	+	+
9	Fermentasi Manitol	+	+	+	+	+	+	+



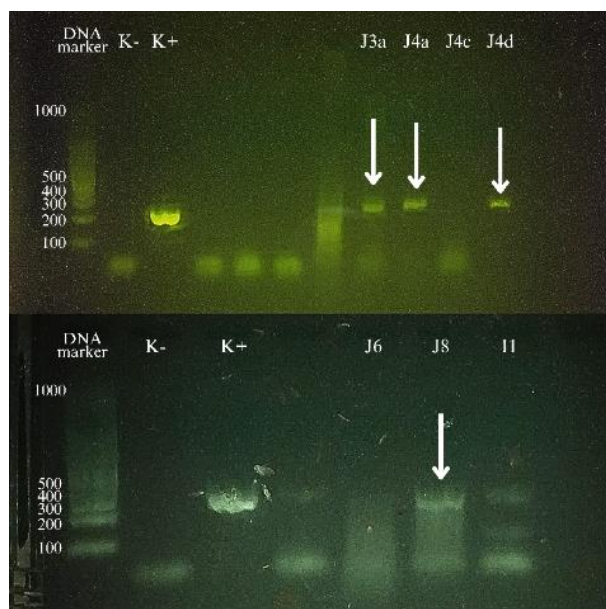
Gambar 3. Hasil Uji Biokimia *Staphylococcus aureus*

- a) Koloni Warna Kuning Keemasan, Kecil, Berlendir ; b) Warna Media Berubah Menjadi Kuning (Fermentasi Mannitol) ; c) Terbentuk Gelembung (+)

Berdasarkan hasil penelitian secara molekular didapatkan hasil prevalensi gen *nuc* bakteri *S. aureus* penyebab ulkus diabetikum sejumlah 4 dari 7 isolat yang dapat dilihat pada (Tabel 2.). Hasil elektroforesis pada (Gambar 4.) menunjukkan isolat urutan J3a, J4a, J4d, dan J8 terdapat pita DNA bakteri sejajar dengan ampikon sebesar 270bp.

Tabel 2. Distribusi Keberadaan *Staphylococcus aureus* di Ruang RSUD Dr. Wahidin Sudiro Husodo Mojokerto

Ruang RSUD Dr. Wahidin Sudiro Husodo	Jumlah Isolat (%)	Jumlah Positif <i>S. aureus</i> (%)	Jumlah Positif Gen <i>nuc</i> (%)
Poli Klinik Bedah Umum (J)	87% (13/15)	86% (6/7)	57% (4/7)
Rawat Inap (I)	13% (2/15)	14% (1/7)	0% (0/7)
TOTAL	100%	100% (7/7)	57% (4/7)

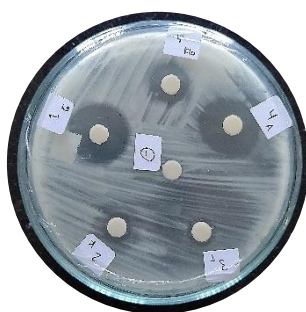


Gambar 4. Hasil Elektroforesis Gen *nuc Staphylococcus aureus* Besar Amplikon 270bp

Berdasarkan hasil uji antibiotik metode *Kirby-Bauer* dapat dilihat pada Tabel 3. dan Gambar 5. menunjukkan bahwa resistensi bakteri *S. aureus* terhadap antibiotik klindamisin dan tetrasiklin yaitu 75% (3/4). Sedangkan hasil sensitif spektrum luas terhadap antibiotik gentamisin 100% (4/4), ampisilin 100% (4/4), dan kloramfenikol 50% (2/4).

Tabel 3. Pola Sensitivitas Antibiotik *S. aureus* dari Ulkus Diabetikum Pasien DM di RSUD Dr. Wahidin Sudiro Husodo Mojokerto

Antibiotik	<i>Staphylococcus aureus</i>		
	Resisten	Intermediet	Sensitif
Gentamisin	0% (0/4)	0% (0/4)	100% (4/4)
Klindamisin	75% (3/4)	25% (1/4)	0% (0/4)
Tetrasiklin	75% (3/4)	0% (0/4)	25% (1/4)
Ampisilin	0% (0/4)	0% (0/4)	100% (4/4)
Kloramfenikol	25% (1/4)	25% (1/4)	50%(2/4)



Gambar 5. Hasil Uji Sensitivitas *S. aureus* Terhadap Antibiotik

DISKUSI

Sampel diambil dengan metode swab steril dari bagian pus yang mengandung protein dari hasil proses inflamasi yang terbentuk dari sel leukosit, cairan jaringan, dan debris seluler (Idris *et al.*, 2020)(Travis *et al.*, 2020).

Media *blood agar plate* (BAP) mengandung glukosa atau karbohidrat yang bersifat *fermentable* sehingga dapat merubah jenis hemolisa yang dihasilkan (Nurhidayanti & Ratna, 2022). Hasil pada kultur 15 isolat dengan pertumbuhan koloni penuh yaitu berbentuk bulat, berwarna putih, berukuran kecil, halus, kering, dan menghemolisis media.

Berdasarkan hasil pewarnaan Gram menunjukkan bakteri Gram positif berbentuk bulat bergerombol, berwarna ungu dengan latar belakang putih (Putu *et al.*, 2022).

Berdasarkan identifikasi karakteristik biokimia hasil yang diperoleh mengarah pada bakteri *S. aureus* memiliki ciri-ciri negatif SC menunjukkan bahwa bakteri tidak menggunakan sitrat sebagai sumber karbon yang ditandai dengan tidak terjadi perubahan warna pada media sehingga tetap berwarna hijau. Bakteri ini pada media TSIA menghasilkan fermentasi laktosa ditandai dengan warna media permukaan miring asam (kuning), bagian dasar asam (kuning) dan tidak terbentuk gas serta H₂S yang menandakan bahwa bakteri *S. aureus* tidak membentuk hidrogen sulfida. Uji indol bakteri tidak menghasilkan lapisan merah ceri setelah ditambahkan pereaksi *kovac* yang terdiri dari p-dimetilaminobenzaldehida, butanol, dan asam hidroklorida. Indol negatif menunjukkan bahwa substrat triftofan tidak terhidrolisis dalam media agar SIM. Media yang sama juga menunjukkan bahwa *S. aureus* bersifat non motil ditandai dengan tidak adanya pergerakan yang menjalar dari bekas tusukan, hal ini sesuai dengan morfologi bakteri tersebut tidak memiliki flagella. Uji keasaman didapatkan hasil positif setelah ditambahkan indikator metil merah yaitu pH terjadi perubahan dari warna kuning muda menjadi merah. Indikator tersebut yang berperan dalam mendeteksi pembentukan asam dengan konsentrasi tinggi yang dihasilkan bakteri sedangkan uji *voges-preskauer* menunjukkan hasil negatif setelah ditambahkan pereaksi Barrit

yang terdiri atas campuran senyawa alkohol α -naftol dan gugus guanidine dalam pepton sehingga tidak terbentuk warna merah mawar (Lasmini *et al.*, 2022).

Terdapat uji lanjutan biokimia yaitu uji katalase didapatkan hasil terbentuk gelembung udara menandakan bahwa bakteri dapat memecah hidrogen peroksida menjadi oksigen karena secara alami bakteri menghasilkan metabolisme karbohidrat secara aerobik sehingga ketika diteteskan reagen H₂O₂ 3% akan terbentuk gelembung-gelembung udara. Pada bakteri yang bersifat anaerob fakultatif dilakukan uji *mannitol salt agar* (MSA) didapatkan hasil positif dengan adanya perubahan warna pada media menjadi kuning keemasan menandakan bahwa bakteri dapat memfermentasi mannitol (Filmayanti *et al.*, 2022).

Berdasarkan penelitian secara molekular pada Tabel 2. dan Gambar 4. menunjukkan 4 isolat terdapat pita DNA gen *nuc* dengan ampikon sebesar 270p dan 3 isolat tidak terdapat pita DNA gen *nuc* yang disebabkan oleh kondisi penelitian yang tidak optimal untuk metode PCR. Hal ini sejalan dengan penelitian Brakstad *et al.* (2014) bahwa beberapa isolat *S. aureus* yang secara fenotip dapat menunjukkan hasil negatif sehingga terdapat perbedaan urutan nukleotida antar gen *nuc* yang disebabkan oleh beberapa pengobatan atau tidak adanya gen *nuc* pada beberapa strain *S. aureus* sehingga hasil metode PCR yang negatif untuk gen *nuc* tidak dapat membuktikan tidak adanya *S. aureus* di antara isolat klinis. Pemilihan suhu juga dapat mempengaruhi hasil sehingga jika suhu yang digunakan terlalu tinggi maka primer tidak akan menempel sedangkan penggunaan suhu rendah maka primer menempel pada gen lain yang tidak diinginkan (Herman *et al.*, 2017).

Berdasarkan uji antibiotik metode *Kirby-Bauer* pada Tabel 3. dan Gambar 5. menunjukkan bakteri *S. aureus* resistensi terhadap antibiotik klindamisin dan tetrasiklin. Sensitif menghambat terhadap antibiotik gentamisin dan ampisilin. Penelitian Mardiah (2017) bahwa bakteri *S. aureus* bersifat resisten terhadap tetrasiklin sebesar 7,3% dan klindamisin sebesar 4,8% (Purnamasari *et al.*, 2023). Resistensi klindamisin pada *S. aureus* diakibatkan oleh metilasi ribosom yang dipengaruhi oleh gen *erm* (*eritromisin ribosom metilase*) sehingga ribosom akan mengalami perubahan dan mengakibatkan antibiotik golongan *lincomsamides* tidak mengenali target sehingga mengurangi efektivitas dari antibiotik (Abbasi *et al.*, 2019). Penelitian yang dilakukan Mardiah (2017) menunjukkan isolat *S. aureus*

bersifat resisten 100% terhadap tetrasiklin. Mekanisme resistensi oleh tetrasiklin yaitu mengembangkan *efflux pump* yang aktif untuk mengeluarkan antibiotik dari sitoplasma lebih cepat daripada kecepatan senyawa tersebut berdifusi masuk menyebabkan konsentrasi senyawa menjadi terlalu rendah sehingga menjadi tidak efektif (Pratiwi, 2017).

Antibiotik gentamisin merupakan salah satu antibiotik golongan aminoglikosida yang memiliki kemampuan untuk mengikat subunit 30S dari ribosom bakteri yang akan menyebabkan kodon mRNA dan kodon *aminoasil*-tRNA tidak cocok sehingga akan terjadi kesalahan pada proses tranlasi protein sehingga sintesis protein pada bakteri terhambat dan bakteri tersebut tidak dapat berkembang biak atau mati (Ahmadian *et al.*, 2021). Kloramfenikol juga dapat dijadikan sebagai pilihan terapi kedua setelah gentamisin (Septiana *et al.*, 2024). Pada penelitian lain tentang gambaran antibiotik pada pasien ulkus diabetikum di RSUD Ulin Banjarmasin yaitu persentase gentamisin 100% diikuti kloramfenikol 75% (Aryzki *et al.*, 2020). Antibiotik kloramfenikol bekerja dengan cara menghambat sintesis protein bakteri. Struktur kloramfenikol memungkinkan untuk berikatan dengan subunit 50S dari ribosom sehingga menghalangi perlekatan asam amino oleh tRNA pada rantai peptide dengan mengganggu daya kerja *peptidyl transferase* dan bakteri tersebut akan mati atau tidak berkembang biak (Abbasi *et al.*, 2019). Ampisilin dapat juga dijadikan pilihan untuk terapi antibiotik tetapi sebagian besar isolat *S. aureus* sensitif dengan ampisilin dan Sebagian besar resisten dengan ampisilin. Beberapa penelitian menunjukkan adanya mutasi terutama pada gen penyandi *penicilin binding protein* sehingga memicu sifat resistensi *S. aureus* terhadap antibiotik beta-laktam sehingga perlu dipertimbangkan kembali untuk penggunaan antibiotik ampisilin (Putz *et al.*, 2020). Oleh karena itu antibiotik gentamisin dan kloramfenikol memiliki spektrum luas yang tergolong sensitif dalam menghambat pertumbuhan bakteri sehingga antibiotik tersebut dapat dijadikan sebagai pilihan terapi pengobatan pasien ulkus diabetikum.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan kesimpulan yaitu prevalensi keberadaan *S. aureus* penyebab ulkus diabetikum di RSUD Dr. Wahidin Sudiro Husodo Mojokerto secara molekular dari hasil elektroforesis diperoleh pita

DNA positif gen *nuc S. aureus* sebanyak 57% (4/7) ditunjukkan pada amplicon 270bp. Uji kepekaan antibiotik didapatkan hasil resisten terbesar bakteri *S. aureus* terhadap antibiotik klindamisin 75% (3/4) diikuti dengan tetrasiklin 75% (3/4) dan kloramfenikol 25% (1/4). Sedangkan hasil sensitif dengan urutan terbesar sebanyak 100% (4/4) terhadap genatmisin, ampisilin 100% (4/4), kloramfenikol 50% (2/4), dan tetrasiklin 25% (1/4). Oleh karena itu antibiotik gentamisin, ampisilin, dan kloramfenikol dapat dijadikan sebagai pilihan terapi pengobatan pada pasien ulkus diabetikum.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih Universitas Anwar Medika Sidoarjo, bagian Poli Bedah Umum dan ruang rawat inap Kerta Bumi RSUD Dr. Wahidin Sudiro Husodo Mojokerto, dosen pembimbing 1 dan 2 yang turut aktif dalam membantu pelaksanaan penelitian serta kepada semua pihak yang terlibat dalam penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan pada penelitian ini.

PENDAHULUAN

- Abbasi, A. S., Niaz, S., & Mahjbeen, W. (2019). Commonly Occurring Bacteria in Diabetic Foot Infections and their Sensitivity to various Antibiotics. *Journal of Islamabad Medical & Dental College*, 8(1), 8-12.
- Ahmadian, L., Norouzi Bazgir, Z., Ahanjan, M., Valadan, R., & Goli, H. R. (2021). Role of Aminoglycoside-Modifying Enzymes (AMEs) in Resistance to Aminoglycosides among Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in the North of Iran. *BioMed Research International*, 2021(1), 707-734.
- Aryzki, S., Alicia, M., & Rahmah, S. (2020). Gambaran Penggunaan Antibiotik pada Pasien Ulkus Diabetikum di Instalasi Rawat Jalan Penyakit Dalam RSUD Ulin Banjarmasin Periode Juli-Desember 2018. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 6(2), 265-272.
- Brakstad, O. G., Aasbakk, K., & Maeland, J. A. (2014). Detection of *Staphylococcus aureus* by Polymerase Chain Reaction Amplification of The *nuc* Gene. *Journal of Clinical Microbiology*, 30(7), 1654-1660. <https://doi.org/10.1128/jcm.30.7.1654-1660.1992>

- Cholifah, N., & Azizah, N. (2016). Hubungan Antara Pola Makan Dan Aktivitas Fisik Dengan Kadar Gds Pada Pasien Diabetes Mellitus (DM) Tipe II Di Puskesmas Mayong II Jepara Tahun 2015. *Jurnal Ilmu Keperawatan Dan Kebidanan*, 7(2), 1-79.
- Darmawati, S. (2019). Sistematika Polifasik Untuk Deteksi Keanekaragaman Genetik *Salmonella typhi*. *Jurnal Ilmu Kesehatan*, 2(1), 27-33.
- Dewa, I., Eka, A., Astutisari, C., Yuliati Darmini, A. A. A., Ayu, I., & Wulandari, P. (2022). The Correlation Between Physical Activity and Blood Sugar Level in Patient with Type 2 Diabetes Mellitus in Public Health Centre Manggis I. *Jurnal Riset Kesehatan Nasional*, 6(2), 79-87. <https://ejournal.itekes-bali.ac.id/jrkn>
- Deyno, S., Fekadu, S., & Astatkie, A. (2017). Resistance of *Staphylococcus aureus* to Antimicrobial Agents in Ethiopia: a meta-analysis. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 6(1), 1-15.
- Filmayanti, W., Rosdarni, & Umi Nurlila, R. (2022). Deteksi Bakteri *Staphylococcus Aureus* Pada Jajanan Makanan Dipasar Basah Mandonga Kota Kendari. *Jurnal MediLab Mandala Waluya*, 6(1), 39-47. <https://doi.org/10.36566/medilab.v5i1%20juli.148>
- Hasdianah, H. R. (2021). Mengenal Diabetes Mellitus Pada Orang Dewasa Dan Anak-Anak Dengan Solusi Herbal. *Yogyakarta: Nuha Medika*.
- Herman, H., Natalya, L. N., Berampu, S. M., & Roslim, D. I. (2017). Optimasi Suhu Annealing Untuk Primer g-Ssr dan Est-Ssr Pada Kacang Hijau (*Vigna radiata L.*). *DINAMIKA PERTANIAN*, 33(1), 95-102.
- Hilda, & Berliana. (2015). Pola Resistensi Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* Terhadap Berbagai Antibiotik. *Jurnal Mahakam Husada*, 4(1), 1-71.
- Idris, Palisoa, Z., & Ernawati, A. (2020). *Pola Resistensi Bakteri Pada Ulkus Diabetik*. <http://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/psb/>
- Lasmini, T., Saphira, A., Dos Marlina, L. B., & Sherly Margaretta, T. (2022). Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Swab Rongga Hidung Penjamah Makanan Di Jalan Durian Kota Pekanbaru. *Prosiding Rapat Kerja Nasional Asosiasi Perguruan Tinggi Teknologi Laboratorium Medik Indonesia*, 281-292.
- Leonita, E., & Muliani, A. (2015). Penggunaan Obat Tradisional Oleh Penderita Diabetes Mellitus Dan Faktor-Faktor Yang Berhubungan Di Wilayah Kerja Puskesmas Rejosari Pekanbaru Tahun 2015. *Jurnal Kesehatan Komunitas*, 3(1), 47-52.
- Lestari, Zulkarnain, S., & Asiyah Sijid. (2021). *Diabetes Melitus: Review Etiologi*. <http://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/psb>
- Mangarengi, Y. (2019). Infeksi Saluran Kemih (ISK) Komplikata Di Rumah Sakit Ibnu Sina Makassar. *UMI Medical Journal*, 4(1), 130-140.

- Mardiah. (2017). Uji Resistensi *Staphylococcus aureus* Terhadap Antibiotik Amoxilin, Tetracyclin dan Propolis. *Jurnal Ilmu Alam Dan Lingkungan*, 8(16), 1-6.
- Naeem, F., Anjum, F. R., Arshad, M. A., Bukhari, A. A., Aslam, B., Khan, J. A., & Arshad, M. I. (2019). Isolation and Antibiotic Sensitivity Pattern of Drug Resistant Bacteria in Ulcerative Foot of Type 2 Diabetic Patients. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 32(4), 1843-1848.
- Noer, S. (2021). Identifikasi Bakteri Secara Molekular Menggunakan 16S rRNA. *Biological Science and Education Journal*, 1(1), 1-6. www.alimetrics.net
- Nurhidayanti, & Ratna Sari, R. (2022). Perbedaan Karakteristik Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Media Agar Darah Domba dan Media Agar Darah Manusia. *Jurnal Analis Kesehatan*, 11(1), 30-34.
- Pratiwi, R. H. (2017). Mekanisme Pertahanan Bakteri Patogen Terhadap Antibiotik. *Jurnal Pro-Life*, 4(3), 418-429.
- Purnamasari, I., Suwarno, & Tyasningsih, W. (2023). Identification of *Staphylococcus* sp. and Antibiotic Resistance in Tukur District, Pasuruan. *Jurnal Medik Veteriner*, 6(1), 93-104. <https://doi.org/10.20473/jmv.vol6.iss1.2023.93-104>
- Putu Risky Vidika Apriyanthi, D., Saka Laksmi, A. W., & Putu Widayanti, N. (2022). Identifikasi Bakteri Kontaminan Pada Gelang Tri Datu. *Jurnal Biologi Makassar*, 7(2), 24-33. <https://journal.unhas.ac.id/index.php/bioma>
- Putz, E. J., Palmer, M. V, Ma, H., Casas, E., Reinhardt, T. A., & Lippolis, J. D. (2020). Characterization of a Persistent, Treatment-Resistant, Novel *Staphylococcus aureus* Infection Causing Chronic Mastitis in a Holstein Dairy Cow. *BMC Veterinary Research Journal*, 16, 1-8.
- Rianti, E. D. D., Tania, P. O. A., & Listyawati, A. F. (2022). Kuat Medan Listrik AC Dalam Menghambat Pertumbuhan Koloni *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmiah Biologi*, 11(1), 79-88. <https://doi.org/10.26877/bioma.v11i1.9561>
- Rizqiyah, H., Umiana Soleha, T., Hanriko, R., & Apriliana, E. (2020). Pola Bakteri Ulkus Diabetikum Pada Penderita Diabetes Melitus di RSUD Dr. H. Abdul Moeloek. *Medical Journal of Lampung University*, 9(2), 128-135.
- Saleh, R. H., & Hadi, B. (2019). Bacterial Profile in Patients With Diabetic Foot Infections and its Association With TNF- α . *Plant Archives*, 19(1), 222-228.
- Sanu, E. M., Urias, M., Sanam, E., & Tangkonda, E. (2015). Uji Sensitivitas Antibiotika Terhadap *Staphylococcus aureus* yang di Isolasi Dari Luka Kulit Anjing di Desa Merbaun, Kecamatan Amarasi Barat Kabupaten Kupang. *Jurnal Kajian Veteriner Desember*, 3(2), 175-189.

- Septiana, Viona Putri Anjarani, A., & Wahyudi, D. (2024). Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus* Sp. Terhadap Beberapa Antibiotik Pada Ulkus Diabetikum. *Jurnal Politeknik Kesehatan*, 19(1), 91-95. <https://doi.org/10.32382/medkes.v19i1>
- Setiawan, D., Putri, D. A., Yulianti, D. K., & Farihatun, A. (2022). PENGGUNAAN FAKTOR KOREKSI VOLUME PEMERIKSAAN SEDIMEN URINE. *Prosiding Asosiasi Institusi Pendidikan Tinggi Teknologi Laboratorium Medik Indonesia*, 1, 91-98.
- Setyoningsih, H., Purno Yudanti, G., Ismah, K., Handayani, Y., & Nurun Nida, H. (2022). Evaluasi Penggunaan Antibiotik Pada Pasien Diabetes Mellitus Dengan Ulkus Diabetikum Berdasarkan Metode Gyssens di Rumah Sakit Islam Kudus. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 6(2), 257-269. <http://cjp.jurnal.itekescendekiautamakudus.ac.id>
- Sugireng, S., & Rosdarni, R. (2021). Deteksi Gen nuc Isolat Bakteri *Staphylococcus aureus* Dari Pasien Ulkus Diabetikum Dengan Metode PCR. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*, 7(1), 133-136.
- Suhartati, R. (2015). Identifikasi Bakteri Oxacillin Resistant *Staphylococcus aureus* (Orsa) Pada Ulkus Penderita Diabetes Mellitus di Ruang Perawatan Bedah Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) Tasikmalaya. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*, 11(1), 161-167.
- Travis, J., Malone, M., Malone, M., Malone, M., Hu, H., Baten, A., Johani, K., Johani, K., Huygens, F., Huygens, F., Vickery, K., Benkendorff, K., & Benkendorff, K. (2020). The Microbiome of Diabetic Foot Ulcers: A Comparison of Swab and Tissue Biopsy Wound Sampling Techniques Using 16S rRNA Gene Sequencing. *BMC Microbiology*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01843-2>
- Wahyudi, D. A., Susanto, G., Stiexs, A., Wahyudi, M. T., & Sadhana, W. (2023). Hubungan Kadar Glukosa dan Tekanan Darah dengan Kejadian Ulkus Diabetikum pada Pasien DM Tipe 2 di Puskesmas Tiuh Tohou Menggala. *Health Research Journal of Indonesia*, 1(6), 229-236.
- Wibisono, B., Triani, V. M., & Amanah, A. (2022). Uji Sensitivitas Antibiotik Terhadap Bakteri Patogen Pada Pasien Ulkus Diabetikum di RSUD Waled Cirebon. *Indonesian Journal of Biomedicine & Health Sciences*, 1(1), 1. <https://jurnal.ugj.ac.id/index.php/inabhs>