

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Infeksi Saluran Kemih (ISK)

Infeksi saluran kemih (ISK) adalah infeksi yang terjadi pada bagian-bagian saluran kemih, seperti uretra, ureter, kandung kemih, dan ginjal. Infeksi ini biasanya disebabkan oleh bakteri yang masuk ke saluran kemih dan menimbulkan peradangan. Sebagian besar kasus ISK disebabkan oleh bakteri dari usus, terutama *Escherichia coli*. Gejala yang sering muncul antara lain nyeri saat buang air kecil, sering ingin berkemih, nyeri di area bawah perut, serta demam dan nyeri pinggang jika infeksi sudah mencapai ginjal (Mancuso *et al.*, 2023).

2.1.1 Klasifikasi

Infeksi saluran kemih (ISK) pertama-tama dikategorikan menurut tempat infeksi, meliputi uretritis (infeksi uretra), ureteritis (infeksi ureter), sistitis (infeksi kandung kemih), dan pielonefritis (infeksi ginjal). ISK menurut pola kejadiannya, yakni ISK primer dan ISK berulang (recurrent). ISK primer adalah infeksi yang baru saja terjadi atau tidak pernah terjadi sebelumnya dalam jangka waktu tertentu. Dalam kebanyakan kasus, kondisi ini terjadi secara sporadis dan disebabkan oleh kolonisasi uropatogen, khususnya *Escherichia coli*. ISK berulang didefinisikan sebagai tiga atau lebih episode ISK dalam waktu 12 bulan, atau dua episode dalam 6 bulan, yang umumnya disebabkan oleh mikroorganisme yang sama seperti sebelumnya (Mancuso *et al.*, 2023).

Menurut panduan *European Urological Association* (EAU) terbaru pada 2025, klasifikasi infeksi saluran kemih (ISK) tidak lagi memakai istilah "uncomplicated" dan "complicated" karena dianggap menimbulkan kebingungan. Sebagai penggantinya yaitu ISK lokal dan ISK sistemik. ISK lokal merujuk pada infeksi yang hanya terbatas di saluran kemih bagian bawah khususnya sistitis dengan gejala seperti rasa sakit saat buang air kecil, keinginan mendadak, dan frekuensi buang air kecil yang tinggi, tanpa disertai demam. ISK sistemik ditandai oleh gejala infeksi yang meluas, seperti demam, kedinginan, tekanan darah rendah, atau nyeri di punggung, yang menandakan penyebaran infeksi ke ginjal, prostat, atau aliran darah (Bonkat *et al.*, 2025).

2.1.2 Etiologi

Infeksi saluran kemih bisa dipicu oleh berbagai jenis mikroorganisme, seperti bakteri, virus, dan jamur. *Escherichia coli* adalah penyebab paling umum dari ISK (Ananta *et al.*, 2025). *Escherichia coli* menjadi penyebab utama karena dilengkapi berbagai ciri yang memudahkannya melekat dan menembus jaringan saluran kemih, tahan terhadap kondisi tubuh yang tidak menguntungkan, serta bisa membuat gumpalan di dalam sel yang membuat infeksi sulit hilang dan mudah berulang (García-garcía *et al.*, 2025). Selain *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, dan *Pseudomonas aeruginosa* juga berperan sebagai penyebab ISK terutama pada pasien dengan kateter atau kelainan anatomis. Bakteri

Gram-positif seperti *Enterococcus faecalis* dan *Staphylococcus saprophyticus* sering ditemukan pada wanita muda. Dalam kondisi khusus, ISK dapat disebabkan oleh jamur seperti *Candida albicans* atau virus pada pasien imunokompromais. Keberagaman etiologi ini dipengaruhi oleh faktor host, kondisi klinis, serta kemampuan virulensi mikroorganisme (Ikatan Ahli Urologi Indonesia (IAUI), 2021).

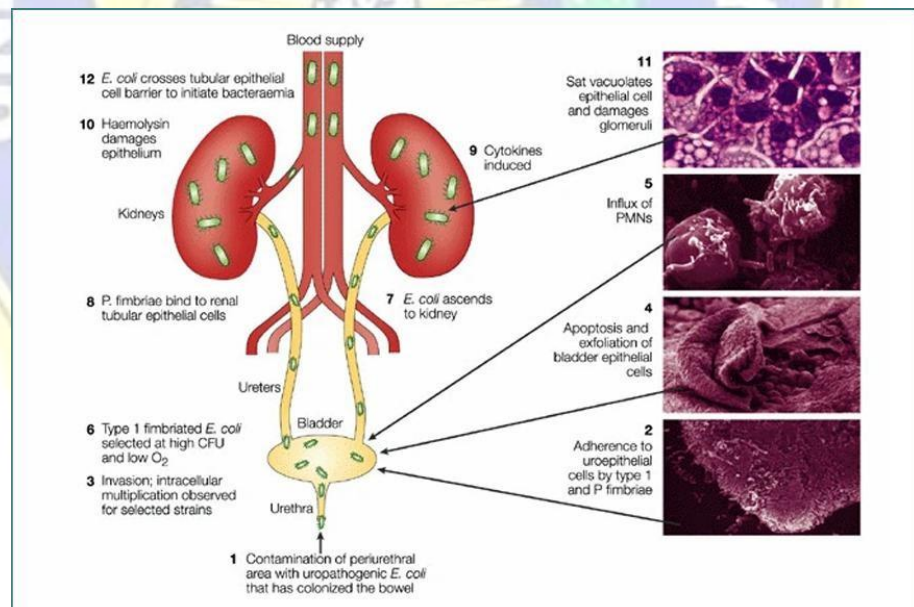
2.1.3 Patofisiologi

Infeksi saluran kemih umumnya terjadi melalui mekanisme ascending, yaitu bakteri dari flora normal daerah periuretra terutama *E. coli* mengkontaminasi uretra, kemudian naik menuju kandung kemih dan bila berlanjut dapat mencapai ginjal. Kolonisasi ini menyebabkan peradangan uroepitel yang ditandai dengan respons imun berupa leukosituria dan dapat memicu demam sebagai reaksi sistem imun tubuh. Jika bakteri mencapai ginjal (pielonefritis), inflamasi yang lebih berat dapat terjadi dan meningkatkan risiko jaringan parut ginjal, hipertensi, hingga gangguan fungsi ginjal jangka panjang (Bari'ah *et al.*, 2025).

2.1.4 Patogenesis

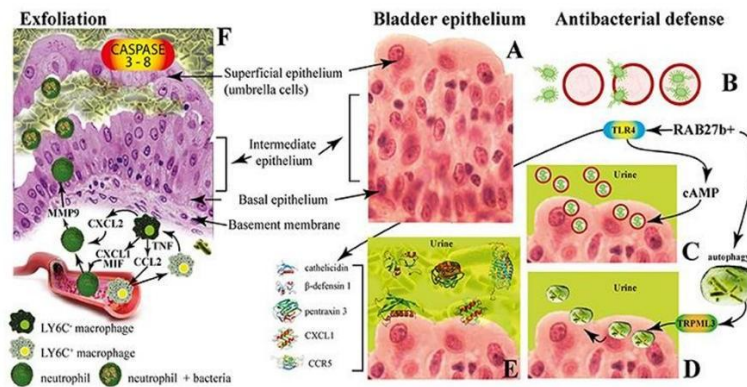
Saluran kemih dalam keadaan normal bersifat steril kecuali pada bagian distal uretra. Infeksi saluran kemih (ISK) muncul akibat interaksi antara kekuatan virulensi bakteri dan mekanisme pertahanan tubuh inang, dimana kekuatan perlindungan alami yang lebih baik akan mengurangi risiko bakteri menimbulkan infeksi.

Faktor pertahanan tubuh mencakup urine dengan pH asam, osmolalitas yang tinggi, protein Tamm-Horsfall, proses pembilasan urine, lapisan mukopolisakarida pada mukosa, antibodi IgA, serta sekresi prostat yang bersifat membunuh bakteri, yang semuanya membantu mencegah kolonisasi patogen. ISK biasanya dimulai dengan kolonisasi bakteri dari saluran pencernaan di daerah periuretral, lalu naik secara menaik ke uretra dan kandung kemih, terutama pada wanita karena uretra yang lebih pendek dan berdekatan dengan area perianal. Proses infeksi diperkuat oleh fimbriae yang meningkatkan daya lekat bakteri pada sel uroepitelial, serta toksin seperti lipopolisakarida yang merangsang reseptor imun (TLR4), memicu reaksi inflamasi, dan memungkinkan bakteri menyebar hingga ke ginjal, sehingga dapat menyebabkan pielonefritis (Rinawati *et al.*, 2022).



Gambar 2. 1 Patogenesis (Gebremedhin *et al.*, 2025).

Mekanisme imunitas bawaan pada saluran kemih merupakan sistem pertahanan awal tubuh terhadap infeksi saluran kemih (ISK). Ketika bakteri seperti *Escherichia coli* masuk dan menempel pada sel urothelium kandung kemih, reseptor imun seperti Toll Like Receptor 4 (TLR4) akan mengenali komponen bakteri dan memicu respons inflamasi. Aktivasi tersebut menyebabkan pelepasan sitokin dan kemokin yang berfungsi merekrut neutrofil dan makrofag menuju lokasi infeksi. Neutrofil berperan dalam fagositosis bakteri, sedangkan makrofag membantu mengatur respons inflamasi dan mempertahankan keberadaan neutrofil pada jaringan yang terinfeksi. Selain itu, sel epitel kandung kemih menghasilkan berbagai peptida antimikroba seperti cathelicidin dan β -defensin untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Sel urothelium yang telah terinfeksi juga dapat mengalami apoptosis dan eksfoliasi sehingga bakteri ikut terlepas bersama aliran urin. Mekanisme lain seperti autofagi turut membantu menghancurkan bakteri di dalam sel. Keseluruhan respons tersebut berfungsi mencegah kolonisasi bakteri lebih lanjut dan menghambat penyebaran infeksi ke ginjal (Handayani *et al.*, 2024).



Gambar 2. 2 Mekanisme Imunitas Bawaan pada Saluran Kemih (Handayani *et al.*, 2024).

2.5.1 Diagnosis

Diagnosis Infeksi Saluran Kemih (ISK) tidak selalu sederhana untuk ditegakkan, sebab beberapa kasus bisa tidak menunjukkan gejala atau gejala yang tidak khas, serta mirip dengan kondisi urologis lainnya. Secara klinis, gejala ISK diklasifikasikan berdasarkan tingkat keparahannya, yakni sistitis dengan tanda lokal seperti rasa sakit saat buang air kecil, dorongan kuat, frekuensi tinggi, dan nyeri di atas kemaluan; pielonefritis dengan gejala sistemik seperti demam, nyeri di sisi tubuh, mual, atau muntah; serta urosepsis yang ditandai oleh respons inflamasi sistemik (SIRS) seperti demam atau hipotermia, denyut jantung cepat, napas cepat, perubahan PaCO_2 , dan gangguan jumlah leukosit yang dapat berujung pada disfungsi dan gagal organ (Rinawati *et al.*, 2022).

Pemeriksaan urine merupakan pendekatan utama untuk menegakkan diagnosis, dimana kebanyakan pasien menunjukkan kenaikan jumlah eritrosit dan leukosit dalam urine sebagai tanda hematuria mikroskopik serta reaksi inflamasi yang disebabkan oleh

infeksi saluran kemih. Selain itu, tes darah dilakukan untuk mengevaluasi respon kekebalan tubuh secara sistemik terhadap infeksi, dengan hasil yang beragam mulai dari leukopenia hingga leukositosis, serta peningkatan laju endap darah yang mengindikasikan proses inflamasi aktif pada sebagian pasien. Pemeriksaan pencitraan seperti USG dan CT-scan diterapkan secara terpilih pada pasien dengan indikasi klinis spesifik, terutama untuk mengidentifikasi potensi komplikasi seperti penyumbatan saluran kemih atau batu ginjal, sedangkan pasien lainnya tidak memerlukan pencitraan karena gejala klinis sudah cukup kuat untuk mendukung diagnosis infeksi saluran kemih (Wahyuni *et al.*, 2025).

2.1.6 Faktor resiko

Dalam menangani infeksi saluran kemih (ISK) penting untuk mempertimbangkan berbagai faktor risiko yang bisa memperburuk penyakit atau membuat pengobatan kurang berhasil. Faktor-faktor ini mencakup kelainan pada struktur atau fungsi saluran kemih, penggunaan kateter urine jangka panjang, adanya batu di saluran kemih, serta riwayat pemberian antibiotik sebelumnya khususnya jika bakteri yang ditemukan sudah kebal terhadap obat. Beberapa kelompok pasien lebih rentan terhadap ISK yang sulit diatasi, seperti bayi, orang tua, individu dengan sistem kekebalan tubuh yang lemah, pasien yang memiliki sisa urine setelah buang air kecil, dan mereka yang mengalami gangguan saraf yang mempengaruhi fungsi kemih. Pada pria keterlibatan prostat dapat memperparah kondisi. Pada

wanita, kehamilan dan prolaps organ panggul bisa menjadi faktor tambahan. Selain itu prosedur medis pada saluran kemih yang baru dilakukan juga dapat menaikkan risiko (Bonkat *et al.*, 2025).

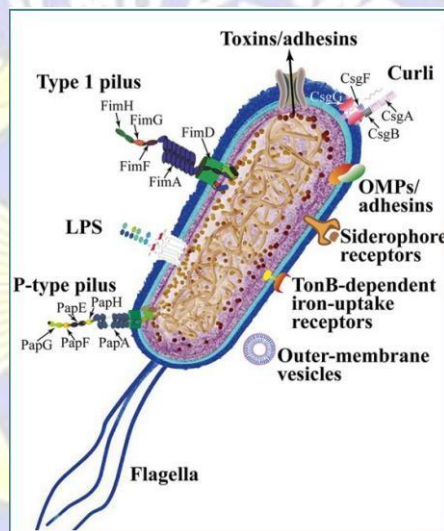
Kebiasaan harian juga berperan dalam meningkatkan risiko infeksi saluran kemih (ISK). Kebiasaan menahan buang air kecil bisa menyebabkan penumpukan urine, yang pada akhirnya melemahkan kemampuan sistem kemih untuk membuang bakteri dengan baik. Selain itu, kebersihan area genital yang tidak terjaga dan asupan cairan harian yang rendah dapat membuat urine lebih pekat, sehingga memudahkan mikroorganisme melekat pada lapisan saluran kemih (Annisah *et al.*, 2024).

2.2 Bakteri Penyebab Infeksi Saluran Kemih (ISK)

Infeksi Saluran Kemih (ISK) merupakan salah satu penyakit infeksi bakteri yang paling sering terjadi pada manusia dan dapat menyerang seluruh kelompok usia. Sebagian besar kasus ISK disebabkan oleh bakteri yang berasal dari flora normal saluran pencernaan yang masuk ke saluran kemih melalui jalur ascendens. Bakteri Gram negatif dari famili *Enterobacteriaceae* masih menjadi penyebab utama ISK, dengan *Escherichia coli* sebagai penyebab dominan pada infeksi tanpa komplikasi maupun infeksi komplikata (Timm *et al.*, 2024).

Escherichia coli merupakan penyebab sekitar 75–80% kasus ISK di masyarakat. Bakteri ini memiliki berbagai faktor virulensi, seperti fimbriae tipe 1, P fimbriae, adhesin, siderofor, hemolisin, kapsul, dan kemampuan

membentuk biofilm sehingga mampu berkolonisasi pada epitel saluran kemih dan bertahan dari respons imun inang (Gebremedhin *et al.*, 2025). *E. coli* mampu melakukan invasi ke dalam sel uroepitel, membentuk intracellular bacterial communities (IBCs), dan mengalami replikasi intraseluler yang berkontribusi terhadap kekambuhan ISK serta meningkatnya resistensi terhadap terapi antibiotik (Zhou *et al.*, 2023). Keberadaan gen virulensi pada *E. coli* menjadi dasar pengembangan metode diagnosis molekuler, termasuk *Polymerase Chain Reaction* (PCR), karena mampu mendeteksi bakteri secara cepat dan spesifik (Govindarajan *et al.*, 2024).



Gambar 2.3 Struktur Adhesin, fimbriae, dan flagella pada *E.coli* (Gebremedhin *et al.*, 2025).

Klebsiella pneumoniae merupakan penyebab ISK tersering kedua setelah *Escherichia coli*, terutama pada pasien dengan penggunaan kateter urine, diabetes melitus, gangguan sistem imun, maupun pasien rawat inap. Bakteri ini memiliki kapsul polisakarida yang berperan dalam menghindari fagositosis dan meningkatkan kemampuan kolonisasi pada saluran kemih

(Zhou *et al.*, 2023). *Klebsiella pneumoniae* merupakan salah satu bakteri penghasil extended-spectrum β -lactamase (ESBL) yang paling sering ditemukan pada kasus ISK komunitas maupun rumah sakit, sehingga menyebabkan meningkatnya resistensi terhadap antibiotik β -laktam (Mim *et al.*, 2026).

Proteus mirabilis merupakan penyebab penting ISK komplikata, khususnya pada pasien dengan penggunaan kateter urine jangka panjang. Bakteri ini menghasilkan enzim urease yang menghidrolisis urea menjadi amonia sehingga meningkatkan pH urine dan memicu pembentukan batu struvite (Yang *et al.*, 2024). Selain menghasilkan urease, *Proteus mirabilis* memiliki kemampuan *swarming motility*, pembentukan biofilm, dan sistem akuisisi logam yang mendukung kolonisasi saluran kemih serta meningkatkan virulensi bakteri (Chakkour *et al.*, 2024).

Enterococcus faecalis merupakan bakteri Gram positif yang sering ditemukan pada pasien dengan penggunaan kateter urine, riwayat terapi antibiotik, maupun tindakan invasif pada saluran kemih. Bakteri ini mampu membentuk biofilm sehingga meningkatkan risiko infeksi persisten dan kekambuhan ISK (Grey *et al.*, 2023). Kemampuan *Enterococcus faecalis* bertahan pada berbagai kondisi lingkungan dan resistensinya terhadap beberapa antibiotik menjadikan bakteri ini sebagai salah satu penyebab utama ISK nosokomial (Mancuso *et al.*, 2023).

Pseudomonas aeruginosa lebih banyak ditemukan sebagai penyebab ISK yang didapat di rumah sakit (hospital-acquired urinary tract infection), terutama pada pasien dengan kateter urine dan pasien

imunokompromais (El Husseini *et al.*, 2024). *Pseudomonas aeruginosa* memiliki kemampuan membentuk biofilm yang kuat serta resistensi intrinsik terhadap berbagai antibiotik sehingga menjadi salah satu uropatogen yang paling sulit ditangani pada era resistensi antimikroba (Chan *et al.*, 2024).

Staphylococcus saprophyticus merupakan penyebab ISK kedua terbanyak pada perempuan muda yang aktif secara seksual setelah *Escherichia coli*. Bakteri ini mempunyai protein adhesi yang memungkinkan kolonisasi pada epitel saluran kemih sehingga menyebabkan sistitis akut (Mancuso *et al.*, 2023).

2.3 *Escherichia coli*

Escherichia coli adalah bakteri berbentuk batang (basil) yang Gram-negatif, tidak membentuk spora, patogen fakultatif (dapat hidup dengan atau tanpa oksigen), dan termasuk dalam famili Enterobacteriaceae, umum ditemukan di usus manusia dan hewan, sering digunakan sebagai patogen kualitas air dan makanan (Naidoo, 2025). Antara komensal dan patogen, terdapat keragaman patogen yang signifikan bahkan dalam spesies bakteri yang sama. Genom-genom tersebut mencakup bakteri non-patogen yang bisa berfungsi sebagai komensal, dan mereka merupakan bagian dari patogen usus normal pada manusia serta berbagai hewan. *Escherichia coli* memiliki kemampuan adaptasi dan fleksibilitas patogen yang tinggi sehingga dapat berkembang

menjadi berbagai jenis dengan sifat 20 pathogen yang berbeda (Braz *et al.*, 2020).

2.3.1 Klasifikasi

Menurut (Widhah, 2022), klasifikasi *E. coli* sebagai berikut:

Domain	: Bacteria
Kingdom	: Eubacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gammaproteobacteria
Order	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>

Klasifikasi *Escherichia coli* tidak terbatas pada level spesies saja, melainkan juga mencakup pengelompokan intraspecies berdasarkan variasi genetik, yang disebut filogrup. Secara keseluruhan, strain bakteri *E. coli* dibagi menjadi delapan kelompok filogenetik utama: B2, B1, A, D, F, E, C, dan klade I.

1. Strain Virulen

E. coli ekstraintestinal yang sangat patogen, yang sering kali memicu Infeksi Saluran Kemih (ISK), sebagian besar termasuk dalam filogrup B2, dengan kontribusi yang lebih kecil dari grup D.

2. Strain Komensal

Strain komensal (yang biasanya hidup bersama tanpa bersifat patogen) umumnya dikaitkan dengan filogrup A atau B1. Menurut penelitian Sheikhi *et al.*, (2025), isolat *e.coli* yang resistan terhadap banyak obat MDR (*Multidrug-resistant Uropathogenic Escherichia coli*) dianalisis dan diklasifikasikan

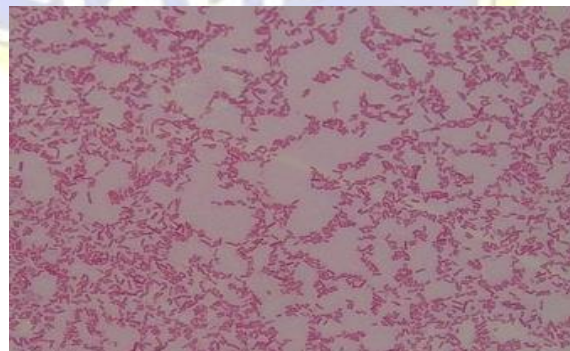
menjadi lima kelompok filogenetik, dengan distribusi prevalensi sebagai berikut:

- a. B2 : 42,7% (paling prevalen)
- b. Tidak diketahui : 21,3%
- c. E : 15,7%
- d. B1 : 13,5%
- e. D : 6,7%

Persentase tinggi pada filogrup B2 menegaskan bahwa kelompok ini paling dominan dan berkaitan kuat dengan faktor virulensi serta pola ketahanan antibiotik pada isolat uropatogenik.

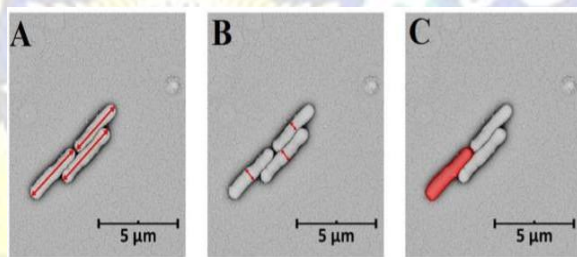
2.3.2 Morfologi

Escherichia coli merupakan bakteri yang memiliki bentuk batang pendek (kokobasil). *Escherichia coli* termasuk kedalam jenis bakteri gram negatif yang memiliki ukuran $0,4 \mu\text{m} - 0,7 \mu\text{m} \times 1,4 \mu\text{m}$, dan beberapa strain memiliki kapsul (Czerwińska-Głowińska *et al.*, 2021). Struktur genomnya yang terdiri dari genom inti dan genom aksesoris memungkinkan *E. coli* memperoleh gen virulensi maupun resistensi antimikroba melalui transfer gen horizontal (Braz *et al.*, 2020).



Gambar 2. 4 Hasil pewarnaan Gram E.coli pada media MacConkey yang diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 100x (Khoiriyah *et.al.*, 2022).

Escherichia coli merupakan sel prokariotik dengan struktur yang cukup sederhana mencakup DNA, organel sel, membran sitoplasma, serta dinding sel yang keras. Bentuk sel *E. coli* umumnya tetap, yaitu seperti batang (bentuk batang) yang dijaga oleh protein sitoskeleton seperti MreB dan FtsZ. Stabilitas bentuk ini ditandai oleh rasio aspek (lebar terhadap panjang, W/L) yang konstan, biasanya sekitar 0,25. Parameter morfometri seperti panjang sel (L), lebar sel (W), dan volume sel (V) (gambar 2.3) merupakan elemen penting dalam studi *E. coli* yang normal (Czerwińska-Głowińska *et al.*, 2021).



Gambar 2.5 Panjang sel (L), Lebar sel (W), dan Volume sel (V) *E.coli* (Czerwińska-Głowińska *et al.*, 2021).

2.3.3 Patogenitas

Patogenitas *Escherichia coli* ditentukan oleh keberagaman faktor virulensi yang dimiliki setiap pathotype, baik yang menyebabkan penyakit intestinal (DEC) maupun ekstra-intestinal (ExPEC). Proses patogenik pada seluruh strain umumnya diawali oleh adhesi melalui berbagai fimbriae. Adhesi memungkinkan

bakteri berkolonisasi pada epitel usus atau saluran kemih dan memicu interaksi awal dengan sel inang. Selanjutnya, tiap pathotype memiliki mekanisme toksin, invasi, atau kemampuan modulasi imun yang khas, yang menentukan manifestasi penyakit yang ditimbulkannya (Naidoo *et al.*, 2025).

2.4 Sampel Urine Pagi

Urine pagi adalah urine yang dikeluarkan saat pagi hari atau setelah bangun tidur di malam hari tanpa mengonsumsi makanan, minuman, maupun aktivitas fisik dalam jangka waktu yang lama sehingga mengalami pemekatan (Yusrina *et al.*, 2021). Urine adalah cairan residu hasil ekskresi ginjal yang dikeluarkan dari tubuh melalui proses urinasi. Ekskresi urine berfungsi untuk membuang molekul-molekul residu hasil penyaringan ginjal sekaligus mempertahankan keseimbangan atau homeostasis cairan tubuh. Selain mencerminkan fungsi ginjal dan saluran kemih, pemeriksaan urine juga dapat memberikan gambaran mengenai faal organ tubuh lainnya seperti hati, saluran empedu, pankreas, dan kelenjar adrenal (Arfaizah, 2022).

2.4.1 Keunggulan

Urine pagi menawarkan beberapa keuntungan. Karena belum dipengaruhi oleh konsumsi cairan, makanan, atau aktivitas fisik, urine ini memiliki konsentrasi yang lebih tinggi, sehingga meningkatkan kemampuan mendeteksi berbagai elemen sedimen seperti kristal, sel, dan komponen lainnya yang mungkin tidak

terlihat pada urine yang lebih encer. Konsentrasi tinggi ini menciptakan kondisi optimal untuk menilai fungsi ginjal dan proses konsentrasi urine selama periode tidur. Selain itu, urine pagi dapat mengungkap keberadaan zat dalam jumlah kecil. Oleh karena itu, memilih urine pagi adalah pilihan yang sangat tepat untuk mendapatkan hasil pemeriksaan yang akurat (Ikawati *et al.*, 2025).

2.4.2 Standar pengambilan sampel urine pagi

Keberhasilan pemeriksaan molekuler menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) sangat dipengaruhi oleh kualitas sampel yang diperoleh pada tahap pra-analitik. proses pengambilan, penyimpanan, transportasi, dan pengolahan sampel urine merupakan faktor yang berperan penting dalam menjaga stabilitas asam nukleat, sehingga DNA target tetap terjaga untuk proses amplifikasi PCR. Volume urine yang digunakan untuk pemeriksaan molekuler umumnya berkisar antara 10–50 mL, sedangkan volume 20–30 mL paling sering digunakan karena mampu menghasilkan endapan (*pellet*) yang cukup setelah proses sentrifugasi. Sentrifugasi dilakukan untuk mengonsentrasikan sel dan mikroorganisme sehingga jumlah DNA target yang diperoleh pada tahap isolasi menjadi lebih optimal untuk proses amplifikasi PCR (Far *et al.*, 2021).

Setelah pengambilan, sampel urine sebaiknya segera diproses. Apabila pemeriksaan belum dapat dilakukan, sampel direkomendasikan disimpan pada suhu 2–8°C selama tidak lebih

dari 24 jam untuk mempertahankan stabilitas DNA dan menghambat pertumbuhan mikroorganisme kontaminan. Untuk penyimpanan yang lebih lama, sampel sebaiknya disimpan pada suhu -20°C hingga -80°C , serta dihindarkan dari proses pembekuan dan pencairan berulang (*freeze-thaw cycle*) karena dapat menyebabkan kerusakan asam nukleat (Chang *et al.*, 2021).

Selama proses transportasi menuju laboratorium, sampel urine harus dipertahankan dalam kondisi dingin menggunakan cool box atau kotak styrofoam yang dilengkapi ice gel sehingga suhu tetap berada pada kisaran $2-8^{\circ}\text{C}$. Pemeliharaan *cold chain* selama transportasi berperan penting dalam mempertahankan integritas DNA, mencegah degradasi asam nukleat, serta menjaga kualitas spesimen sebelum dilakukan isolasi DNA dan amplifikasi menggunakan teknik PCR (Far *et al.*, 2021).

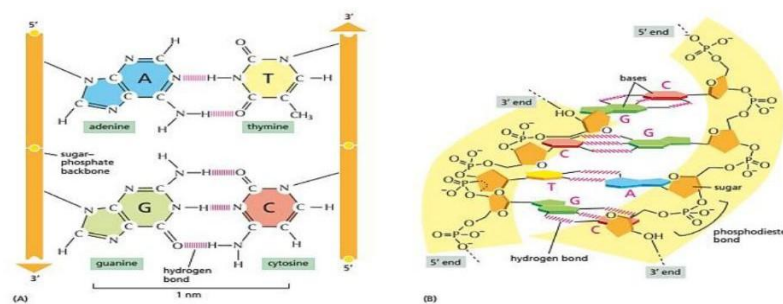
2.4.3 Relevansi urine pagi dengan pemeriksaan PCR

Urine pagi, merupakan spesimen utama yang direkomendasikan dalam pemeriksaan PCR untuk deteksi infeksi saluran kemih. Pedoman Eropa 2025 tentang Manajemen infeksi *Chlamydia trachomatis* menjelaskan bahwa jenis spesimen yang direkomendasikan untuk diagnosis infeksi saluran kemih pada pria adalah urine pertama yang dikeluarkan (hingga 20 mL, diambil setelah >1 jam sejak buang air kecil terakhir) karena memiliki sensitivitas yang tinggi dalam mendeteksi DNA patogen. Keunggulan lain adalah prosedurnya non-invasif, mudah

dikumpulkan oleh pasien sendiri (White *et al.*, 2025). Kondisi ini sangat mendukung proses PCR yang menunjukkan sensitivitas 97,8% dan spesifisitas 98,8% untuk menemukan *C. trachomatis*. Urine pagi digunakan sebagai spesimen utama menawarkan keuntungan diagnostik seperti peningkatan akurasi, prosedur pengambilan sampel yang lebih mudah, dan kenyamanan pasien saat menjalani pemeriksaan molekuler infeksi menular urogenital (Kebbi-beghdadi *et al.*, 2020).

2.5 Deoxyribonucleic Acid (DNA)

Deoxyribonucleic acid (DNA) didefinisikan sebagai suatu asam nukleat yang menyusun gen dalam inti sel dan berfungsi menyimpan informasi genetik suatu makhluk hidup. DNA tersusun atas dua rantai yang saling berpilin dan membentuk kromosom sebagai struktur pembentuk sel. Unit dasar penyusunnya adalah nukleotida yang terdiri dari basa nitrogen, yaitu Adenine (A), Thymine (T), Guanine (G), dan Cytosine (C). Basa nitrogen tersebut berpasangan secara spesifik melalui ikatan hidrogen, yaitu A berpasangan dengan T, dan G berpasangan dengan C (Faza *et al.*, 2025) Tersusun dalam struktur heliks ganda (*double helix*) dengan dua untai antiparalel yang saling melengkapi (A dengan T, G dengan C) (Kebbi-beghdadi *et al.*, 2020).



Gambar 2.6 Struktur Untai Ganda DNA (Nur *et al.*, 2019).

2.5.1 Fungsi

DNA bertindak sebagai wadah dan pengangkut informasi genetik dalam sel organisme hidup. Informasi tersebut disimpan dalam susunan nukleotida yang terbentuk dari gula deoksiribosa, gugus fosfat, serta basa nitrogen pada polinukleotida beruntai ganda. DNA juga memainkan peran krusial dalam pembentukan protein, di mana urutan basa nitrogennya menentukan jenis protein yang diproduksi untuk mendukung struktur dan fungsi sel. Lebih lanjut, DNA berfungsi sebagai penerus sifat genetik antargenerasi melalui transfer informasi genetik selama reproduksi. Struktur DNA yang kokoh, yakni dua untai yang saling terikat oleh ikatan hidrogen secara antiparalel, memungkinkan DNA mempertahankan stabilitas materi genetik sehingga tidak rentan terhadap modifikasi yang berbahaya (Nur *et al.*, 2019).

2.5.2 Karakteristik

Molekul DNA terdiri dari dua rantai polinukleotida dengan heliks ganda spiral yang saling berlawanan arah dan membentuk struktur seperti tangga. Diameter molekul DNA sekitar 20 angstrom,

dan panjangnya sesuai dengan pasangan basa yang saling berikatan. Sebaliknya, deoksiribosa dan fosfat membentuk "tiang tangga", sedangkan pasangan basa nitrogen membentuk anak tangga dengan pasangan spesifik A berikatan dengan T dan pasangan G berikatan dengan S. Rantai heliks DNA ini berinteraksi satu sama lain dengan gaya intermolekuler yang kuat. Sumbu tunggal mengelilingi struktur heliks DNA (Sadriyevna, 2024). DNA *E. coli* memiliki karakteristik unik yang ditunjukkan dari responnya terhadap stres seluler melalui interaksi dengan protein Dps. DNA *E. coli* cenderung mengalami supercoiling yang menghadirkan area kontak antar segmen DNA, sehingga memungkinkan terjadinya kondensasi yang cepat dan kooperatif. Interaksi ini menghasilkan pemadatan DNA menjadi satu kompleks stabil sebagai bentuk proteksi genom terhadap kondisi lingkungan yang merugikan (Shahu *et al.*, 2024).

2.5.3 DNA sebagai deteksi molekuler

DNA merupakan material genetik yang dapat digunakan sebagai identitas biologis yang akurat. Untuk identifikasi biologis, profil DNA dapat menunjukkan karakteristik genetik individu. DNA adalah target utama pemeriksaan molekuler seperti *Polymerase Chain Reaction* (PCR) karena keunggulan ini. PCR memperbanyak sekuens DNA tertentu yang berfungsi sebagai penanda identitas genetik atau keberadaan agen biologis tertentu sehingga jumlah DNA yang cukup untuk dianalisis. Oleh karena itu PCR dapat digunakan untuk tujuan forensik dan medis karena DNA yang

terdeteksi dan diamplifikasi dapat menunjukkan keberadaan patogen dalam sampel klinis atau hubungan biologis manusia. DNA digunakan sebagai target utama dalam pemeriksaan PCR untuk tujuan diagnostik dan identifikasi karena sifatnya yang stabil dan unik sebagai penyimpan data genetik (Kebbi-beghdadi *et al.*, 2020).

2.6 Polimerase Chain Reaction (PCR)

2.6.1 Prinsip kerja

Prinsip kerja *Polymerase Chain Reaction* (PCR) adalah proses biologi molekuler yang digunakan untuk memperbanyak fragmen DNA target secara spesifik dan eksponensial di luar sel (in vitro) dalam waktu beberapa jam, menghasilkan jutaan salinan. Teknologi ini bekerja dengan memanfaatkan kemampuan enzim DNA polimerase untuk mensintesis DNA baru dengan menggunakan cetakan (template) dan sepasang primer yang membatasi sekuens target (Antara *et al.*, 2025).

2.6.2 Komponen utama

Berdasarkan buku Biologi Molekuler untuk Teknologi Laboratorium Medis (Antara *et al.*, 2025), komponen utama PCR sebagai berikut :

- a. Template DNA: Ini adalah DNA target yang akan diperbanyak atau disalin.
- b. Primer (Forward dan Reverse): Sepasang oligonukleotida untai tunggal yang pendek. Fungsi utamanya adalah menentukan batas-

batas sekuens DNA target yang akan disalin (diperbanyak) dan menjadi titik awal bagi enzim DNA polimerase untuk memulai sintesis DNA baru.

c. dNTPs (Deoxynucleotide Triphosphates): Ini adalah bahan baku atau unit pembangun dasar DNA baru yang akan disintesis, terdiri dari deoksiadenosin trifosfat (dATP), deoksiguanosin trifosfat (dGTP), deoksitidin trifosfat (dCTP), dan deoksitimidin trifosfat (dTTP).

d. Enzim DNA Polimerase: Enzim ini berfungsi untuk memperpanjang rantai DNA baru dengan menambahkan nukleotida (dNTPs) dari ujung primer. Enzim yang digunakan harus tahan panas, yang paling umum adalah Taq *polymerase*.

e. Buffer: Larutan penyangga yang digunakan untuk menjaga kondisi kimiawi reaksi, termasuk pH, agar tetap stabil dan optimal untuk aktivitas enzim.

f. $MgCl_2$ (Magnesium Klorida): Berfungsi sebagai kofaktor penting yang dibutuhkan oleh enzim DNA polimerase untuk mengaktifkan reaksinya.

2.6.3 Tahapan reaksi PCR

Berdasarkan buku Biologi Molekuler untuk Teknologi Laboratorium Medis (Antara et al., 2025), tahapan PCR sebagai berikut :

1. Denaturasi (*Denaturation*)

Tujuan: Memisahkan untai ganda (double-stranded) DNA template menjadi dua untai tunggal (single-stranded) DNA.

Suhu: Tinggi, biasanya antara 94°C hingga 98°C.

Proses: Panas tinggi menyebabkan putusnya ikatan hidrogen antar pasangan basa di antara dua untai DNA, menghasilkan untai DNA tunggal yang akan berfungsi sebagai cetakan (template) pada tahap selanjutnya.

2. Penempelan (*Annealing*)

Tujuan: Memungkinkan primer (oligonukleotida pendek) menempel (berhibridisasi) secara spesifik pada lokasi komplementer di untai DNA template yang telah terpisah.

Suhu: Diturunkan ke suhu yang lebih rendah, umumnya berkisar antara 50°C hingga 65°C.

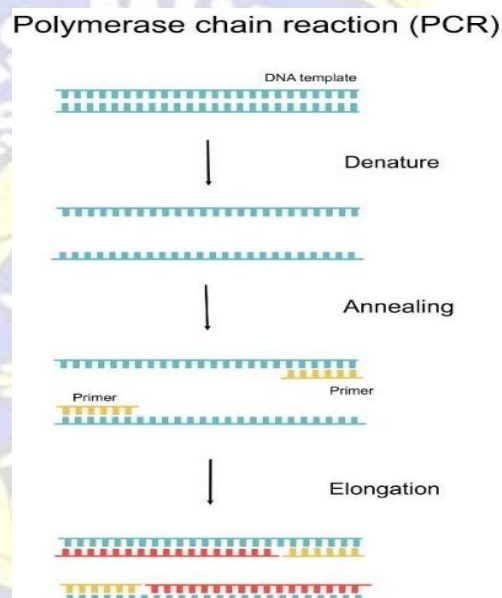
Proses: Pada suhu ini, primer *forward* dan *reverse* akan mencari dan menempel pada ujung yang berlawanan dari sekuens DNA target. Suhu ini sangat penting dan harus dioptimalkan (dikenal sebagai T_m atau *melting temperature* primer) untuk memastikan penempelan yang spesifik.

3. Pemanjangan/Ekstensi (*Extension/Elongation*)

Tujuan: Mensintesis untai DNA baru (komplementer) yang diawali dari primer yang telah menempel, menggunakan untai DNA tunggal sebagai cetakan.

Suhu: Dinaikkan ke suhu optimal untuk aktivitas enzim DNA Polimerase, biasanya sekitar 72°C (suhu optimal untuk *Taq* polimerase).

Proses: Enzim *Taq* polimerase mulai menambahkan nukleotida (dNTPs) secara berurutan, bergerak dari ujung 5' ke 3' primer. Proses ini menghasilkan dua molekul DNA untai ganda yang baru dari satu molekul DNA untai ganda awal. Ketiga tahapan ini membentuk satu siklus. Siklus ini akan diulang sebanyak 25 hingga 40 kali.



Gambar 2.7 Tahap PCR (White *et al.*, 2025)