

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Infeksi Saluran Kemih (ISK)**

##### **2.1.1 Definisi ISK**

Infeksi Saluran Kemih (ISK) adalah kondisi infeksi mikrobiologis yang terjadi ketika mikroorganisme patogen, seperti bakteri, tumbuh secara berlebih di dalam sistem saluran kemih manusia (Maulana & Karyus, 2025). Kondisi ini mencakup organ-organ saluran kemih seperti ginjal, ureter, kandung kemih, dan uretra, sehingga infeksi bisa terjadi di manapun pada sistem tersebut (Ramadhan *et al.*, 2023). Secara klinis, ISK tidak sekedar adanya bakteri dalam urine, melainkan diiringi oleh respons peradangan yang dapat menimbulkan gejala dan gangguan fungsi saluran kemih (Maulana & Karyus, 2025).

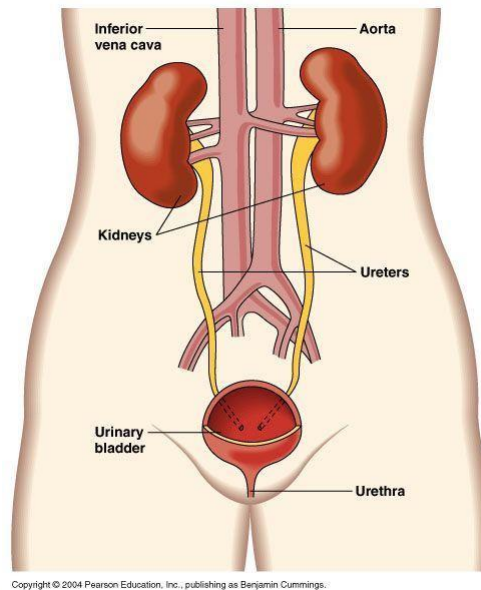
##### **2.1.2 Anatomi dan Fisiologi Saluran Kemih**

Sistem saluran kemih manusia terdiri atas organ-organ utama, yaitu ginjal, ureter, kandung kemih, dan uretra, yang bersama-sama berperan dalam pembentukan, transport, penyimpanan, dan pengeluaran urine dari tubuh (M. Rahayu et al., 2021). Ginjal berbentuk seperti kacang dan terletak di kedua sisi tulang pinggang, dengan bagian korteks di permukaan luar dan medula di bagian dalam, yang berfungsi sangat penting dalam menjaga keseimbangan cairan, elektrolit, serta asam basa tubuh melalui proses penyaringan darah (M. Rahayu et al., 2021). Dalam ginjal, darah disaring di glomerulus untuk membentuk filtrat awal, kemudian sebagian besar air dan zat terlarut direabsorpsi

kembali ke dalam pembuluh darah melalui sistem tubulus, sementara zat sisa diekskresikan sebagai urine. Urine dialirkan dari ginjal ke kandung kemih melalui dua ureter berbentuk saluran otot polos sepanjang 25-30 cm yang konstan mengalami kontraksi peristaltik untuk mendorong urine secara satu arah (M. Rahayu et al., 2021).

Kandung kemih berfungsi sebagai reservoir sementara yang mampu menampung urine sekitar 700-800 ml, dengan dinding yang tersusun dari otot detrusor polos yang dapat meregang untuk menyesuaikan volume urine dan kemudian berkontraksi saat waktu berkemih tiba. Pada saat kandung kemih terisi penuh, reseptor peregangan di dindingnya akan mengirim sinyal saraf ke sistem saraf pusat untuk memicu refleks miksi, dimana otot detrusor berkontraksi dan sfingter uretra eksternal (otot lurik yang mengelilingi uretra) relaksasi agar urine dapat dikeluarkan (M. Rahayu et al., 2021).

Uretra, sebagai saluran terakhir, berfungsi untuk mengalirkan urine keluar dari tubuh. Lapisan epitel dan otot di uretra membantu mengontrol pengeluaran urine, dengan sfingter uretra eksternal di bawah kontrol sadar yang memungkinkan seseorang menahan urine sampai waktu yang sesuai untuk berkemih (M. Rahayu et al., 2021).



**Gambar 2.1** Anatomi Saluran Kemih (LSM Spada Indonesia, 2019)

### 2.1.3 Klasifikasi ISK

Pedoman urologi EAU tahun 2025 menyampaikan bahwa klasifikasi ISK dengan istilah “*uncomplicated*” dan “*complicated*” telah diganti dengan dua kategori yang lebih sederhana namun klinis, yaitu ISK lokal dan ISK sistemik (Bonkat *et al.*, 2025).

#### 1) ISK Lokal (*Localized UTI*)

ISK lokal secara spesifik merujuk pada infeksi saluran kemih bagian bawah, didefinisikan sebagai kondisi sistitis (infeksi kandung kemih) yang muncul tanpa adanya tanda atau gejala infeksi sistemik. Pasien hanya menunjukkan gejala lokal seperti nyeri saat berkemih serta frekuensi berkemih tinggi, tanpa disertai demam, menggigil, atau penurunan tekanan darah (Bausch *et al.*, 2025).

## 2) ISK Sistemik (*Systemic UTI*)

ISK sistemik mencakup infeksi saluran kemih yang disertai gejala sistemik seperti demam, menggigil, mual, nyeri pinggang, dan tanda-tanda infeksi berat lain yang menandakan bahwa infeksi telah menyebar dari kandung kemih ke bagian saluran kemih atas atau bahkan menyebabkan komplikasi yang lebih berat (Bausch *et al.*, 2025).

### 2.1.4 Etiologi ISK

Etiologi ISK merujuk pada seluruh faktor penyebab yang memicu terjadinya ISK. Pada umumnya, penyebab utama ISK berasal dari bakteri uropatogenik, terutama bakteri *Eschericia coli* (*E. coli*) (Zhou, Zhou, et al., 2023). Bakteri uropatogenik merupakan bakteri yang memiliki kemampuan khusus untuk menimbulkan infeksi di saluran kemih, mulai dari menempel, menginvasi, bertahan hidup, hingga menyebabkan gejala (García-garcía *et al.*, 2025). *E. coli* sangat dominan dalam kasus ISK karena kemampuannya melekat kuat pada epitel uroepitel dan kemudian menginvasi sel untuk berkembang biak secara intraseluler (Zhou, Zhou, et al., 2023). Selain *E. coli*, bakteri gram negatif lain seperti *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, dan *Enterococcus faecalis* juga sering ditemukan sebagai penyebab ISK, meskipun prevalensinya lebih rendah dibanding *E. coli* (Zhou, Zhou, et al., 2023). Di samping bakteri gram negatif, juga terdapat keganasan dari mikroorganisme gram positif, seperti *Enterococcus spp.* dan

*Staphylococcus aureus* pada pasien dengan kondisi infeksi berulang (Widiyastuti *et al.*, 2023).

Selain infeksi bakteri, agen nonbakteri dapat menjadi penyebab ISK dalam kondisi tertentu, misalnya jamur dari genus *Candida* dapat menyebabkan infeksi invasif saluran kemih pada pasien dengan diabetes serta pasien dengan penggunaan kateter jangka panjang (Biondo, 2023). Virus tertentu juga dapat menjadi penyebab ISK pada keadaan sepsifik, misal pada pasien dengan sistem imun yang lemah, dan jarang menjadi penyebab utama ISK pada orang sehat (Biondo, 2023).

#### 2.1.5 Patogenesis ISK

Pada awal terjadinya ISK, bakteri uropatogenik seperti *E. coli* masuk melalui uretra dan menempel pada dinding saluran kemih dengan menggunakan struktur kecil seperti “pili” atau *fimbriae* yang berfungsi seperti kait. *Fimbriae* ini membuat bakteri mampu bertahan meski terkena aliran urine dan membantu mereka menempel kuat pada sel-sel uroepitel (García-garcía *et al.*, 2025). Setelah menempel, bakteri dapat masuk ke dalam sel dan membentuk kelompok kecil yang disebut *Intracellular Bacterial Communities* (IBC), tempat mereka berkembang biak dan bersembunyi dari sistem kekebalan tubuh. Bakteri yang sudah berkembang dalam IBC kemudian dapat keluar kembali untuk menginfeksi sel lain, sehingga infeksi makin meluas dan sulit dihilangkan hanya dengan mekanisme pertahanan tubuh (Zhou, Zhou, *et al.*, 2023).

Pada tahap berikutnya, bakteri penyebab ISK menggunakan berbagai cara untuk menghindari serangan sistem imun. Sebagai contoh, *E. coli* akan menghasilkan toksin seperti hemolisin yang dapat merusak sel-sel epitel, sehingga lapisan pelindung saluran kemih menjadi lebih lemah (García-garcía *et al.*, 2025). Selain itu, bakteri ini dapat membentuk *Quiscent Intracellular Reservoirs* (QIRs), yaitu bentuk “tidur” di dalam sel yang membuatnya tidak mudah terdeteksi dan dapat memicu infeksi berulang di kemudian hari (Zhou, Zhou, et al., 2023).

#### 2.1.6 Faktor Risiko ISK

Faktor risiko ISK sangat beragam dan berakar pada kondisi medis, perilaku, dan faktor anatomis. Salah satu faktor utama adalah penggunaan kateter urine jangka lama, karena kateter dapat menjadi pintu masuk bakteri dan menjadi tempat pembentukan biofilm yang memudahkan kolonisasi bakteri penyebab ISK (Syahmardan *et al.*, 2024). Selain itu, batu saluran kemih (*kidney stones*) juga meningkatkan risiko ISK karena batu bisa menyebabkan obstruksi aliran urine yang memudahkan bakteri menetap (Annisah *et al.*, 2024).

Faktor lain yang tak kalah penting adalah usia, lansia lebih rentan terkena ISK karena penurunan fungsi fisik dan sistem imun yang melemah (Sistyani *et al.*, 2025). Kemudian, kebersihan alat kelamin yang buruk juga menjadi pintu masuk bakteri ke uretra, terutama pada wanita yang memiliki uretra lebih pendek (Annisah *et al.*, 2024). Selain itu, kondisi medis seperti gangguan saraf kandung kemih (*neurogenik*) juga meningkatkan risiko ISK (Ramadhan *et al.*, 2023).

### 2.1.7 Diagnosis ISK

Ada beberapa metode yang bisa digunakan untuk mendiagnosis ISK, tergantung pada kondisi pasien dan sumber infeksi:

- 1) Pemeriksaan urinalisis (*dipstick*), untuk mendeteksi leukosit dan nitrit sebagai indikator peradangan akibat infeksi (Sabriani *et al.*, 2021).
- 2) Perhitungan sel leukosit dalam sedimen urine secara mikroskopik (Sabriani *et al.*, 2021).
- 3) *Flow cytometry* sebagai alternatif pemeriksaan awal (Sabriani *et al.*, 2021).
- 4) Kultur urine sebagai metode tradisional untuk mengisolasi bakteri penyebab ISK dan menguji kerentanan antibiotik.
- 5) Pemeriksaan molekuler menggunakan PCR agar bisa mendeteksi DNA bakteri penyebab ISK, bahkan pada infeksi campuran dan bakteri yang sulit tumbuh di kultur (Leech *et al.*, 2025).
- 6) Tes pencitraan (misalnya USG saluran kemih), dilakukan apabila dicurigai ada komplikasi seperti obstruksi, batu, atau kelainan anatomi pada saluran kemih (Szlachta-mcginn *et al.*, 2022).

## 2.2 Bakteremia

### 2.2.1 Definisi Bakteremia

Bakteremia adalah suatu kondisi medis di mana bakteri yang masih hidup berada di dalam aliran darah. Dalam banyak kasus, bakteremia bersifat sementara dan tidak menimbulkan gejala, terutama jika sistem imun bekerja dengan baik dan mampu membersihkannya

sebelum menimbulkan masalah serius (Smith & Nehring, 2025). Namun, jika mekanisme pertahanan tubuh gagal, misalnya akibat infeksi yang berat, luka, atau penggunaan alat medis, bakteri ini bisa berkembang menjadi infeksi aliran darah yang lebih serius dan memicu respons peradangan hebat seperti sepsis (Lin, 2023).

### 2.2.2 Patogenesis Bakteremia

Patogenesis bakteremia diawali ketika bakteri pemicunya yang berasal dari lokasi infeksi primer, misalnya pada saluran kemih atau luka bedah, berhasil menembus pertahanan lokal inang. Bakteri tersebut melakukan invasi dengan memanfaatkan adhesin atau molekul perekat lain untuk menempel ke sel-sel inang, lalu menghindari fagositosis melalui produksi kapsul atau *eksotoksin* (Holmes *et al.*, 2025).

Bakteri melewati penghalang epitel dan masuk ke dalam aliran darah serta mulai menyebar ke seluruh tubuh (Holmes *et al.*, 2021). Saat berada dalam aliran darah, bakteri menghadapi pertahanan imun seperti peptida antimikroba, fagositosis, dan pembentukan sistem komplemen, namun, beberapa bakteri mampu menghindari respon ini melalui berbagai strategi, contohnya dengan produksi molekul inhibitor sistem komplemen, mengubah metabolisme agar mampu hidup dengan sumber nutrisi terbatas, dan menghambat protein pertahanan inang melalui faktor virulensi (Lê-Bury *et al.*, 2024).

### 2.2.3 Faktor Risiko Bakteremia

Beberapa kondisi kesehatan membuat seseorang lebih mudah mengalami bakteremia, salah satu faktor penting adalah usia lanjut, karena penuaan menurunkan ketahanan tubuh dan mengubah respons imun sehingga infeksi lebih mudah menyebar ke aliran darah (Ding *et al.*, 2025). Pasien yang mendapat kemoterapi, obat imunosupresan, atau memiliki penyakit yang melemahkan sistem imun, juga berisiko lebih tinggi karena tubuh mereka kesulitan membersihkan bakteri (Lin, 2023). Penyakit kronis seperti diabetes dan penyakit ginjal kronik (CKD) turut memperbesar risiko ini, karena kondisi-kondisi tersebut mengganggu kemampuan tubuh melawan infeksi dan sering kali menimbulkan komplikasi yang memudahkan bakteri bertahan (Kwon *et al.*, 2024).

Kateter intravena dan kateter urine juga membuka jalur langsung bagi kuman untuk masuk dan membentuk biofilm yang sulit dibersihkan, sehingga keduanya menjadi sumber umum infeksi aliran darah. Infeksi primer di satu lokasi tubuh, misalnya ISK dapat berperan sebagai sumber bakteremia bila bakteri menembus lapisan epitel atau naik melalui saluran yang terpasang (seperti kateter) lalu masuk ke sirkulasi darah (Papanikolopoulou *et al.*, 2022).

### 2.2.4 Diagnosis Bakteremia

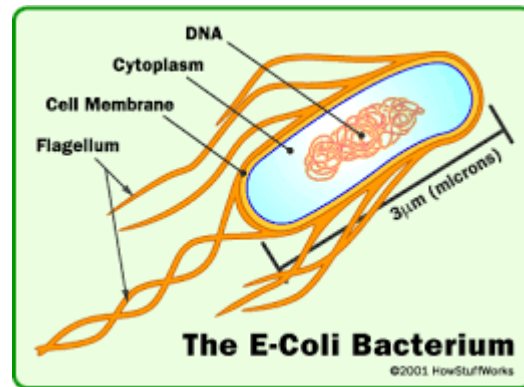
Untuk memastikan apakah seseorang mengalami bakteremia, ada beberapa metode yang bisa digunakan, yaitu:

- 1) Kultur darah, pemeriksaan ini menjadi metode standar untuk menegakkan bakteremia dengan mengambil sampel darah dan menumbuhkan bakteri di media kultur (Harindana *et al.*, 2021).
- 2) Pewarnaan gram, setelah kultur menunjukkan pertumbuhan bakteri, pewarnaan gram dilakukan untuk melihat apakah bakteri termasuk gram positif atau gram negatif (Harindana *et al.*, 2021).
- 3) Pemeriksaan molekuler berbasis PCR, metode ini mampu mendeteksi materi genetik bakteri langsung dari darah, termasuk pada kondisi di mana kultur darah tidak menunjukkan pertumbuhan karena jumlah bakteri sangat sedikit atau pasien sudah mendapat antibiotik (Decuypere *et al.*, 2016).

## **2.3 *Eschericia coli (E. coli)***

### **2.3.1 Morfologi *E. coli***

*E. coli* adalah bakteri berbentuk batang pendek (kokobasil), tidak membentuk spora, dan bersifat fakultatif anaerob. Secara mikroskopis sel-selnya biasanya berukuran sekitar  $1,0-0,5 \mu\text{m} \times 2,0-6,0 \mu\text{m}$  dan memiliki banyak flagela yang terdistribusai di seluruh permukaan sehingga mampu bergerak aktif dalam medium cair (W. Rahayu *et al.*, 2018). *E. coli* merupakan bakteri gram negatif, sehingga pada pewarnaan gram bakteri *E. coli* berwarna merah karena kemampuannya dalam menyerap pewarna safranin (Afifa Kantamaryana *et al.*, 2024).



**Gambar 2.2** Morfologi *E. coli* (Pemerintah Kota Surabaya & Dinas Lingkungan Hidup, 2018)

Secara ekologis, mayoritas strain *E. coli* hidup sebagai flora normal usus pada manusia dan hewan berdarah panas, berperan membantu pencernaan, dan menghambat kolonisasi patogen lain. Karena materi genetiknya sangat mudah berubah, membuat *E. coli* bisa mendapatkan gen atau plasmid tertentu yang membuatnya berubah dari bakteri normal menjadi penyebab penyakit, seperti diare, ISK, atau infeksi sistemik (W. Rahayu *et al.*, 2018).

### 2.3.2 Klasifikasi dan Toksodinamika *E. coli*

- |             |   |                            |
|-------------|---|----------------------------|
| 1. Domain   | : | <i>Bacteria</i>            |
| 2. Filum    | : | <i>Proteobacteria</i>      |
| 3. Kelas    | : | <i>Gammaproteobacteria</i> |
| 4. Ordo     | : | <i>Enterobacterales</i>    |
| 5. Famili   | : | <i>Enterobacteriaceae</i>  |
| 6. Genus    | : | <i>Eschericia</i>          |
| 7. Spesies: | : | <i>Eschericia coli</i>     |

*E. coli* memiliki keragaman genetik yang cukup luas, sehingga para ahli membaginya ke dalam sejumlah kelompok filogenetik atau *phylogroups*, seperti A, B1, B2, E, dan beberapa kelompok lain yang berfungsi untuk menggambarkan perbedaan sifat biologis dan

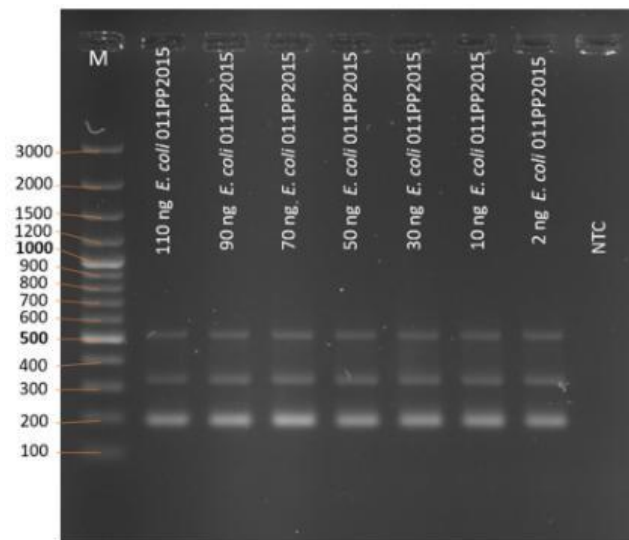
kemampuan adaptasinya di lingkungan maupun dalam tubuh manusia (Cobo-simón *et al.*, 2022).

*E. coli* kemudian di kelompokkan lagi berdasarkan kemampuannya dalam menyebabkan penyakit. Pertama, ada strain non-patogen, yaitu jenis *E. coli* yang menjadi bagian dari flora usus sehat dan membantu pencernaan. Kedua, yaitu strain patogen, yaitu jenis *E. coli* yang membawa gen berbahaya dan dapat menimbulkan berbagai infeksi (W. Rahayu *et al.*, 2018).

### 2.3.3 Metode Deteksi dan Identifikasi *E. coli*

*E. coli* dapat diidentifikasi melalui beberapa metode, yaitu:

1. Teknik kultur, dilakukan dengan menanam sampel pada media selektif seperti *MacConkey agar* atau EMB (*Eosin Methylene Blue*).
2. Pewarnan gram, koloni yang tumbuh di media kultur kemudian dilakukan pewarnaan gram untuk memastikan bahwa *E. coli* adalah bakteri gram negatif berbentuk batang.
3. Uji biokimia dasar, dilakukan untuk memastikan karakteristik metabolisme *E. coli* pada isolat kultur, ujinya yaitu seperti fermentasi laktosa, reaksi indol, uji *methyl red*, uji *voges proskauer*, dan kemampuan menggunakan sitrat.
4. Identifikasi molekuler dengan teknik PCR, menargetkan gen spesifik *E. coli* seperti *fimH* (berhubungan dengan fimbria),  $\beta$ -D-*glucuronidase* (*uidA*), atau fragmen 16S rRNA untuk mendeteksi adanya bakteri ini dengan tepat.



**Gambar 2.3** Identifikasi *E. coli* dengan teknik PCR (Zimoń et al., 2024)

## 2.4 Sampel Darah

### 2.4.1 Definisi dan Komponen Darah

Darah adalah cairan vital yang berfungsi sebagai sistem pengangkutan dan pertahana dalam tubuh. Melalui aliran darahm tubuh bisa mendistribusikan oksigen, nutrisi, hormon, dan zat penting lainnya ke seluruh sel, sekaligus membawa limbah metabolik menuju organ pembuangan seperti ginjal dan hati. Selain itu, darah juga berperan dalam menjaga keseimbangan suhu dan pH tubuh, serta membantu merespons infeksi dengan menyalurkan sel imun ke lokasi yang diserang (Sa'adah, 2018).

Komponen darah terbagi menjadi empat bagian utama, yaitu:

- 1) Plasma, merupakan bagian cair darah yang paling banyak, sekitar 55% dari volume darah, yang sebagian besar terdiri dari air, tetapi juga mengandung protein, gula, hormon, ion, dan faktor pembekuan.

- 2) Sel darah merah (*eritrosit*), membawa oksigen ke seluruh tubuh berkat kandungan hemoglobin di dalamnya.
- 3) Sel darah putih (*leukosit*), merupakan garis besar pertahanan tubuh terhadap infeksi bakteri, virus, dan sel asing lainnya.
- 4) Trombosit (*platelet*), membantu pembekuan darah saat terjadi luka (Sa'adah, 2018).

#### 2.4.2 Peran Darah sebagai Media Deteksi Infeksi

Darah menjadi media utama untuk mendeteksi infeksi sistemik karena darah mengalir ke seluruh tubuh. Ketika bakteri berhasil menembus pertahanan lokal, misal dari saluran kemih dan masuk ke sirkulasi, bakteri tersebut akan tersebar melalui darah, sehingga sampel darah memberi gambaran langsung tentang adanya infeksi yang bersifat sistemik (Dunbar *et al.*, 2022). Dengan persiapan sampel yang baik dan metode molekuler modern, darah menjadi alat diagnostik yang cepat dan representatif untuk mendeteksi infeksi sistemik (Tjandra *et al.*, 2022). Pada pemeriksaan molekuler, waktu dan suhu penyimpanan perlu diperhatikan untuk menjaga stabilitas asam nukleat. Sebelum dilakukan ekstraksi DNA, sampel darah utuh (*wholeblood*) dapat disimpan pada suhu ruang selama maksimal 24 jam atau pada suhu 2 – 8°C selama maksimal 72 jam tanpa menyebabkan penurunan kualitas DNA yang bermakna (Anvari *et al.*, 2020).

## 2.5 Deoxyribonucleic Acid (DNA)

### 2.5.1 Pengertian dan Struktur DNA

DNA adalah molekul yang menyimpan semua petunjuk genetik suatu makhluk, inti dari warisan biologis yang mengatur perkembangan, fungsi, dan reproduksi sel (Ghannam *et al.*, 2025). Secara kimia, DNA tersusun dari rangkaian nukleotida, setiap nukleotida mempunyai gula deoksiribosa, gugus fosfat, dan salah satu dari empat basa nitrogen (Adenin (A), Timin (T), Guanin (G), dan Sitosin (C)) yang hanya bisa berpasangan dengan basa tertentu secara tetap, yaitu A dengan T serta G dengan C, mereka membentuk untai panjang yang menyimpan informasi urutan genetik (Ghannam *et al.*, 2025).

Bentuk paling umum yang dikenali adalah heliks ganda, yaitu dua untai paralel yang saling berpasangan melalui ikatan hidrogen antar basa, sementara tulang punggung gula-fosfat berada di luar heliks (Ghannam *et al.*, 2025). Pada bakteri, DNA biasanya hadir sebagai kromosom sirkular dan unsur tambahan seperti plasmid, yaitu elemen kecil dan sirkular yang membawa gen tambahan misal gen resistensi yang menjadikan DNA mikroba berbeda secara morfologi dan fungsi dari DNA eukariotik (Harju & Broedersz, 2025).

### 2.5.2 Fungsi DNA dan Karakteristik DNA Bakteri

DNA punya peran inti sebagai penyimpan informasi genetik dalam sel bakteri, urutan basa (ATGC) pada DNA menyandi gen yang mengatur bagaimana sel tumbuh, memproduksi protein, dan melakukan replikasi. Struktur DNA diatur sedemikian rupa agar bisa membuka

(*unwinding*) ketika akan ditranskripsi menjadi RNA atau digandakan saat pembelahan sel. Selain itu, pada bakteri, DNA mengalami *supercoiling*, yaitu pemelintiran tambahan, yang penting untuk menekan tekanan mekanis dan memastikan kromosom *compact* di dalam nukleoid agar tetap fungsional (Junier *et al.*, 2023).

Karakteristik DNA bakteri sangat khas, kromosom bakteri umumnya berbentuk sirkular dan superkoiled, berbeda dengan banyak eukariota yang punya DNA linear (Junier *et al.*, 2023). Selain kromosom utama, bakteri juga sering membawa plasmid, yaitu molekul DNA ekstra kromosom yang bisa bereplikasi secara mandiri dan membawa gen tambahan seperti resistensi antibiotik atau faktor virulensi (Zou *et al.*, 2022). Karena plasmid bersifat fleksibel dan mudah berpindah antar bakteri sehingga DNA bakteri sangat mudah beradaptasi dengan lingkungan baru (Domingues *et al.*, 2025).

### 2.5.3 DNA sebagai Target Deteksi Molekuler

DNA memiliki urutan nukleotida (ATGC) spesifik untuk tiap spesies yang memungkinkan penentuan identitas mikroba secara pasti melalui primer atau probe yang dirancang khusus (Liu *et al.*, 2023). Teknik amplifikasi seperti PCR atau digital PCR menggandakan fragmen DNA target sehingga dalam jumlah sedikit pun dapat diukur dan dikonfirmasi, sehingga deteksi menjadi sangat sensitif (Zhao *et al.*, 2025).

DNA membawa informasi genetik lengkap, sehingga analisisnya tidak hanya memastikan ada tidaknya mikroba, tetapi juga bisa mengungkapkan fitur penting seperti gen resistensi atau varian spesifik strain yang relevan untuk penanganan klinis (Alsharksi *et al.*, 2024). Penggunaan DNA sebagai target diagnostik menunjukkan kemajuan dalam metode ekstraksi, amplifikasi, dan interpretasi data sehingga pemeriksaan berbasis DNA menjadi alat penting dalam diagnosis infeksi sistemik (Samples *et al.*, 2024).

## 2.6 *Polymerase Chain Reactin (PCR)*

### 2.6.1 Prinsip Dasar PCR

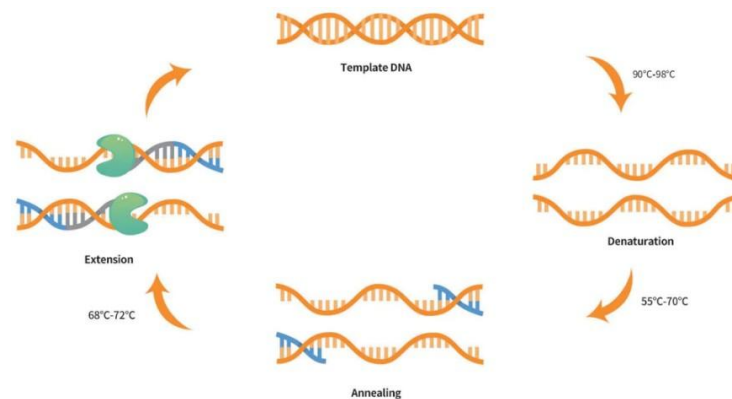
PCR adalah teknik laboratorium yang digunakan untuk memperbanyak potongan DNA tertentu melalui rangkaian pemanasan dan pendinginan yang berulang, sehingga jumlah DNA target meningkat secara drastis dan mudah dianalisis (Widodo, 2025). Selain mendeteksi DNA, teknik ini juga dapat digunakan untuk mengenali RNA melalui metode *Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR), yaitu PCR yang diawali dengan mengubah RNA menjadi *complementary DNA* (cDNA) menggunakan *enzyme reverse transcriptase* (Widodo, 2025). Kemampuan mendeteksi DNA dan RNA membuat PCR menjadi metode yang sangat fleksibel dan sensitif dalam pemeriksaan molekuler, termasuk dalam identifikasi patogen penyebab infeksi.

### 2.6.2 Komponen Utama dalam Reaksi PCR

Penelitian yang dilakukan oleh Widodo (2025), menjelaskan bahwa komponen PCR ada beberapa bagian, yaitu:

- 1) *DNA Template*, merupakan materi genetik yang hendak diperbanyak, bisa berupa DNA genom, plasmid, atau cDNA.
- 2) *Primer Forward* dan *Reverse*, merupakan fragmen oligonukleotida pendek yang menentukan lokasi awal dan akhir amplifikasi dengan menempel pada urutan target.
- 3) *Deoxynucleotide Triphosphates* (dNTP), empat bahan dasar penyusun DNA baru, yaitu *Deoxyadenosine Triphosphate* (dATP), *Deoxythymidine Triphosphate* (dTTP), *Deoxyguanosine Triphosphate* (dGTP), dan *Deoxycytidine Triphosphate* (dCTP).
- 4) *DNA Polimerase (Taq Polymerase)*, enzim yang menyambungkan dNTP menjadi rantai DNA baru dan tahan terhadap suhu tinggi saat proses denaturasi.
- 5) *Buffer Reaksi*, merupakan larutan penyangga yang menjaga pH dan lingkungan ion agar enzim bekerja optimal selama PCR.
- 6) *Ion Magnesium ( $Mg^{2+}$ )*, merupakan kofaktor penting yang membantu polimerase menempelkan dNTP dan memastikan proses amplifikasi berjalan efisien.

### 2.6.3 Tahapan Reaksi PCR



**Gambar 2.4** Tahapan Reaksi PCR (YEASEN, 2025)

Reaksi PCR terdiri dari siklus termal yang diulang berulang kali, dan setiap siklus memiliki tiga tahap utama, yaitu:

1) *Denaturasi*

Sampel DNA dipanaskan sekitar 94-96 °C untuk memisahkan kedua untai DNA menjadi untai tunggal sehingga primer dan enzim bisa mengaksesnya (Widodo, 2025).

2) *Annealing*

Suhu diturunkan ke kisaran 50-65 °C agar primer bisa menempel pada bagian target DNA yang komplementer (Widodo, 2025).

3) *Extension*

Pada tahap ini suhu dinaikkan ke sekitar 72 °C, suhu ideal bagi enzim polimerase untuk menambahkan nukleotida dNTP ke ujung primer dan mensintesis untai DNA baru (Widodo, 2025).

Ketiga siklus tersebut diulang puluhan kali hingga 25-40 siklus agar fragmen target DNA bisa dimultiplikasi secara cepat. Di

akhir siklus, umumnya dilakukan satu tahap ekstensi akhir (*final extension*) untuk memastikan semua untai DNA yang baru terbentuk lengkap, sebelum reaksi didinginkan untuk menghentikan proses (Widodo, 2025).

