

## ABSTRAK

### OPTIMASI AMPLIFIKASI BAGIAN GEN *gyrA* DENGAN METODE PCR PADA ISOLAT *Salmonella typhi* DARI RUMAH SAKIT IMMANUEL BANDUNG

Daniel Chandra, 2007 Pembimbing I : Ernawati Arifin Giri Rachman, Ph.D  
Pembimbing II : Johan Lucianus, dr., M.Si

*Salmonella typhi*, bakteri penyebab demam tifoid, sekarang ini telah dapat diobati dengan berbagai antibiotik-antibiotik, salah satunya adalah *floroquinolone*. Akan tetapi, karena penggunaan antibiotik tersebut yang terus menerus dan tidak sesuai dengan aturan maka timbul strain-strain yang resisten terhadap antibiotik ini. Resistensi *Salmonella typhi* terhadap antibiotik ini terjadi karena adanya mutasi-mutasi pada DNA *Salmonella typhi* yaitu DNA topoisomerase. Mutasi yang terjadi pada DNA topoisomerase terjadi pada DNA topoisomerase II dan DNA topoisomerase IV. DNA topoisomerase II (disebut juga dengan DNA *gyrase*) terdiri dari 2 macam protein (*gyrA* dan *gyrB*). Dari penelitian sebelumnya diketahui bahwa mutasi pada gen *gyrA* bisa *single mutation* ataupun *double mutation*, yaitu pada posisi kodon 83 atau posisi kodon 87. Strain-strain ini mungkin saja dapat ditemukan di Indonesia. Tujuan utama dari penelitian ini adalah untuk mencari kondisi PCR yang optimal untuk mengamplifikasi gen *gyrA* dengan menggunakan primer *gyrA-FWD* dan *gyrA-REV* agar dapat diketahui pada posisi mana mutasi terjadi, sehingga dapat digunakan untuk penelitian yang lebih lanjut. Sampel DNA yang digunakan adalah DNA hasil isolasi kromosom dengan konsentrasi primer masing-masing 0.6mM. PCR dilakukan dalam 30 siklus, dengan denaturasi 94<sup>0</sup>C selama 60 detik, annealing 40<sup>0</sup>C selama 60 detik, dan elongasi 72<sup>0</sup>C selama 60 detik. Analisis dengan elektroforesis gel agarosa 1% menunjukkan adanya pita antara 600 sampai 700 kb.

Kata Kunci : *Salmonella typhi*, gen *gyrA*, PCR

## **ABSTRACT**

### **OPTIMIZATION OF PART *gyrA* GENE AMPLIFICATION OF *Salmonella typhi* FROM IMMANUEL HOSPITAL BANDUNG BY PCR METHOD**

Daniel Chandra, 2007

First Tutor : Ernawati Arifin Giri Rachman, Ph.D.

Second tutor : Johan Lucianus, dr., M.Si

*Salmonella typhi* is an etiologic agent of typhoid fever. This disease now can be cured by antibiotics, one of them is fluoroquinolone. However, because of the use of these antibiotics are not follow by the rules, now there are strain of *Salmonella typhi* which is resistance to these antibiotics. *Salmonella typhi* resistancy to antibiotics is possible because there are mutations in *Salmonella typhi* DNA, which is DNA topoisomerase. Mutation in DNA topoisomerase occur in DNA topoisomerase II and DNA topoisomerase IV. DNA topoisomerase II ( a.k.a DNA gyrase ) divided in two protein (*gyrA* and *gyrB*). From the previous study, mutation in *gyA* gene can be single mutation or double mutation. This mutation occur in codon 83 and or codon 87. These strains maybe can be found in Indonesian. The main objective from this study is to find an optimal PCR condition for amplification *gyA* gene with *gyrA*-FWD primer and *gyrA*-REV primer so we can tell in which position the mutation occur, and can be use d for further study. DNA sample that used in this study are collected from extracted chromosom DNA, DNA amplification is extracted DNA with concentration is 0.5 $\mu$ L of each of the primer. PCR was performed for 30 cycles, denaturation for 60 second at 940C, annealing for 60 second at 400C, and elongation for 60 second at 720C. Analysis with 1% electrophoresis gel agarose showed at 600 to 700 bp fragment.

Keywords : *Salmonella typhi*, *gyrA* gene, PCR





# DAFTAR ISI

Halaman

|  |      |
|--|------|
| <b>LEMBAR PERSETUJUAN</b> .....        | ii   |
| <b>SURAT PERNYATAAN</b> .....          | iii  |
| <b>ABSTRAK</b> .....                   | iv   |
| <b>ABSTRACT</b> .....                  | v    |
| <b>PRAKATA</b> .....                   | vi   |
| <b>DAFTAR ISI</b> .....                | viii |
| <b>DAFTAR GAMBAR</b> .....             | x    |
| <b>DAFTAR TABEL</b> .....              | xi   |
| <br>                                   |      |
| <b>BAB I. PENDAHULUAN</b>              |      |
| 1.1 Latar Belakang .....               | 1    |
| 1.2 Identifikasi Masalah .....         | 3    |
| 1.3 Maksud dan Tujuan .....            | 3    |
| 1.4 Manfaat Penelitian .....           | 3    |
| 1.5 Metode Penelitian .....            | 3    |
| 1.6 Waktu dan Lokasi Penelitian .....  | 4    |
| <br>                                   |      |
| <b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>         |      |
| 2.1. Salmonella typhi                  |      |
| 2.1.1 Sejarah .....                    | 5    |
| 2.1.2 Epidemiologi .....               | 5    |
| 2.1.3 Gejala Klinik .....              | 7    |
| 2.1.4 Karakteristik Mikrobiologi ..... | 7    |
| 2.1.5 Faktor Virulensi .....           | 8    |
| 2.1.6 Patogenesis .....                | 9    |
| 2.1.7 Pengobatan dan Pencegahan .....  | 10   |
| 2.1.8 Resistensi Antibiotik .....      | 11   |
| 2.1.9 DNA Topoisomerase .....          | 12   |
| 2.1.9.1 DNA Gyrase .....               | 13   |
| 2.2 Polymerase Chain Reaction .....    | 17   |
| 2.3 Elektroforesis .....               | 20   |
| <br>                                   |      |
| <b>BAB III ALAT, BAHAN DAN METODE</b>  |      |
| 3.1 Subjek Penelitian .....            | 23   |
| 3.2 Metode Penelitian .....            | 23   |
| 3.3 Alat dan Bahan .....               | 23   |
| 3.4 Cara Kerja .....                   | 24   |

|  |    |
|--|----|
| <b>BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN</b>                        |    |
| 4.1 Penanaman sampel pada Medium SS .....                            | 26 |
| 4.2 Pembuatan templat DNA .....                                      | 27 |
| 4.3 PCR menggunakan primer Ca8 dan Ca9 .....                         | 27 |
| 4.4 PCR menggunakan primer <i>gyrA-FWD</i> dan <i>gyrA-REV</i> ..... | 29 |
| <b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN</b>                                    |    |
| 5.1 Kesimpulan .....   | 33 |
| 5.2 Saran .....  | 34 |
| <b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....  | 35 |
| <b>RIWAYAT HIDUP</b> .....   | 37 |

# DAFTAR GAMBAR

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

|   |    |
|---|----|
| 2.1 Salmonella typhi .....                    | 5  |
| 2.2 Penyebaran Salmonella typhi di dunia..... | 6  |
| 2.3 Patogenesis Salmonella typhi .....        | 10 |
| 2.4 DNA Topoisomerase .....                   | 12 |
| 2.5 Proses PCR.....                           | 19 |
| 2.6 Elektroforesis .....                      | 21 |

## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

|   |    |
|---|----|
| 4.1 Salmonella typhi (ST01) pada medium SS .....  | 26 |
| 4.2 Salmonella typhi (ST03) pada medium SS.....   | 27 |
| 4.3 Salmonella typhi (ST22) pada medium SS.....   | 27 |
| 4.4 Hasil PCR menggunakan primer Ca8 dan Ca9.....   | 28 |
| 4.5 Hasil PCR (Mg <sup>2+</sup> : 1.5mM dan 2mM) dengan menggunakan<br>primer gyrA-FWD dan gyrA-REV ..... | 30 |
| 4.6 Hasil PCR (Mg <sup>2+</sup> : 1.5mM) dengan menggunakan<br>primer gyrA-FWD dan gyrA-REV .....         | 31 |

## DAFTAR TABEL

### BAB II TINJAUAN PUSTAKA

|   |    |
|---|----|
| 2.1 Point of Mutation dari<br>gen gyrA di berbagai negara ..... | 16 |
|---|----|