

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan pada sampel swab luka diabetes mellitus yang berasal dari Rumat Spesialis Luka Diabetes yang berada di Dharmahusada dan Sawahan Surabaya. Sampel tersebut dilakukan kultur jamur untuk skrinning jamur *Candida sp* yang kemudian dilakukan uji secara biologi molekuler yaitu *Real Time Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) untuk mendeteksi ada atau tidak nya jamur *Candida albicans* pada sampel yang telah diskriming. Proses penentuan adanya jamur *Candida albicans* pada swab luka diabetes mellitus dapat dimulai dengan ekstraksi DNA jamur *Candida sp*, kuantifikasi DNA, optimasi, dan amplifikasi DNA menggunakan RT-PCR dan mengamati hasil yang berupa nilai Ct pada monitor yang terhubung dengan RT-PCR.

Hasil akhir kultur yang berada pada gambar 5.1 menunjukkan presentase sampel yang positif jamur *Candida sp* sebesar 16% dan sebanyak 84% lainnya dinyatakan negatif jamur *Candida sp* hal ini dapat dikarenakan dalam pengambilan sampel luka tersebut telah terpantau dengan baik oleh tenaga kesehatan dimana pada tempat spesialis luka diabetes mellitus telah mendapatkan penanganan atau perawatan oleh tenaga kesehatan berupa antibiotik yang diberikan didalam lukanya untuk mencegah infeksi lebih lanjut. Sedangkan, pada hasil akhir deteksi jamur *Candida albicans* menggunakan RT-PCR dengan teknik biologi molekuler yang telah ditunjukkan pada gambar 5.2 bahwa presentase jumlah sampel yang terdeteksi adanya jamur *Candida albicans* sebesar 25%. Dari hasil presentase sebesar 25% dari 100% yang dimana hanya ada 1 sampel yang terdeteksi *Candida albicans* dan 3 sampel

yang lainnya dinyatakan N/A atau tidak terdeteksi. Hasil akhirnya berupa nilai Ct (*Cycle Treshold*) yang dapat dilihat dari jumlah siklus yang dibutuhkan sampai sinyal fluoresens pada alat uji melewati *threshold* (nilai ambang). Dari 4 sampel swab luka diabetes mellitus tersebut terdapat 1 sampel yang positif jamur *Candida albicans* terdapat nilai Ct sebesar 1.19 yang menandakan bahwa adanya jamur *Candida albicans* pada sampel swab luka diabetes mellitus. Hal ini dapat terjadi disebabkan oleh 2 kemungkinan yang meliputi terdapat mutasi atau perubahan urutan basa pada wilayah ITS-2 atau isolat jamur tersebut merupakan jamur *Candida* sp selain jamur *Candida albicans*.

Wilayah ITS (*Internal Transcribed Spacer*) DNA ribosomal (rDNA) dapat digunakan dalam mendeteksi jamur *Candida albicans*. Sekuens DNA pada wilayah ITS rDNA berevolusi lebih cepat dibandingkan wilayah gen lainnya sehingga akan bervariasi pada setiap spesies (White et al., 1990). Wilayah ITS biasanya mengalami perubahan atau mutasi sehingga dapat berbeda atau bervariasi di antara spesies (Mulyatni et al., 2011). Wilayah ITS-2 mempunyai kelebihan dibandingkan dengan wilayah molekuler target lain, diantaranya yaitu memiliki tingkat sensitivitas tinggi karena mempunyai sekitar 100 ulangan dalam genom. Wilayah ITS-2 juga memiliki laju evolusi yang tinggi dan terdapat pada semua gen rDNA jamur *Candida albicans* (Jorgensen et al., 1987).

Diantara sekuens pilihan target, DNA ribosom nuklear (rDNA) telah menjadi paling umum yang digunakan dan ITS (*Internal Transcribed Spacer*) kedua atau ITS-2 dari rDNA telah terbukti menyediakan penanda genetik spesifik spesies yang andal untuk patogen jamur. Wilayah pengkode rDNA yang menggapit wilayah ITS-2 dapat

secara efektif mengamplifikasi rDNA dari semua spesies *Candida*. Kemudian, ampikon yang mengandung sekuens spesifik spesies dari wilayah ITS-2 dapat dibedakan satu sama lain dengan polimorfisme panjang fragmen restriksi dengan menggunakan pewarna SYBR Green di akhir dari siklus terakhir *Real-Time* PCR untuk diferensiasi spesies (Zhang et al., 2016).

Pada penelitian sebelumnya telah menggunakan *Second Internal Transcribed Spacer* (ITS-2) dengan *Real-Time* PCR (RT-PCR) untuk deteksi *Candida albicans* pada darah manusia dan hasil penelitian menunjukkan bahwa ITS-2 pada RT-PCR memiliki potensi besar sebagai referensi molekuler untuk pengembangan tes yang akan diterapkan dalam praktik klinis (Busser et al., 2020). Penggunaan teknologi molekuler seperti RT-PCR juga digunakan dalam penelitian (Zhang et al., 2016) mengenai deteksi set primer PCR spesifik spesies *Candida* seperti *C.albicans*, *C.glabrata*, *C.tropicalis*, *C.dublinsiensis* secara medis dan menunjukkan hasil bahwa ITS-2 RT-PCR dapat digunakan untuk deteksi dan diferensiasi spesies *Candida*.

Deteksi jamur *Candida albicans* yang diterapkan dalam kurva standar dari fragmen kloning wilayah ITS-2 ini dapat digunakan sebagai referensi dalam pengujian menggunakan RT-PCR di masa mendatang untuk deteksi dan kuantifikasi jamur *Candida albicans* (Busser et al., 2020). Oleh karena itu diharapkan ada pengkajian lebih lanjut terhadap analisis sekuensing pada mutasi yang terjadi pada wilayah ITS-2 sehingga wilayah ITS-2 ini dapat digunakan untuk menentukan ada tidaknya infeksi jamur *Candida albicans*.