

## Deteksi Jamur *Candida albicans* Pada Urine Penderita Infeksi Saluran Kemih Menggunakan Metode RT-PCR

Retno Sasongkowi<sup>1</sup>, Anita Dwi Anggraini<sup>1</sup>, Dellanis Arina Putri<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>) Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kemenkes Surabaya

Correspondence to: dellanisarinaputri88@gmail.com

### ABSTRACT

Tanggal Submit:  
6 Agustus 2022

Tanggal Review:  
1 November 2022

Tanggal Publish  
Online:  
29 November 2022

*Candida albicans* is a member of the normal flora found in mucous membranes, digestive tract, respiratory tract, urethra, vagina, skin and fingernails and toenails. *Candida albicans* can grow at a wide range of pH, but generally growth will be better at a pH between 4,5-6,5. *Candida albicans* can grow in seed at a temperature of 28°C – 37°C. The type of research used is descriptive quantitative research. This study aims to determine the presence of the fungus *Candida albicans* in the urine of patients with urinary tract infections using the *Real Time* PCR method. The population in the study was patients with urinary tract infections. Urinary tract infection is an infection with clinical conditions due to the proliferation of microorganisms that cause inflammation in the urinary tract. The research was carried out at the Parasitology Laboratory and Molecular Biology Laboratory from April 2022 to May 2022. In this study, several stages of examination were carried out such as isolation of culture on *Sabouroud Dextrose Agar* media, macroscopic and microscopic examinations, manufacture of cell suspensions, extraction tests, purity tests DNA, optimization and *Real Time* PCR examination by showing results in the form of CT. The results showed that during the *Real Time* PCR examination, 2 samples with a percentage of 22,2% were obtained in the sample code S7 with a CT value of 28,50 and the sample code S9 with a CT value of 23,19 and a negative result of 7 samples with a percentage of 77,8 %. The causative factors that can lead to the presence of the fungus *Candida albicans* in the urine of patients with urinary tract infections such as personal hygiene, people with diabetes mellitus, contraceptives and the use of antiseptics.

**Keywords** : *Candida albicans*, Urinary Tract Infection, Urine, *Real Time* PCR

### PENDAHULUAN

Infeksi saluran kemih (ISK) merupakan infeksi nosokomial yang menunjukkan adanya keberadaan mikroorganisme dalam urine dan merupakan penyakit infeksi dengan menempati urutan kedua dengan jumlah

8,3 juta pertahun (Irawan, 2018). ISK pada umumnya sering ditemui pada jenis kelamin wanita, hal ini dikarenakan uretra wanita lebih pendek dari pada pria, dan bisa menyerang di segala usia dari bayi, anak-anak hingga dewasa

(Andini, 2018). Menurut Irawan (2018) adapun faktor-faktor yang dapat mempengaruhi terjadinya infeksi saluran kemih seperti usia, pemasangan kateter, jenis kelamin, penggunaan antibiotik, kebiasaan menahan kemih dan kebersihan lingkungan. Kejadian infeksi saluran kemih sebagian besar disebabkan oleh bakteri, virus, dan jamur. Beberapa gejala infeksi saluran kemih antara lain seperti nyeri saat diuresis (disuria), diuresis sedikit-sedikit tetapi sering, dan nyeri pada perut bagian bawah atau diatas tulang kemaluan (Fajarochwati, 2020). Menurut Pratama (2017) Jamur termasuk golongan fungi dan tidak mempunyai klorofil, sehingga tidak mampu membuat makanannya sendiri. Pada kelangsungan hidupnya jamur memiliki sifat heterotrofik ketergantungan terhadap mikroorganisme lain. Jamur dapat merubah mahluk hidup seperti merugikan atau menguntungkan. Terdapat beberapa spesimen yang dapat dijadikan bahan pemeriksaan diagnostik jamur, seperti sputum, bilasan bronkus, urine, darah maupun kuku dan kulit (Thristy, 2013).

Infeksi jamur terus mengalami peningkatan hingga saat ini diantaranya infeksi jamur oportunistik. Infeksi jamur oportunistik yang umumnya sering terjadi yaitu kandidiasis (Savitri *et al.*,

2013). Kandidiasis adalah penyakit jamur yang bersifat akut atau subakut yang disebabkan oleh jamur *Candida albicans*. *Candida albicans* umumnya ditemukan pada daerah vagina, kulit, kuku, bronkus dan mulut (Fatimah, 2017). Infeksi jamur *candida* terjadi di daerah mukokutan, tetapi tidak menutup kemungkinan terdapat pada organ-organ lain didalam tubuh seperti esofagus, hati, ginjal, jantung, mata, paru-paru maupun otak (Thristy, 2013).

Berdasarkan hasil studi penelitian Ari Elani *et al* (2020) pada kasus tahun 2018-2019 pada urine penderita infeksi saluran kemih (ISK) yang positif terdapat *Candida albicans* sejumlah (73,5%) dan sampel negatif dengan persentase 26,5% tidak terdapat jamur *Candida albicans*. Pada kasus infeksi saluran kemih lainnya di RSUD Syarifah Ambami Rato Ebu Bangkalan, pada sampel urine sejumlah 33 sampel didapatkan 31 sampel positif terdapat jamur *Candida albicans* dengan persentase 93,3% dan 2 sampel negatif dengan persentase 6,7% tidak terdapat jamur *Candida albicans* (Arifah, 2021).

Seiring pesatnya perkembangan teknik dalam bidang biologi molekuler, salah satunya menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Reaksi berantai *Polymerase chain reaction* (PCR) adalah merupakan suatu metode enzimatik untuk amplifikasi

DNA dengan cara *in vitro* (Hasibuan, 2015). Perkembangan teknik molekuler berbasis PCR merupakan metode pilihan untuk identifikasi dan karakterisasi jamur. Metode PCR mengisolasi DNA dari kualitas dan kuantitas untuk menganalisa melalui aplikasi berbasis PCR.

Salah satu faktor dari keberhasilan metode PCR yaitu membutuhkan primer yang sesuai dan DNA yang berkualitas baik (Wildani, 2018). Menurut Aris *et al* (2013) primer PCR merupakan oligonukleotida yang berperan penting sebagai insiasi amplifikasi molekul DNA. Berdasarkan uraian diatas maka peneliti ingin melakukan penelitian terkait deteksi jamur *Candida albicans* menggunakan metode RT-PCR terhadap penderita infeksi saluran kemih di RSAL Dr. Ramelan Surabaya. Pada penelitian ini menggunakan metode Real Time PCR merupakan variasi dari teknik PCR atau teknik biologi molekuler dengan menunjukkan hasil berupa CT (*Cycle Threshold*) (Amallea, 2020).

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kuantitatif dengan metode analisa data observasi sampel urine pada penderita infeksi saluran kemih. Dengan cara melakukan isolat menggunakan sampel urine dan

dilanjutkan pemeriksaan dengan metode RT-PCR.

Populasi dalam penelitian ini adalah pasien RSPAL Dr. Ramelan Surabaya. Sampel dalam penelitian ini adalah 30 penderita infeksi saluran kemih dengan kriteria inklusi yang sudah terdeteksi infeksi saluran kemih melalui pemeriksaan mikroskopis di RSPAL Dr. Ramelan Surabaya. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Parasitologi dan Laboratorium Biologi Molekuler Poltekkes Kemenkes Surabaya Jurusan Teknologi Laboratorium Medis. Penelitian ini dilakukan pada bulan April sampai Mei 2022.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Neraca Analitik, Hotplate, Erlenmeyer, Beaker Glass, Pipet Tetes, Gelas Ukur, Spatula, Gelas Arloji, Petridish Steril, Obyek Glass, Cover Glass, Autoclave, Ose Bulat, Kertas pH, Yellow Tip, Blue Tip, White Tip, Tabung PCR, Vortex, Sentrifuge, Mikropipet, Bio Safety Cabinet, Eppendorf Tube.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA), *Lactophenol Cotton Blue* (LCB), Master Mix SYBR GREEN, primer *forward* 5'-GGGTTTGCTTGAAAGACGGTA-3' dan primer *reverse* 5'-TTGAAGATATACGTGGTGGACGTT

A-3', Kit Ekstraksi, Isopropanol, Alkohol 70% dan Sampel Urine ISK. Kontrol Positif, Aquadest Steril, Antibiotik Kloramfenikol.

Sampel urine ISK dilakukan identifikasi yaitu dengan pengamatan makroskopis morfologi koloni pada media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) dan mikroskopis morfologi sel. Hasil positif adanya *Candida* sp dilanjutkan dengan pembuatan suspensi sel. Tahap selanjutnya ekstraksi dan uji kemurnian DNA. Sampel dilanjutkan deteksi wilayah ITS 2 pada jamur *Candida albicans* dengan menggunakan metode *Real Time PCR* dengan hasil berupa nilai CT (*Cycle Threshold*).

### HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian yang didapatkan pada kultur jamur secara makroskopis dan mikroskopis pada media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) sebagaimana tabel berikut ini :

**TABEL 1.** Hasil makroskopis dan mikroskopis pada media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA)

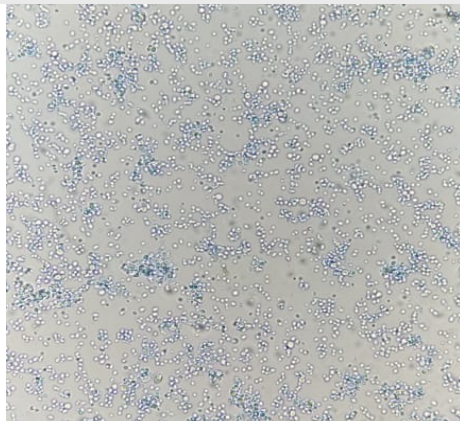
Kode Sampel	Makroskopis	Mikroskopis
S1	+	+
S2	-	-
S3	-	-
S4	-	-
S5	+	+
S6	-	-
S7	+	+
S8	-	-
S9	+	+
S10	+	+
S11	-	-
S12	-	-
S13	-	-

S14	+	+
S15	-	-
S16	-	-
S17	-	-
S18	-	-
S19	-	-
S20	+	+
S21	-	-
S22	-	-
S23	-	-
S24	+	+
S25	-	-
S26	-	-
S27	+	+
S28	-	-
S29	-	-
S30	-	-

Identifikasi jamur *Candida* sp secara makroskopis dan mikroskopis pada 30 sampel urine pada penderita infeksi saluran kemih di dapatkan hasil 9 sampel positif adanya pertumbuhan jamur *Candida* sp dan 21 sampel negatif tidak terdapat pertumbuhan jamur *Candida* sp.



**Gambar 1.** Hasil makroskopis Jamur *Candida* sp. pada media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA)

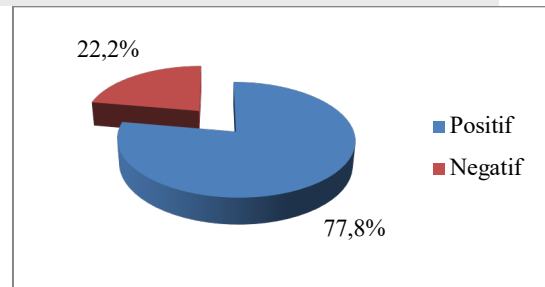


**Gambar 2.** Hasil mikroskopis jamur *Candida* sp pada media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA)

**Tabel 2.** Hasil Deteksi *Candida albicans* Metode *Real Time PCR*

Kode Sampel	Nilai CT	Keterangan
S1	N/A	Negatif
S5	N/A	Negatif
S7	28,50	Positif
S9	23,19	Positif
S10	N/A	Negatif
S14	N/A	Negatif
S20	N/A	Negatif
S24	N/A	Negatif
S27	N/A	Negatif
Kontrol Positif (+)	8,51	Positif

Berdasarkan hasil penelitian pada tabel 2 menunjukkan deteksi jamur *Candida albicans* dengan menggunakan metode *Real Time PCR*. Didapatkan hasil positif sejumlah 2 sampel dengan persentase 22,2% terdapat jamur *Candida albicans* hasil negatif sejumlah 7 sampel dengan persentase 77,8% tidak terdapat jamur *Candida albicans*.



**Gambar 3.** Diagram pie hasil persentase jamur *Candida albicans*

## PEMBAHASAN

Pada penelitian ini menggunakan 30 sampel urine penderita infeksi saluran kemih dengan kriteria inklusi tertentu. Pada tahap awal dilakukan inokulasi pada media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) dan diinkubasi pada suhu ruang 37°C selama 4 hari untuk melihat adanya morfologi koloni secara makroskopis yang ditandai dengan sel jamur berbentuk bulat hingga lonjong dan berwarna putih kekuningan, dengan permukaan koloni cembung, licin dan halus adanya dan mikroskopis budding yeast cells. Hasil menunjukkan hasil 9 sampel positif adanya pertumbuhan jamur *Candida* sp dan 21 sampel negatif tidak terdapat pertumbuhan jamur *Candida* sp.

Sampel yang positif *Candida* sp dilanjutkan pada tahap ekstraksi untuk mengetahui kemurnian DNA. Pengukuran konsentrasi dan kemurnian DNA dengan menggunakan alat spektrofotometer nano drop dengan mengukur DNA murni hasil isolasi pada panjang gelombang 260 nm dimana



pada panjang gelombang tersebut DNA menyerap cahaya paling kuat. Perhitungan kemurnian yang paling umum adalah dengan menentukan rasio absorbansi dari panjang gelombang 260 nm dibagi dengan absorbansi dari panjang 280 nm (Wasdili dan Gartinah, 2018). Pada uji kemurnian DNA hasil yang baik jika didapatkan kemurnian DNA diantara 1,8-2,0 (Nugroho, 2015).

Pemeriksaan *Real Time* PCR terdapat 3 tahapan yaitu denaturasi, pada proses denaturasi yaitu melepaskan rantai ganda DNA menjadi dua rantai tunggal DNA. Tahap kedua adalah Proses *annealing* atau pemasangan dua rantai primer (primer *forward* dan *reverse*) pada kedua rantai DNA. Primer mempunyai fungsi sebagai pancingan awal dalam pelipatgandaan segmen pada DNA. Tahap ketiga *Extention* pada proses *extention* terjadi adanya perpanjangan untai baru DNA. Sebelum pemeriksaan *Real Time* PCR dilakukan tahap optimasi. Pada tahap optimasi penelitian ini didapatkan beberapa suhu *annealing* pada 60°C, 59,7°C, 59,2°C, 58,2°C, 57°C. Suhu optimal yang digunakan untuk melakukan running sampel pada suhu 59,7°C.

Pada beberapa tahun terakhir gen target yang sering ditemukan adalah ITS (*Internal Transcribed Spacer*) dari DNA banyak digunakan sebagai target untuk menganalisa keberagaman jamur, dan

telah dipilih sebagai standart marker untuk barcode DNA jamur. Wilayah ITS adalah bagian dari kompleks gen RNA ribosom (rDNA) dan telah digunakan sebagai target dalam penelitian jamur *Candida* sp. Pada wilayah ITS merupakan wilayah non-coding terletak di antara ribosom 18S dan 28S. Wilayah ITS, yang terletak di antara DNA ribosom 18S dan 28S, dibagi lagi menjadi dua spacer, ITS1 dan ITS2, dipisahkan oleh wilayah konservasi 5.8S. Wilayah ITS1 dan ITS2 adalah urutan yang sangat bervariasi yang telah digunakan untuk identifikasi jamur pada tingkat spesies (El-Naggar *et al*, 2010).

Pada penelitian ini melakukan amplifikasi DNA *Candida albicans* dengan *Real Time* PCR dilakukan pada suhu 95°C selama 30 detik (denaturasi), 59,7°C selama 30 detik (*annealing*), dan 72°C selama 30 detik (*extension*) diikuti dengan 40 siklus. Pada hasil akhir dari pemeriksaan *Real Time* PCR yang ditunjukkan bahwa persentase hasil positif sejumlah 2 sampel dengan persentase 22,2% terdapat jamur *Candida albicans* dan hasil negatif sejumlah 7 sampel dengan persentase 77,8% tidak terdapat jamur *Candida albicans*. Pada penelitian Andini (2018) dengan melakukan penelitian menggunakan sampel urine sejumlah 5 sampel di Rumah Sakit Umum Pusat H. Adam Malik Medan didapatkan hasil

positif ditemukan jamur *Candida albicans* jamur pada 5 sampel tersebut.

## KESIMPULAN

Pemeriksaan *Real Time* PCR didapatkan hasil positif sejumlah 2 sampel dengan persentase 22,2% terdapat jamur *Candida albicans* dan hasil negatif sejumlah 7 sampel dengan persentase 77,8% tidak terdapat jamur *Candida albicans*. Nilai CT yang didapatkan pada pemeriksaan *Real Time* PCR dengan kode sampel S7 dengan nilai CT 28,50 dan kode sampel S9 dengan nilai CT 23,19. Adapun faktor-faktor tertentu yang dapat mengakibatkan keberadaan jamur *Candida albicans* pada urine penderita infeksi saluran kemih (ISK) seperti personal hygiene, diabetes mellitus, alat kontrasepsi dan penggunaan antiseptik.

## Saran

Saran dalam penelitian ini yaitu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai analisis sequencing DNA untuk mengetahui jenis mutasi dan dapat menambah jenis sampel penelitian dari berbagai macam infeksi.

## DAFTAR PUSTAKA

Amallea, I. *et al.* (2020) *Optimasi Suhu Denaturasi dan Annealing Pada Pemeriksaan Candida albicans dengan Metode Real Time PCR.* Bandung: Politeknik Kesehatan Kemenkes Bandung.

Andini, P. (2018). *Identifikasi Candida Sp Pada Urine Infeksi Saluran Kemih Pada Penderita Diabetes Mellitus Di Rumah Sakit Umum Pusat H. Adam Malik Medan.* Medan: Poltekkes Kemenkes Medan

Ari Elani, D. A. K., Burhannuddin, B., & Sofi Yanty, J. (2020). *Identifikasi Jamur Candida Pada Urine Penderita Infeksi Saluran Kemih Di Rumah Sakit Daerah Mangusada Badung.* Bali: Poltekkes Denpasar.

Arifah, R. (2021). *Identifikasi Jamur Candida albicans Pada Urine Wanita Penderita Diabetes Mellitus Type 2 Di RSUD Syarifah Ambami Rato Ebu (Syamrabu) Bangkalan z.* Madura: STIKES Ngudia Husada Madura.

Aris, M., Sukenda, S., Harris, E., & Sukadi, M. F. (2013). *Molecular identification of pathogenic bacteria and PCR specific primer design.* *E-Journal Budidaya Perairan*, 1(3), 43-50.

El-Naggar M. Y., Al-basri H. M., & El-Din AZAK. (2010). *Molecular Diagnosis of Candida albicans Using Real-Time Polymerase Chain Reaction of a CaYST1 gene.* *Journal of Taibah University for Science* 3

Fajarochwati, M. (2020). *Gambaran Jenis Bakteri Pada Kultur Urin Pasien Infeksi Saluran Kemih Di RS Premier Jatinegara.* Jakarta: Politeknik Kemenkes Jakarta.

Fatimah, V. N. (2017). *Identifikasi Candida albicans Dalam Urine Wanita Lansia Dengan Inkontinensia.* Jombang: Stikes Insan Cendekia Medika Jombang.

- Hasibuan, E. (2015). *Peranan Teknik Polymerase Chain Reaction (PCR) Terhadap Perkembangan Ilmu Pengetahuan. Fakultas Kedokteran. Universitas Sumatera Utara, Medan.*
- Irawan, E. (2018). *Faktor-faktor penyebab infeksi saluran kemih (ISK) (literature review). Prosiding Seminar Nasional Dan Penelitian Kesehatan 2018, 1(1).*
- Nugroho, F. A. D. (2015). *Identifikasi Pola Haplotipe DNA Mitokondria Udang Jari (Metapenaeus elegans) Segara Anakan Kabupaten Cilacap Jawa Tengah Menggunakan Enzim Restriksi HindIII. Malang : Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.*
- Pratama, R. (2017). *Daya Hambat Infusa Buah Kawista (Limonia acidissima L.) Terhadap Pertumbuhan Aspergillus flavus. Semarang : Universitas Muhammadiyah Semarang*
- Savitri, A., Hadi, P., & Hapsari, R. (2013). *Faktor risiko candiduria pada pasien yang dirawat di rsup dr kariadi semarang. Semarang: Diponegoro University.*
- Thrifty, I. (2013). *Analisa Aspergillus Fumigatus dengan Menggunakan Polymerase Chain Reaction (PCR) dan Kultur pada Sputum Penderita Batuk Kronis. Medan: Universitas Sumatera Utara.*
- Wasdili, F. A & Tintin Gartinah (2018). *Penentuan Kualitas Isolasi DNA Salmonella typhimurium Dengan Metode Spektrofotometeri Dan Elektroforesis. Bandung : Stikes Jenderal Achmad Yani Cimahi.*
- Wildani, W. (2018). *Karakterisasi Molekuler Fusarium Oxysporum Pada Dataran Rendah. Malang: University of Muhammadiyah Malang.*