

DETEKSI GEN *blaTEM* DAN GEN *floR* PADA ISOLAT KLINIS *Salmonella typhi* DENGAN METODE *DUPLEX PCR*

Adellya Mirza Putriyani¹, Dewi Saroh^{1*}

¹*Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional, Sukoharjo, Jawa Tengah, Indonesia*

Info Artikel

Riwayat Artikel:

Tanggal Dikirim: 08 September 2025

Tanggal Diterima: 20 Mei 2026

Tanggal Diterbitkan: 02 Juni 2026

Kata kunci: Gen *blaTEM*, Gen *floR*, *Salmonella typhi*, Duplex PCR

Penulis Korespondensi:

Dewi Saroh

Email: dewisaroh@stikesnas.ac.id

Abstrak

Latar belakang: *Salmonella typhi* merupakan bakteri penyebab infeksi demam tifoid. Diagnosis laboratorium bakteri *Salmonella typhi* dapat dilakukan secara molekuler yang bertujuan untuk mendeteksi gen DNA pada bakteri yang diperiksa.

Tujuan: untuk mengetahui ada tidaknya gen *blaTEM* dan gen *floR* pada isolat klinis *Salmonella typhi* yang diperoleh dari RS Universitas Sebelas Maret dan RSUD Dr. Moewardi.

Metode: analisis deskriptif. Sampel yang digunakan adalah isolat klinis *Salmonella typhi* dari pasien demam tifoid di RS Universitas Sebelas Maret dan RSUD Dr. Moewardi.

Hasil: penelitian diperoleh bahwa gen *blaTEM* resisten terhadap antibiotik ampisilin yang terdeteksi pada panjang produk 643 bp dan gen *floR* resisten terhadap antibiotik kloramfenikol yang terdeteksi pada panjang produk 250 bp pada isolat klinis *Salmonella typhi* dengan menggunakan metode duplex *Polymerase Chain Reaction*.

Kesimpulan: Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 12 sampel isolat bakteri, ditemukan gen **blaTEM** (643 bp) dan gen **floR** (250 bp) pada *Salmonella typhi*. Dengan metode Duplex PCR, hasil ini menunjukkan bahwa sampel darah pasien demam tifoid tersebut resisten terhadap antibiotik ampisilin dan kloramfenikol.

Jurnal Analis Laboratorium Medik
e-ISSN: 2527-712X
Vol. 11 No. 1 Juni, 2026 (Hal 32-41)

Homepage: <https://e-journal.sari-mutiara.ac.id/index.php/ALM>

DOI: <https://doi.org/10.51544/jalm.v11i1.6059>

How To Cite: Putriyani, Adellya Mirza, and Dewi Saroh. 2026. "Deteksi Gen *BlaTEM* Dan Gen *FloR* Pada Isolat Klinis *Salmonella Typhi* Dengan Metode Duplex PCR." *Jurnal Analis Laboratorium Medik* 11 (1): 32-41. <https://doi.org/https://doi.org/10.51544/jalm.v11i1.6059>.



Copyright © 2026 by the Authors, Published by Program Studi: D3 Analis Kesehatan Fakultas Pendidikan Vokasi Universitas Sari Mutiara Indonesia. This is an open access article under the CC BY-SA Licence ([Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)).

1. Pendahuluan

Data kementerian Kesehatan RI menyebutkan angka kejadian demam tifoid di Indonesia berkisar 350-810 per 100.000 penduduk, yang berarti bahwa kasus demam tifoid sebanyak 600.000 hingga 1.500.000 kasus per tahun (Levani & Prastya, 2020). Infeksi bakteri *Salmonella enteritica*, terutama *Salmonella typhi* merupakan bakteri penyebab penyakit demam tifoid (Alba et al., 2016). Tingkat kebersihan, sanitasi lingkungan, konsumsi makanan atau minuman terkontaminasi oleh feses atau urine terinfeksi bakteri *Salmonella typhi* juga dapat menyebabkan penularan dari demam tifoid (CDC, 2019; Komariah & Saroh, 2021; Putri et al., 2025; WHO, 2018).

Spesies *Salmonella* dapat dibagi kepada dua yakni spesies typhoidal dan non typhoidal. Spesies typhoidal dapat menyebabkan demam tifoid, sedangkan spesies non typhoidal dapat menyebabkan diare atau enterokolitis. Bakteri *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi* dan bakteri *Salmonella enteritidis* termasuk dalam spesies typhoidal (Kuswiyanto, 2017). *Salmonella typhi* dapat menyebabkan terjadinya demam tifoid, sedangkan *Salmonella paratyphi A*, *Salmonella paratyphi B*, *Salmonella paratyphi C* dapat menyebabkan terjadinya demam paratifoid (Ekasari & Saroh, 2021).

Antibiotik merupakan golongan obat yang digunakan untuk membunuh dan melemahkan bakteri. Jenis antibiotik tertentu dapat digunakan untuk mengobati salmonellosis, tetapi banyak jenis antibiotik yang saat ini tidak mampu mengurangi jumlah infeksi hal ini disebabkan karena adanya resistensi antibiotik. Resistensi antibiotik semakin meningkat dikarenakan penggunaan antibiotik yang semakin tidak terkontrol dosisnya serta diikuti banyaknya pengeluaran antibiotik baru (Muhammad et al., 2017). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ahmed et al (2017) analisis molekuler terhadap 39 strain *Salmonella typhi* menunjukkan prevalensi tinggi pada gen *floR* (74,35%) diikuti gen *CatI* (61,53%) dan prevalensi sedang pada gen *tetA* (48,71%) dan gen *pse-1* (46,15%).

Saat ini bakteri *Salmonella typhi* telah mengalami resistensi terhadap beberapa antibiotik yaitu kloramfenikol, trimetoprim, sulfamethoxazole dan ampisilin (Rahman et al., 2014). Gen *floR* mengkodekan protein yang memberikan resistensi terhadap antibiotik florfenikol dan kloramfenikol. Gen ini memungkinkan untuk mudah menyaring dan memilih bakteri yang telah berhasil dimodifikasi atau diidentifikasi berdasarkan resistensi terhadap antibiotik. Penggunaan gen *floR* juga membantu mempelajari mekanisme resistensi antibiotik pada *Salmonella typhi* (Anantham et al., 2015). Resistensi kloramfenikol, terjadi karena adanya perubahan target (ribosom) dari antibiotik. Perubahan ini dapat menghasilkan inaktivator berupa enzim kloramfenikol asetil transferase dan proses yang membatasi jumlah antibiotik yang masuk melalui membran luar dan mengeluarkannya dari sitoplasma.

Gen *blaTEM* mengkodekan beta-laktamase, sebuah enzim yang memberikan resistensi terhadap antibiotik beta-laktam, seperti ampisilin dan penisilin. Penggunaan gen *blaTEM* membantu mempelajari mekanisme resistensi antibiotik pada *Salmonella typhi* (Bajpai et al., 2017). Mekanisme resistensi terhadap ampisilin, dapat terjadi karena bakteri menghasilkan inaktivator berupa enzim beta-laktamase, perubahan target antibiotik sehingga kekurangan *Penicillins Binding Protein* (PBP), kegagalan dalam mengaktifkan enzim autolisis dan bakteri tidak memiliki peptidoglikan.

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah teknik yang sangat kuat dan sensitif di bidang biologi molekuler, menggunakan dua oligonukleotida primer yang komplementer untuk memperbanyak DNA template oleh DNA polymerase. Pemisahan untai DNA dilakukan dengan pemanasan, diikuti penurunan suhu untuk perpasangan sekuens (Sasmito et al., 2014). Duplex PCR adalah pengembangan dari PCR untuk mendeteksi dua jenis gen sekaligus. Kelebihan metode ini adalah lebih praktis, hemat waktu dan hemat biaya, efisiensi yang lebih tinggi dan kemampuan untuk

membandingkan dua urutan target di bawah kondisi yang sama. Optimasi awal dilakukan dengan menggunakan uniplex PCR untuk menentukan suhu annealing optimum masing-masing primer kemudian dilanjutkan dengan optimasi duplek PCR. Faktor lain yang perlu diperhatikan dalam duplek PCR adalah optimasi konsentrasi master mix dan primer (Ni'mah et al., 2016). Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi gen *blaTEM* dan gen *floR* menggunakan metode Duplex PCR dengan sampel isolat klinis *Salmonella typhi*.

2. Metode

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian yang menggunakan metode observasional deskriptif yaitu dilakukan untuk mendeteksi gen *blaTEM* dan gen *floR* menggunakan metode Duplex PCR dengan sampel isolat klinis *Salmonella typhi*.

Populasi dan Sampel

Populasi pada penelitian ini adalah isolat klinis *Salmonella typhi* yang didapat dari Rumah sakit Universitas Sebelas Maret dan Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Moewardi. Sampel yang digunakan adalah isolat klinis bakteri *Salmonella typhi* sebanyak 12 sampel dan kontrol positif (+) gen *blaTEM*. Teknik sampling yang digunakan pada penelitian ini adalah *quota sampling*.

Prosedur Penelitian

Isolasi DNA

Persiapan Alat dan bahan yang akan digunakan meliputi kultur bakteri dari media isolat klinis *Salmonella typhi* dimasukkan kedalam tabung *microcentrifuge* ukuran 1,5 ml. Dilakukan sentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 14.000xg. Dilanjutkan pada tahap isolasi DNA menggunakan Kit Isolasi DNA Geneaid (Genomic DNA mini kit) melalui beberapa tahap yaitu persiapan sampel, lisis DNA, pengikatan DNA, pencucian DNA, elusi DNA.

Uji Kualitatif DNA

Hasil isolat DNA dilakukan pengujian uji kualitatif DNA yang dilakukan menggunakan elektroforesis gel agarose. Komponen yang diperlukan pada tahap uji kualitatif adalah isolat DNA, *gel red*, dan *loading dye*. Visualisasi hasil uji kualitas DNA dengan mengamati pita DNA hasil elektroforesis dengan menggunakan Biorad UV-Transilluminator Gel Doc (Fatchiyah et al., 2011).

Uji Kuantitatif DNA

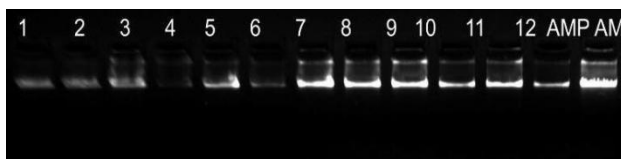
Pada uji kuantitatif DNA menggunakan kuvet spektrofotometer yang dapat menampung volume sebanyak 4 mL (4000 uL). Maka melakukan pengenceran DNA sebanyak 200x. Sebanyak 20 µl isolate DNA diencerkan dan ditambahkan 3980 µl aquabidest. Suspensi dihomogenkan menggunakan vortex selama 15 detik. Baca hasil absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer UV- Vis pada panjang gelombang 260 nm dan panjang gelombang 280 nm.

Amplifikasi DNA

Amplifikasi DNA dilakukan dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) untuk menentukan suhu optimasi dari gen *blaTEM* dan *floR*. Hasil PCR amplifikasi DNA dan Duplex PCR melakukan proses elektroforesis gel agarose yang dibandingkan dengan ladder pada 60 menit, 110 volt, 400 ampere dan dibaca dengan doc.

3. Hasil Penelitian

Penelitian ini diambil dari isolat klinis bakteri *Salmonella typhi* sebanyak 12 sampel yang didapatkan dari Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Moewardi sebanyak 5 sampel dan Rumah Sakit Universitas Sebelas Maret sebanyak 7 sampel.



Gambar 4. 1 Visualisasi elektroforesis sampel isolat klinis *Salmonella typhi* (Dokumentasi pribadi, 2025)

Hasil uji kualitatif isolasi DNA sampel isolat bakteri *Salmonella typhi* ditunjukkan pada Gambar 4.2, dimana semua sampel terlihat pita DNA yang jelas meskipun sampel nomor 4 dan 6 menunjukkan pita DNA yang sangat tipis.

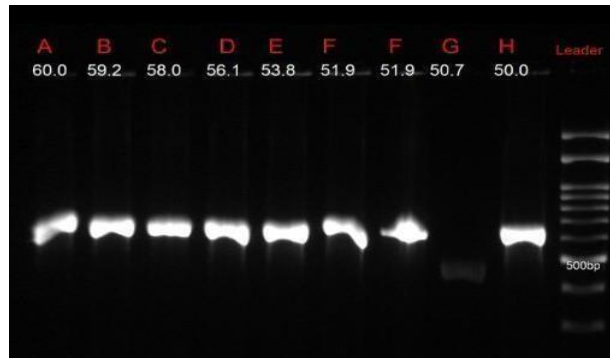
Tabel 4. 1 Hasil uji kuantitatif DNA

Kode sampel	Kemurnian DNA	Konsentrasi (ng/ul)
Sampel 1	0,94	1.245
Sampel 2	0,03	415
Sampel 3	0,19	2.490
Sampel 4	0,53	7.885
Sampel 5	42	17.430
Sampel 6	4,58	22.825
Sampel 7	1,8	48.555
Sampel 8	1,88	26.560
Sampel 9	4,83	24.070
Sampel 10	1,87	25.730
Sampel 11	2,23	31.540
Sampel 12	15,66	19.505

Rata-rata hasil uji kuantitatif DNA :

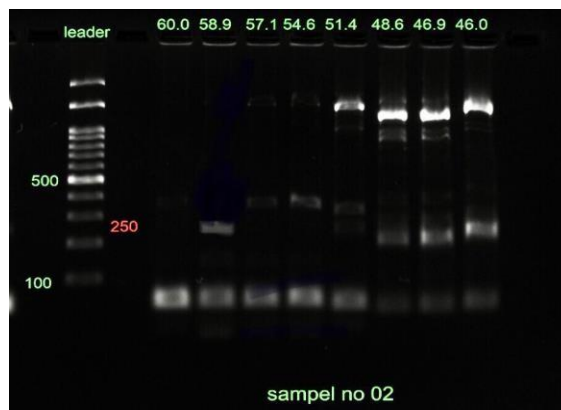
- Rasio nilai kemurnian DNA : 1,8 -2,0
- Rasio nilai konsentrasi DNA : > 100 ng/ul

Berdasarkan hasil uji kuantitatif DNA pada Tabel 4.1 diperoleh nilai kemurnian DNA tertinggi ditunjukkan oleh sampel nomor 5 dengan nilai kemurnian 42 dengan rasio nilai kemurnian DNA yaitu 1,8-2,0. Nilai konsentrasi tertinggi ditunjukkan oleh sampel nomor 7 dengan konsentrasi 48.555 ng/ul dengan rasio nilai konsentrasi terbaik yaitu konsentrasi diatas 100 ng/ul sehingga dapat dikatakan bahwa konsentrasi DNA pada sampel didapatkan hasil yang baik (Fatchiyah et al., 2011).



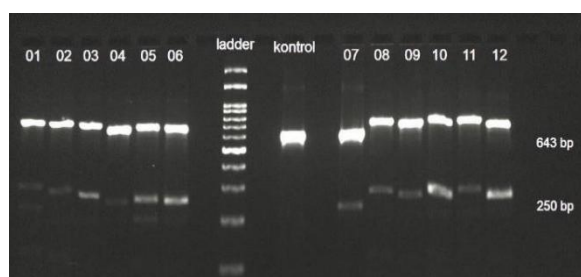
Gambar 4. 2 Visualisasi elektroforesis hasil optimasi suhu annealing sampel kontrol gen *blaTEM* (Dokumentasi pribadi, 2025)

Optimasi suhu PCR dilakukan dengan menggunakan kontrol isolat bakteri *Salmonella thypi* pada gen *blaTEM*. Hasil optimasi terbaik ditunjukkan pada huruf 'C' dengan suhu 58°C, dimana suhu tersebut telah didapatkan pita DNA yang tampak jelas dan bersih pada panjang 643 bp.



Gambar 4. 3 Visualisasi elektroforesis hasil optimasi suhu annealing sampel uji coba kontrol gen *floR* (Dokumentasi pribadi, 2025)

Optimasi suhu PCR dilakukan dengan menggunakan sampel random untuk uji coba kontrol isolat bakteri *Salmonella thypi* pada gen *floR*. Hasil optimasi pada (Gambar 4.6) terdapat pita DNA pada suhu 58,9 pada panjang 250 bp.



Gambar 4. 6 Visualisasi elektroforesis metode Duplex PCR pada gen *floR* dan gen *blaTEM* (Dokumentasi pribadi, 2025)

Hasil visualisasi Duplex PCR pada sampel isolat klinis *Salmonella thypi* menunjukkan bahwa dari 12 sampel isolat bakteri *Salmonella thypi* terdeteksi terhadap gen *blaTEM* yang resisten terhadap antibiotik ampisilin dan pada 12 sampel isolat bakteri *Salmonella thypi* terdeteksi terhadap gen *floR* yang resisten terhadap antibiotik kloramfenikol tetapi pada kontrol hanya terdapat pada gen *blaTEM* pada panjang 643 bp dan untuk kontrol *floR* tidak didapatkan pada panjang 250 bp.

4. Pembahasan

Penelitian ini sampel yang digunakan yaitu sampel isolat bakteri *Salmonella typhi* yang merupakan penderita demam tifoid sebanyak 12 sampel yang memenuhi kriteria yaitu terdiri dari pasien positif demam tifoid. Sampel sebanyak 12 didapatkan berupa biakan murni *Salmonella typhi* dari pasien penderita demam tifoid yang berasal dari rumah Sakit Umum Daerah Dr. Moewardi sebanyak 5 sampel dan Rumah Sakit Universitas Sebelas Maret sebanyak 7 sampel, sedangkan untuk kontrol positif (+) pada gen *blaTEM* didapatkan di Rumah Sakit Universitas Sebelas Maret dan kontrol positif (+) gen *floR* tidak didapatkan .

Hasil isolasi menunjukkan DNA tervisualisasi seperti pada gambar 4.2. Pita DNA yang terang dan tebal hasil dari isolasi DNA *Salmonella typhi* menunjukkan fragmen DNA yang berkualitas tinggi. Pita DNA yang tebal dan terang secara kualitatif menunjukkan konsentrasi hasil isolasi DNA yang tinggi, sedangkan pita DNA yang tipis menunjukkan konsentrasi DNA yang dihasilkan rendah (Hidayati et al., 2016).

Uji kuantitas DNA dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk mengukur kemurnian dan konsentrasi DNA. Kemurnian DNA dapat ditentukan dengan cara menghitung rasio antara nilai 260 nm dan 280 nm. Nilai 260 nm merupakan nilai maksimal DNA dapat menyerap cahaya, sedangkan nilai 280 merupakan nilai maksimal residu protein dapat menyerap cahaya. Nilai dikatakan murni jika nilai rasio A₂₆₀/A₂₈₀ antara 1,8 hingga 2,0 (Fatchiyah et al., 2011). Konsentrasi DNA di atas 100 ng/μL dianggap DNA memiliki konsentrasi DNA yang baik. Tingkat konsentrasi DNA tertinggi dipengaruhi oleh banyaknya DNA yang dihasilkan, tetapi juga dipengaruhi oleh sampel dan faktor lain saat ekstraksi DNA (Komalasari, 2019). Konsentrasi primer yang digunakan terlalu tinggi juga dapat menyebabkan kesalahan penempelan sekuens DNA yang mengakibatkan amplifikasi tidak maksimal. Sebaliknya, jika konsentrasi primer yang terlalu rendah, hasil amplifikasi yang diperoleh akan sangat sedikit (Yahya et al., 2017).

Penelitian dilanjutkan untuk optimalisasi suhu annealing. Jika suhu annealing yang digunakan adalah suhu yang optimum, maka primer akan menempel pada DNA template dengan baik (Amanda et al., 2019). Penentuan suhu annealing yang tepat, sangatlah penting untuk mengetahui seberapa efisien primer menempel pada template, sehingga mencegah terjadinya annealing non spesifik dan pembentukan dimer (Taylor et al., 2010). Hasil optimalisasi suhu annealing dapat dilihat pada (Gambar 4.3). Hasil dari visualisasi dari Gen *blaTEM* menunjukkan bahwa suhu terbaik dalam tahap annealing adalah pada suhu 58 °C ditandai dengan adanya pita yang cukup terang pada kisaran panjang 643 bp saat divisualisasikan menggunakan UV Transiluminator. Hasil optimasi suhu annealing dapat dilihat pada (Gambar 4.4, 4.5 dan 4.6). Hasil dari visualisasi dari Gen *floR* menunjukkan bahwa suhu terbaik dalam tahap annealing adalah tidak ada yang sesuai karena pada gen *floR* tidak ada kontrol positif. Pada (Gambar 4.4 dan 4.5) didapatkan hasil pita DNA tidak sesuai dengan panjang 250 bp, munculnya lebih dari satu band, dan terbentuk adanya smear dan dimer. Pada (Gambar 4.6) didapatkan hasil pita DNA yang sama pada (Gambar 4.4 dan 4.5) tetapi pada suhu 58,9 terdapat pita DNA pada 250 bp saat divisualisasikan menggunakan UV Transiluminator. Suhu annealing yang digunakan dalam tahap amplifikasi (PCR) memengaruhi kualitas dan kuantitas DNA. Kondisi sampel, reagen, dan alat-alat yang digunakan di setiap laboratorium berbeda-beda. Senyawa metabolit sekunder memengaruhi kualitas dan kuantitas DNA. Gerakan fisik yang berlebihan selama proses pemipetan, dibolak-balik dalam ependorf, disentrifus, dapat memutus ikatan antar molekul DNA. Temperatur yang terlalu tinggi dapat memutus ikatan antar molekul DNA. Aktivitas bahan-bahan kimia tertentu dapat memutus ikatan antar molekul DNA (Fatchiyah et al., 2011).

Adanya pita DNA yang tidak diinginkan pada hasil PCR menunjukkan kemungkinan adanya amplifikasi non-spesifik atau primer-dimer. Untuk menanggulangi amplifikasi non spesifik dapat dilakukan dengan menerapkan Hot- Start Taq Polymerase, penambahan DMSO (dimethyl sulfoxide) pada sampel dengan primer yang memiliki GC-content tinggi, ditambah dengan modifikasi konsentrasi reagen seperti mengurangi volume primer. Selain itu juga dapat dilakukan elektroforesis dengan gel agarose konsentrasi tinggi (2-3%) untuk meningkatkan resolusi dan pemisahan pita DNA (Hikmatyar et al., 2015).

Pemeriksaan Duplex PCR dari 12 sampel mendapatkan positif terdeteksi *Salmonella typhi* pada gen *blaTEM* dengan terbentuknya pita DNA pada panjang 643 bp dan terdeteksi *Salmonella typhi* pada gen *floR* dengan terbentuknya pita DNA pada panjang 250 bp . Duplex PCR adalah metode PCR yang dapat digunakan untuk mendeteksi dua jenis gen dalam satu kali amplifikasi. Kelebihan metode ini adalah lebih praktis, hemat waktu dan hemat biaya, efisiensi yang lebih tinggi dan kemampuan untuk membandingkan dua urutan target di bawah kondisi yang sama. Kelemahan dari metode duplex adalah optimalisasi suhu di awal dilakukan dengan menggunakan uniplex PCR untuk menentukan suhu annealing optimum masing-masing primer kemudian dilanjutkan dengan optimalisasi duplex PCR. Faktor lain seperti optimasi konsentrasi master mix, konsentrasi primer, pemipetan dan kontaminasi menjadi faktor yang perlu diperhatikan dalam duplex PCR (Ni'mah et al., 2016).

Angka kejadian demam tifoid di Indonesia berkisar antara 350-810 per 100.000 penduduk yang artinya sebesar 600.000-1.500.000 kasus demam tifoid terjadi setiap tahun (Levani & Prastya, 2020). Salah satu antibiotik pertama yang digunakan untuk mengobati demam tifoid yaitu kloramfenikol pada tahun 1948 dan telah menjadi pengobatan utama selama tiga puluh tahun bersama ampicilin dan trimetoprim sulfametoksazol. Pada tahun 1974, laporan pertama tentang resistensi *Salmonella typhi* terhadap kloramfenikol, selanjutnya tahun 1994 dilaporkan resistensi *Salmonella typhi* terhadap kloramfenikol, ampicilin, dan trimetoprim sulfametoksazol, atau dikenal sebagai MDR (*multiple drug resistance*) *Salmonella typhi* (Crump & Mintz, 2010). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ahmed et al (2017) Analisis molekuler terhadap 39 strain *Salmonella typhi* menunjukkan prevalensi tinggi pada gen *floR* (74,35%) diikuti gen *Cat1* (61,53%) dan prevalensi sedang pada gen tetA (48,71%) dan gen *pse-1* (46,15%). Florfenikol adalah analog struktural terfluorinasi dari thiamfenikol dan kloramfenikol yang disetujui. Saat ini, sembilan gen resistensi kloramfenikol adalah gen *floR* , *floRv* , *floSt* , *fexA* , *fexB* , *peA* , *cfr*, *optrA*, dan *estDL136* telah diidentifikasi. ESBL adalah enzim yang dapat menetralkan antibiotik spektrum luas seperti penisilin spektrum luas dan sefalosporin generasi ketiga serta aztreonam. Dua gen ESBL yang paling penting adalah gen *blaTEM* klasik dan gen *blaCTX-M* yang baru-baru ini menyebar (Bajpai et al., 2017). Kluster spesifik yang mengkode gen resistensi beta- laktam diidentifikasi termasuk *blaCMY-2* , *blaCTX-M-1* dan gen dari keluarga *blaTEM*.

Gen *blaTEM* adalah sekelompok enzim yang memberikan resistensi bakteri terhadap spektrum luas antibiotik beta-lakta yang dikodekan dalam plasmid. Beta-laktamase adalah enzim yang diproduksi oleh bakteri, yang menciptakan resistensi terhadap antibiotik beta- laktam, seperti penisilin, sefamisin, dan karbapenem (Bush, 2010). Gen *floR* telah diidentifikasi pada kromosom dan plasmid dan sering dikaitkan dengan elemen genetik bergerak dan pulau genom. Elemen genetik bergerak memungkinkan translokasi gen *floR* antara molekul DNA, seperti kromosom dan plasmid. Plasmid yang membawa gen *floR* dapat menyebar di antara bakteri dari spesies atau genus yang sama dan berbeda melalui konjugasi atau transformasi, sehingga menyebabkan

resistensi (Lai et al., 2013). Mekanisme resistensi yang khusus terjadi terhadap antibiotika lini pertama adalah mekanisme resistensi terhadap ampisilin, dapat terjadi karena bakteri menghasilkan inaktivator berupa enzim betalaktamase, perubahan target antibiotika sehingga *kekurangan Penicillins Binding Protein (PBP)*, kegagalan dalam mengaktifkan enzim autolisis dan bakteri tidak memiliki peptidoglikan. Resistensi terhadap kloramfenikol, dapat terjadi melalui perubahan target (ribosom) dari antibiotika, dihasilkannya inaktivator berupa enzim kloramfenikol asetil transferase dan mekanisme yang membatasi antibiotika masuk secara terus menerus melalui membran luar serta akan memompa keluar antibiotika dari sitoplasma. Kendala dalam penelitian ini adalah tidak adanya kontrol positif gen *floR* sehingga peneliti menggunakan pemilihan random sampel untuk optimasi suhu annealing pada gen *floR* dan susah untuk pemilihan suhu yang tepat untuk proses Duplex *Polymerase Chain Reaction (PCR)*. Pada proses pengerjaannya dibutuhkan ketelitian tinggi dalam hal memipet sampel, besarnya voltase, lamanya waktu elektroforesis.

Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai tambahan referensi dalam melakukan penelitian yang serupa dengan tujuan untuk memberikan pengetahuan dan menjadi salah satu pemeriksaan yang dilakukan dalam mendiagnosa penyakit demam tifoid. Selain itu, penelitian ini sebagai referensi metode Duplex PCR untuk mendeteksi gen pada bakteri *Salmonella typhi* dua sekaligus dalam satu kali running yang telah mengalami resistensi antibiotik ampisilin dan kloramfenikol sehingga dapat mencegah dan mengurangi risiko efek samping dari antibiotik yang sudah resistensi pada bakteri (Fatchiyah et al., 2011). Saran untuk penelitian selanjutnya diharapkan menggunakan kontrol positif gen *floR* untuk memudahkan saat penelitian dan menambah wawasan pengetahuan khususnya di bidang biologi molekuler.

5. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa dari 12 sampel isolate bakteri *Salmonella typhi* yang dideteksi ditemukan gen *blaTEM* pada sampel isolate bakteri *Salmonella typhi* dengan terbentuknya pita DNA dengan panjang 643 bp, dan mendeteksi gen *floR* juga menunjukkan hasil positif yaitu pada pita DNA dengan panjang 250 bp, sehingga sampel darah pasien demam tifoid yang dideteksi dengan metode Duplex PCR tersebut dinyatakan resisten terhadap ampisilin dan kloramfenikol. Hasil ini menunjukkan bahwa deteksi resistensi antibiotik berdasarkan gen pengkode resistensi dapat dilakukan sebagai salah satu rujukan pemeriksaan molekuler.

6. Referensi

1. Ahmed, D., Nahid, M. A., Sami, A. B., Halim, F., Akter, N., Sadique, T., Rana, M. S., Shahriar Bin Elahi, M., & Rahman, M. M. (2017). Bacterial etiology of bloodstream infections and antimicrobial resistance in Dhaka, Bangladesh, 2005-2014. *Antimicrob Resist Infect Control*, 6(2). <https://doi.org/10.1186/s13756-016-0162-z>
2. Alba, S., Bakker, M. I., Hatta, M., Scheelbeek, P. F. D., Dwiyantri, R., Usman, R., Sultan, A. R., Sabir, M., Tandirogang, N., Amir, M., Yasir, Y., Pastoor, R., Berra, S. van, & Smits, H. L. (2016). Risk Factors of Typhoid Infection in the Indonesian Archipelago. *PLoS ONE*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155286>. eCollection 2016
3. Amanda, K., Sari, R., & Apridamayanti, P. (2019). Optimalisasi Suhu Annealing Proses PCR Amplifikasi Gen *shv* Bakteri *Escherichia coli* Pasien Ulkus Diabetik. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 4(1).
4. Anantham, S., Harmer, C. J., & Hall, R. M. (2015). p39R861-4, A Type 2 A/C2

- Plasmid Carrying a Segment from the A/C1 Plasmid RA1. *Microb Drug Resist*, 21(6), 571–576. <https://doi.org/10.1089/mdr.2015.0133>
5. Bajpai, T., Pandey, M., Varma, M., & Bhatambare, G. S. (2017). Prevalence of TEM, SHV, and CTX-M Beta-Lactamase genes in the urinary isolates of a tertiary care hospital. *Avicenna J Med*, 7(1), 12–16. <https://doi.org/10.4103/2231-0770.197508>.
 6. Bush, K. (2010). Alarming β -lactamase-mediated resistance in multidrug-resistant Enterobacteriaceae. *Curr Opin Microbiol*, 13(5), 558–564. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2010.09.006>
 7. CDC. (2019). *Antibiotic resistance threats in the United States 2019*. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.15620/cdc:82532>.
 8. Crump, J. A., & Mintz, E. D. (2010). Global trends in typhoid and paratyphoid fever. *Clin Infect Dis*, 50(2), 241–246. <https://doi.org/10.1086/649541>
 9. Ekasari, Y. S., & Saroh, D. (2021). Hubungan Titer Widal Dengan Jumlah Limfosit Pada Kasus Demam Tifoid Di Wilayah Kerja Puskesmas Sawoo. *Jurnal Analisis Laboratorium Medik*, 6(2), 73–77. <https://doi.org/10.51544/jalm.v6i2.2134>
 10. Fatchiyah, Arumingtyas, E. L., Widyarti, S., & Rahayu, S. (2011). *Biologi molekuler prinsip dasar analisis*. Penerbit Erlangga.
 11. Hidayati, Saleh, E., & Aulawi, T. (2016). Identifikasi Keragaman Gen BMPR-1B (Bone Morphogenetic Protein Receptor IB) pada Ayam Arab Ayam Kampung dan Ayam Ras Petelur Menggunakan PCR-RLFP. *Jurnal Peternakan*, 13(1). <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.24014/jupet.v13i1.2383>
 12. Hikmatyar, M. F., Royani, J. I., & Dasumiati. (2015). Isolasi dan Amplifikasi DNA Keladi Tikus (*Typonium flagellirofm*) Untuk Identifikasi Keragaman Genetik. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*, 2(2), 42–48. <https://doi.org/http://ejurnal.bppt.go.id/index.php/JBBI>
 13. Komalasari, K. (2019). *Pengaruh Perbandingan Volume Darah Dan Lisis Buffer Serta Kecepatan Sentrifugasi Terhadap Kualitas Produk DNA Pada Sapi Friesian Holstein (Fh)*. Institut Pertanian Bogor.
 14. Komariah, R., & Saroh, D. (2021). Hubungan Higiene Personal, Sanitasi Dan Tingkat Pengetahuan Terhadap Demam Tifoid. *Jurnal Analisis Laboratorium Medik*, 6(2), 67–72. <https://doi.org/10.51544/jalm.v6i2.2115>
 15. Kuswiyanto. (2017). *Bakteriologi Buku Ajar Analisis Kesehatan*.
 16. Lai, J., Wang, Y., Shen, J., Li, R., Han, J., Foley, S. L., & Wu, C. (2013). Unique class 1 integron and multiple resistance genes co-located on IncHI2 plasmid is associated with the emerging multidrug resistance of *Salmonella* Indiana isolated from chicken in China. *Foodborne Pathog Dis*, 10(7), 581–588. <https://doi.org/10.1089/fpd.2012.1455>
 17. Levani, Y., & Prastya, A. D. (2020). Demam Tifoid : Manifestasi Klinis, Pilihan Terapi dan Pandangan Islam. *Al-Iqra Medical Journal : Jurnal Berkala Ilmiah Kedokteran*, 3(1). <https://doi.org/https://doi.org/10.26618/aimj.v3i1.4038>
 18. Muhammad, A., Nurulita, N. A., & Budiman, A. (2017). Uji sensitivitas antibiotik terhadap bakteri penyebab infeksi saluran kemih pada pasien rawat inap RSUD Prof Dr Margono Soekarjo Purwokerto. *Jurnal Pharmacy*, 14(02). <https://doi.org/https://doi.org/10.30595/pharmacy.v14i2.1684>
 19. Ni'mah, A., Kartikasari, Y., Pratama, A. D., Kartikasari, L. R., Hertanto, B. S., & Cahyadi, M. (2016). Detection of Pork Contamination in Fresh and Cooked Beef Using Genetic Marker Mitochondrial-DNA Cytochrome B by Duplex PCR. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 41(1). <https://doi.org/https://doi.org/10.14710/interaksi.v25i.220%20-%20227>
 20. Putri, S. P., Anggraeni, R., & Novalina, D. (2025). Hubungan Trombositopenia

- Dengan Infeksi Salmonella typhi Pada Pasien Demam Tifoid Di RS PKU Muhammadiyah Yogyakarta. *Jurnal Analis Laboratorium Medik*, 10(2), 137–147. <https://doi.org/10.51544/jalm.v10i2.6387>
21. Rahman, B. A., Wasfy, M. O., Maksoud, M. A., Hanna, N., Dueger, E., & House, B. (2014). Multi-drug resistance and reduced susceptibility to ciprofloxacin among Salmonella enterica serovar Typhi isolates from the Middle East and Central Asia. *New Microbes New Infect*, 2(4), 88–92. <https://doi.org/10.1002/nmi2.46>
 22. Sasmito, D. E. K., Kurniawan, R., & Muhimmah, I. (2014). Karakteristik Primerpada Polymerase Chain Reaction (PCR) untuk Sekuensing DNA: Mini Review. *Seminar Nasional Informatika Medis (SNIMed) V 2014*.
 23. Taylor, S., Wakem, M., Dijkman, G., Alsarraj, M., & Nguyen, M. (2010). A practical approach to RT-qPCR—Publishing data that conform to the MIQE guidelines. *Methods*, 50, S1–S5. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2010.01.005>
 24. WHO. (2018). *Typhoid vaccines: WHO position paper - March 2018*. <http://www.who.int/wer>
 25. Yahya, A., Firmansyah, M., Arlisyah, A., & Risandiansyah, R. (2017). Comparison of DNA Extraction Methods Between Conventional, Kit, Alkali and Buffer-Only for PCR Amplification on Raw and Boiled Bovine and Porcine Meat. *Agricultural and Food Sciences*, 7, 110–114. <https://doi.org/https://doi.org/10.21776/ub.jels.2017.007.02.09>