

DETEKSI *Pseudomonas aeruginosa* ISOLAT PUS LUKA BERBASIS POLYMERASE CHAIN REACTION MENGGUNAKAN GEN *algD*

DETECTION OF Pseudomonas aeruginosa BASED ON POLYMERASE CHAIN REACTION USING THE algD GENE IN WOUND PUS ISOLATE

Maya Linda Shafira¹, Stalis Norma Ethica^{2*}, Aditya Rahman Ernanto¹.

Program Studi DIV Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang

Program Studi Magister Ilmu Laboratorium Klinis, Program Pascasarjan, Universitas Muhammadiyah Semarang

Corresponding author : norma@unimus.ac.id

Abstrak

Penyakit *cystic fibrosis* dan infeksi nosokomial akibat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* masih sering terjadi di Indonesia, sehingga deteksi dini bakteri infeksius tersebut perlu dilakukan untuk pemberantasannya. Deteksi *P. aeruginosa* dapat dilakukan secara akurat berbasis gen *algD* pengkode alginat dengan metode Polymerase Chain Reaction (PCR). Alginat merupakan lapisan eksopolisakarida berlendir penyusun biofilm yang mengelilingi bakteri *P. aeruginosa* dan merupakan faktor virulensi bakteri tersebut. Tujuan penelitian ini adalah mendeteksi *P. aeruginosa* berbasis PCR melalui amplifikasi gen *algD* pada pus luka. Jenis penelitian ini adalah penelitian empiris didukung eksperimen dan studi pustaka. Sampel untuk isolasi bakteri berasal dari luka kaki anak laki-laki berusia 5 tahun yang menghasilkan pus (nanah). Proses sub kultur dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Semarang. Berdasarkan hasil identifikasi serta uji biokimia bakteri diperoleh 1 isolat bakteri murni yaitu BP-1 dengan ciri-ciri *Pseudomonas* sp. DNA isolat bakteri BP-1 diisolasi dan PCR dilakukan dengan primer yang spesifik mengamplifikasi fragmen gen *algD* menggunakan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC sebagai kontrol, Produk PCR divisualisasikan pada gel elektroforesis lalu disekuensing dan dianalisis secara bioinformatika dengan program BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*). Amplikon gen *algD* isolat bakteri BP-1 tampak sebagai pita DNA berukuran ~ 1310 bp. Hasil analisis BLAST menunjukkan bahwa isolat BP-1 memiliki kekerabatan dengan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* strain US449 dengan tingkat kemiripan sebesar 100%. Berdasarkan hasil penelitian maka isolat BP-1 teridentifikasi sebagai *Pseudomonas aeruginosa* strain BP-1.

Kata Kunci : gen *algD*, identifikasi molekuler, penyakit infeksi, *Pseudomonas aeruginosa*, PCR

Abstract

Cystic fibrosis and nosocomial infections caused by Pseudomonas aeruginosa bacteria are still common in Indonesia, so early detection of these infectious bacteria needs to be done to eradicate them. Detection of P. aeruginosa can be done accurately based on the algD gene encoding alginate using the Polymerase Chain Reaction (PCR) method. Alginate is a slimy exopolysaccharide layer that makes up the biofilm that surrounds P. aeruginosa bacteria and is a virulence factor for these bacteria. The purpose of this study was to detect P. aeruginosa based on PCR through amplification of the algD in wound pus. The

sample for bacterial isolation came from a 5-year-old boy's foot wound that produced pus (pus). The sub-culture process was carried out at the Microbiology Laboratory, University of Muhammadiyah Semarang. Based on the results of bacterial identification and biochemical tests, 1 pure bacterial isolate was obtained, namely BP-1 with the characteristics of *Pseudomonas* sp. The DNA of the BP-1 bacterial isolate was isolated and PCR was performed with a specific primer to amplify the *algD* gene fragment using *Pseudomonas aeruginosa* ATCC as control. The PCR product was visualized on gel electrophoresis and then sequenced and analyzed bioinformatically using the BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) program. The amplicon of the *algD* gene of isolate BP-1 appears as a DNA band sized ~ 1310 bp. The results of the BLAST analysis showed that the BP-1 isolate was related to the bacterium *P. aeruginosa* strain US449 with a similarity level of 100% based on *algD* sequence. Based on the results of the study, isolate BP-1 was identified as *Pseudomonas aeruginosa* strain BP-1.

Keywords: Infectious disease, molecular identification, *Pseudomonas aeruginosa*, *algD* gene, PCR

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi adalah penyakit yang disebabkan oleh mikroba patogen yang bersifat dinamis (Zahrah *et al.*, 2021). Penyakit infeksi merupakan salah satu penyakit yang paling banyak diderita oleh penduduk dan menjadi penyebab utama kematian pada negara berkembang termasuk Indonesia (Radija, 2011; Dewi dan Kadir, 2020). Salah satu penyebab penyakit infeksi adalah mikroorganisme seperti bakteri. Bakteri merupakan mikroorganisme yang tidak dapat dilihat dengan kasat mata, tetapi dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* merupakan salah satu bakteri penyebab penyakit infeksi yang paling sering ditemukan. *P. aeruginosa* sering ditemukan terdapat pada flora usus dan kulit manusia. dan merupakan patogen utama dalam grup *Pseudomonas* (Gunawan *et al.*, 2019).

P. aeruginosa merupakan bakteri patogen oportunistik manusia, bakteri Gram negatif, yang bersifat inpasif dan toksigenik, yang dapat menyebabkan infeksi pada tubuh. Bakteri ini merupakan salah satu penyebab terjadinya infeksi nosokomial. Angka kejadian infeksi nosokomial di dunia yang disebabkan oleh bakteri *P. aeruginosa* sekitar 10-15% dan sekitar 10-20% pada unit perawatan intensif (ICU), biasanya terjadi pada pasien infeksi luka pus, luka bakar, *cystic fibriosis*, dan septikemia (Wisdom *et al.*, 2021; Gunawan *et al.*, 2019).

P.aeruginosa menghasilkan sejumlah faktor virulensi setelah proses kolonisasi yang menyebabkan kerusakan jaringan luas, invasi aliran darah dan penyebarannya. Faktor virulensi menyebabkan patogenitas dan dapat mempengaruhi dalam respon imun (Turkina dan Vikstrom, 2019). Bakteri *P. aeruginosa* mensintesis eksopolisakarida yang disebut *alginate* (*algD*). *Alginate* merupakan lapisan eksopolisakarida berlendir yang mengelilingi bakteri *P. aeruginosa* yang dapat memfasilitasi kolonisasi bakteri dan memiliki peran dalam perlindungan sel-sel yang menginfeksi dari pertahanan kekebalan inang dan terapi antibiotik. Transkripsi

gen biosintetik *alginate* diinduksi oleh perekatan substrat dan mengarah pada peningkatan produksi *alginate* pada permukaan biofilm (Namuq et al., 2019).

Gen *algD* memiliki peran penting bagi bakteri *P. aeruginosa*. Gen *algD* mengkode GDP *mannose dehydrogenase* merupakan suatu enzim penting dari jalur biosintetik *alginate* dan polimer yang mewakili mekanisme perlindungan penting bagi bakteri. Gen *algD* bertanggung jawab untuk sintesis *polisakarida alginate kapsul* dan faktor virulensi dalam kasus *cystic fibrosis*.

Identifikasi dan karakterisasi bakteri dilakukan dengan metode kultur pada media *Mac Conkey Agar* (MCA), Pewarnaan Gram, dan uji biokimia (Purwaningsih dan Wulandari, 2021). Deteksi dan identifikasi bakteri *P. aeruginosa* juga dapat dilakukan menggunakan teknik *polymerase chain reaction* (PCR) melalui amplifikasi gen spesifik (Windari et al., 2015). PCR merupakan metode enzimatik untuk amplifikasi DNA dengan cara *in vitro*. Keunggulan PCR dalam hal kecepatan, spesifitas dan sensitifitasnya dalam mendeteksi suatu mikroorganisme menjadikan PCR sebagai “*method of choice*” (Fazri et al., 2019).

Penelitian mengenai deteksi gen berbasis PCR pada *P. aeruginosa* telah dipublikasikan oleh (Al-Draghi dan Saeed, 2020) diketahui bahwa (98%) dari total isolat *P. aeruginosa* ditemukan gen *algD*. Penelitian terkait deteksi gen *algD* berbasis PCR pada *P. aeruginosa* isolat pus luka yang tersimpan di lab Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Semarang belum pernah dilaporkan. Deteksi bakteri kaitannya dengan eradikasi penyakit sangat penting, gen *algD* bertanggung jawab untuk sintesis *polisakarida alginate kapsul* dan faktor virulensi dalam kasus *cystic fibrosis*.

METODE

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian empiris yang di dukung eksperimen dan studi pustaka. Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat pus luka dari pasien anak kecil berusia 5 tahun yang tertusuk paku di bagian kaki di Semarang yang telah tersimpan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Semarang. subkultur atau peremajaan isolat dilakukan peremajaan pada media BHIB (*Brain Heart Infusion Broth*). Isolat hasil sub-kultur diidentifikasi secara biokimia dan molekuler dengan metode PCR dengan primer spesifik untuk mengamplifikasi gen *algD*, yaitu , Produk PCR divisualisaikan pada gel elektroforesis lalu disekuensing dengan metode Sanger di PT Genetika Science dan dianalisis secara bioinformatika dengan program BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*).

HASIL

Hasil sub kultur isolat bakteri yang berasal dari pus luka (BP-1 = *Boy's Pus 1*) berupa suspensi yang dibandingkan dengan isolate *Pseudomonas aeruginosa* ATCC ditunjukkan pada Gambar 1.

Gambar 1. Suspensi isolat bakteri *A. P. aeruginosa* (ATCC) dan B. Sampel pada media *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB)



1. Isolasi dan Identifikasi Koloni Bakteri

Hasil isolat pus (nanah) luka yang di tanam dari media BHIB dipindahkan ke media MCA dengan metode goresan dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasilnya ditunjukkan pada gambar 2.

Gambar 2.

Hasil Pengamatan koloni bakteri isolat pus luka pada Media MCA

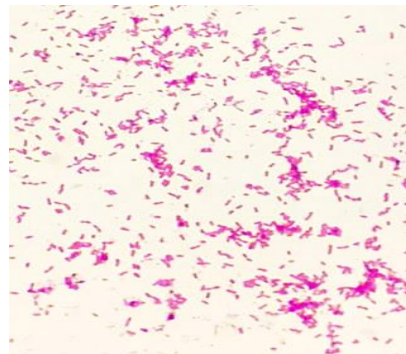


Hasil isolasi bakteri pada media MCA cawan petri (Gambar 2) diperoleh satu koloni berwarna hijau dan mempunyai ciri-ciri bentuk bulat (*circular*), warna hijau, ukuran sedang, tepi (*entire*) sedang, elevasi (*convex*) cembung, dan konsistensi lembut (*smooth*). Ciri-ciri tersebut memenuhi karakteristik koloni Bakteri *P. aeruginosa*.

2. Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dilakukan untuk mengetahui bentuk dan morfologi koloni bakteri secara mikroskopis dengan perbesaran 1000x dan penambahan oil imersi:

Gambar 3.
Hasil pewarnaan Gram bakteri isolat pus luka



Hasil dari pewarnaan Gram (Gambar 3) menunjukkan bahwa koloni bakteri mempunyai ciri-ciri berbentuk basil, susunan soliter, dan bewarna merah (Gram negatif).

3. Uji Biokimia

Uji biokimia pada koloni bakteri yang diambil dari media MCA yang sudah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C ditunjukkan pada Gambar 4.

Gambar 4.
Hasil uji Biokimia Indol, MR,VP, Sitrat, SIM, Urease,
TSIA, Glukosa, Laktosa dan Sukrosa terhadap isolat bakteri pus luka



Berdasarkan hasil pada Gambar 4, uji biokimia bakteri isolat pus luka BP-1 menunjukkan hasil positif pada uji motilitas dan sitrat sedangkan hasil negatif pada uji indol, MR, VP, urea, glukosa, laktosa, dan sukrosa. Hasil uji TSIA terlihat pada lereng dan dasar berwarna merah (K/K) dengan tidak terbentuk gas dan sulfur.

4. Isolasi DNA Koloni Bakteri

Koloni yang sudah dimurnikan kemudian diinokulasikan pada media BHIB dan diinkubasi selama 48 jam (2 hari) pada suhu 37°C untuk dilakukan isolasi DNA bakteri. Isolasi DNA genom dengan metode *spin column* dilakukan menggunakan

prosedur standart *Geneaid Presto™ Mini gDNA Bacteria Kit*. Secara umum tahapan isolasi DNA yang dilakukan adalah persiapan pada sampel, pelisisan, pengikatan DNA, pencucian DNA dan elusi DNA.

5. Hasil Kemurnian DNA Bakteri

Uji kemurnian DNA terhadap kontaminan dilakukan menggunakan spektrofotometer nanno drop dengan nilai maksimal DNA yang dapat diserap dengan panjang gelombang λ 260 nm dan dapat digunakan untuk memperkirakan konsentrasi DNA, sedangkan nilai maksimal residu protein atau fenol dapat diserap dengan panjang gelombang λ 280 nm. Hasil uji kemurnian dapat dilihat pada tabel:

Tabel 1.
Hasil Kemurnian DNA Bakteri Menggunakan Nanno drop

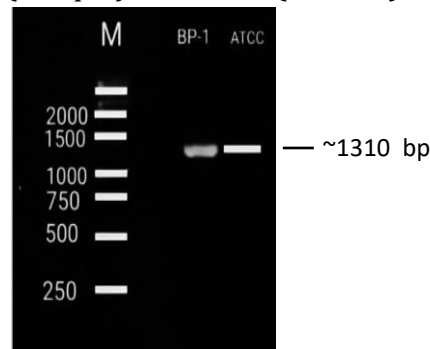
Kode sampel	Konsentrasi DNA (ug/uL)	A260/280	Sampel
BP-1	145,85	1,931	DNA
ATCC	160,68	1,955	DNA

Sampel kode BP-1 mempunyai konsentrasi DNA = 145,85 ug/uL sedangkan sampel kode ATCC 160,6 ug/ul. Sedangkan hasil uji kemurnian DNA pada panjang gelombang A260 dan 280 menunjukkan hasil rasio = 1,931 sedangkan ATCC = 1,955. Molekul DNA dikatakan murni jika rasio absorbansinya berkisar antara 1,80 – 2,00 sehingga dapat digunakan sebagai DNA *template* untuk PCR gen *algD*.

6. Amplifikasi PCR gen *algD*

Isolasi DNA sampel dan kontrol telah dilakukan dan diketahui nilai kemurnian DNA hasil isolasinya menggunakan spektrofotometer nannodrop. DNA ini kemudian digunakan sebagai *template* dalam proses amplifikasi menggunakan primer gen *algD*. Produk dari hasil PCR sampel dan kontrol pada gel agarosa 2% kemudian divisualisasikan dengan alat UV transluminator dan masing-masing menghasilkan pita (*band*) DNA tunggal (Gambar 5).

Gambar 5.
Hasil Visualisasi Elektroforesis Gel Agarosa 2 % Amplifikasi Gen *algD* Isolat BP-1 (sampel) dan ATCC (kontrol)



Hasil visualisasi menunjukkan bahwa pita DNA yang terdiri dari bp (*base pair*), marker, dan sampel menunjukkan hasil amplifikasi sampel memiliki panjang ~1310 bp.

7. Sekuensing gen *algD*

Hasil sekuensing produk PCR berukuran ~1310 dengan metode Sanger yang dilakukan di PT Genetika Science menghasilkan sekuen konsensus berukuran 656 bp. Hasil yang lebih pendek menunjukkan kualitas produk PCR yang masih perlu *clean up*.

Sekuen yang diperoleh tersebut kemudian dianalisis secara bioinformatika dan dicocokkan hasilnya pada Gen bank www.ncbi.nlm.nih.gov melalui program BLAST. Analisis BLAST dengan menyesuaikan urutan nukleotida dari spesies bakteri yang menunjukkan nama bakteri dan tingkat kesamaan urutan nukleotida Genbank (Tabel 2).

Tabel 2.
Hasil BLAST NCBI Gen *algD* strain BP-1

Kode Sampel	Acession Number	Ukuran Basa (bp)	Kedekatan Spesies	Query Cover
BP-1	CP091880.1	656 bp	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100 %

Hasil pesejajaran sekuen DNA menggunakan program BLAST menunjukkan bahwa sampel yang diteliti *Pseudomonas aeruginosa* strain BP-1 memiliki homogenitas yang sangat mirip dengan sekuen *Pseudomonas aeruginosa* strain US449 dengan dengan nilai *query cover* sebesar 100 %. Hasil ini menunjukkan sekuen memiliki spesies *Pseudomonas aeruginosa* dengan presen kemiripan 100%.

Isolasi dan identifikasi bakteri hasil sub kultur yang disimpan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Semarang, sampel yang digunakan berasal dari anak laki-laki berusia 5 tahun yang mengalami luka pada bagian kaki dan mengeluarkan pus (nanah). Peremajaan bakteri dilakukan agar bakteri dapat memulai metabolisme kembali, dengan mengambil satu jarum ose pada biakan murni kemudian digoreskan dalam biakan medium agar diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Wijayati *et al.*, 2014).

Purifikasi koloni dilakukan dengan cara menggoreskan koloni bakteri ke media agar MCA diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam sampai mendapatkan koloni murni atau tunggal. Jarum ose digunakan untuk memisahkan koloni bakteri berdasarkan perbedaan warna dan bentuk koloni bakteri yang tumbuh pada media agar MCA. Pewarnaan Gram dilakukan pada isolate BP-1 untuk mengetahui karakteristik makroskopis dan mikroskopis bakteri bersifat Gram positif atau Gram negatif, dengan melakukan pengamatan dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000x menggunakan minyak imersi. Bakteri Gram negatif tidak dapat menahan kompleks zat warna iodin dan menjadi translusen, bakteri dapat diwarnai lagi dengan safranin (zat berwarna merah) sehingga sel bakteri Gram negatif (Waluyo, 2018).

Uji biokimia merupakan salah satu uji yang digunakan untuk menentukan spesies bakteri melalui sifat-sifat fisiologinya (Inayatul *et al.*, 2018; Safitri *et al.*, 2018). Sampel isolate BP-1 dilakukan uji biokimia antara lain ; uji indol, MR-VP, SIM, sitrat, urea, TSIA, serta uji gula-gula seperti glukosa, laktosa dan sukrosa. Uji biokimia positif pada uji motilitas dan uji citrate. Uji motilitas yang positif ditandai dengan adanya pertumbuhan dan penyebaran kekeruhan bakteri pada seluruh media. Pengamatan pada medium citrat positif berwarna biru artinya *p. aeruginosa* menggunakan sitrat sebagai sumber karbon (Purwaningsih dan Wulandari, 2021).

Uji identifikasi molekuler dilakukan dengan tahapan pertama adalah isolasi DNA bakteri. Isolasi DNA bakteri dilakukan pada sampel isolate bakteri BP-1 menggunakan metode *solid base* dengan merek *Geneaid Presto™ Mini gDNA Bacteria Kit*. Metode ini bertujuan untuk pemurnian DNA genomik dan virus dari bakteri Gram (-) dan Gram (+), darah dan cairan biologis. Metode ini memiliki banyak keunggulan mudah cepat dalam pengerjaannya serta kualitas DNA yang dihasilkan relatif murni dan banyak digunakan oleh para peneliti dalam memeriksa material genetik (Ariyanti dan Sianturi, 2019).

Isolasi DNA merupakan tahapan yang penting dalam teknik molekuler untuk mendapatkan isolat DNA. Isolat DNA yang akan diamplifikasi menggunakan PCR dilakukan pengukuran konsentrasi dan kemurnian DNA dapat diukur menggunakan spektrofotometer NanoDrop. Prinsipnya adalah menghitung perbedaan penyerapan cahaya UV dimana pita ganda DNA dapat menyerap cahaya UV pada 260 nm karena DNA mengandung basa purin dan pirimidin yang mampu menyerap sinar ultraviolet pada panjang gelombang 260 nm, sedangkan

kontaminan protein atau fenol dapat menyerap cahaya pada 280 nm. Nilai kemurnian DNA dihitung dengan cara absorbansi 260 nm dibagi dengan nilai absorbansi 280 ($\frac{A_{260}}{A_{280}}$). Isolat DNA dikatakan murni jika rasio absorbansi berada pada rentang 1,8 - 2,0 (Yusuf, 2010; Fatichiyah *et al.*, 2012).

Hasil isolasi DNA isolate BP-1 dan ATCC dilakukan amplifikasi fragmen DNA gen *algD* menggunakan mesin PCR konvensional (*thermal Cycler*) dengan primer *algD* R dan *algD* F dengan ukuran pita-1310 bp. Hasil PCR dilakukan elektroforesis melalui gel agarosa 2 % dan divisualisasikan menggunakan UV transumulator. Teknik ini merupakan teknik pemisahan yang sederhana, cepat dan tepat memisahkan molekul DNA. Hasil gel elektroforesis produk amplifikasi fragmen gen *algD* dapat dilihat pada gambar 6. Penelitian mengenai deteksi gen berbasis PCR pada *P. aeruginosa* telah dipublikasikan oleh (Al-Drighi dan Saeed, 2020) diketahui bahwa pada 98% dari total isolat *P. aeruginosa* ditemukan gen *algD*.

Gen *algD* mengkode GDP *mannose dehydrogenase*, suatu enzim penting dari jalur biosintetik *alginate* dan polimer yang mewakili mekanisme perlindungan penting bagi bakteri. Gen *algD* bertanggung jawab untuk sintesis *polisakarida alginate kapsul* dan faktor virulensi dalam kasus *cystic fibriosis*. Gen *algD* memiliki peran dalam adhesi bakteri dan resistensi terhadap antibiotik dan melindungi dari proses dehidrasi, bekerja sebagai kapsul menghangatkan bakteri dalam proses fagositosis dalam jaringan dan mengurangi efektivitas respon imun.. Transkripsi gen biosintetik *alginate* diinduksi oleh perekatan substrat dan mengarah pada peningkatan produksi *alginate* pada permukaan biofilm (Namuq *et al.*, 2019).

Berdasarkan gambar hasil amplifikasi gen *algD* diperoleh pita DNA gen *algD* berukuran-1310 bp. Ketebalan pita DNA dipengaruhi oleh jumlah DNA yang terisolasi. Semakin banyak DNA yang terisolasi maka semakin tebal pita DNA sedangkan semakin sedikit DNA yang terisolasi maka semakin tipis pita DNA yang tervisualisasi pada gel agarose (Wijaya *et al.*, 2018). Distorsi pita berupa terbentuknya pita yang tidak lurus, melengkung ke luar, melengkung ke dalam dan miring dapat berasal dari suasana gel dan jenis *buffer* (Intarapanich *et al.*, 2015).

Hasil amplifikasi DNA dikirimkan ke PT. Genetika *science* Indonesia. Hasil sekuensing dari isolat starin BP-1 dilakukan Analisis hasil sekuens menggunakan Boedit *software* DNA *Base Assembler* yang selanjutnya data dicocokkan dengan data di gene bank *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) pada *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), *National Institute for Health*, USA pada Website <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/> (Ethica dan Raharjo, 2014). Hasil analisis BLAST dengan menyesuaikan urutan nukleotida dari spesies bakteri dapat menunjukkan nama bakteri dan tingkat kesamaan urutan nukleotida ke dalam database *Gene Bank* (Yuka *et al.*, 2020).

Hasil pensejajaran sekuen DNA menggunakan program BLAST menunjukkan bahwa sampel yang diteliti *Pseudomonas aeruginosa* starin BP-1 memiliki homogenitas yang sangat mirip dengan sekuen *Pseudomonas aeruginosa* strain

US449 dengan dengan nilai *query cover* sebesar 100 %. Hasil ini menunjukkan sekuen memiliki spesies *pseudomonas aeruginosa* dengan presen kemiripan 100%. Analisis hasil BLAST memberikan informasi mengenai organisme yang mempunyai kesamaan dengan urutan DNA pada sampel yang diteliti sehingga dapat digunakan untuk identifikasi suatu organisme. Sekuen *Gene Bank* yang paling mirip dicirikan dengan nilai *Max Score* dan *Total Score* yang sama, *Query Coverage* mendekati 100%, *E-value* mendekati 0, dan *Max Ident* mendekati 100% (Narita *et al.*, 2014).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa isolat bakteri dari pus luka anak laki-laki yang berusia 5 tahun (kode BP-1, *Boy's Pus-1*). yang disimpan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Semarang, yang telah diremajakan secara biokimia menunjukkan ciri bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Strain BP-1 teridentifikasi secara molekuler berbasis PCR menggunakan target sekuen gen *algD* menunjukkan tingkat kemiripan tertinggi dengan sekuen gen *algD* bakteri *Pseudomonas aeruginosa* strain US449 (kode akses CP091880.1).

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Draghi, W.A.H., Saeed, R.A.A.K., 2020. Synergistic Effect of Amikacin and Ciprofloxacin on *PelA* and *AlgD* genes in *Pseudomonas aeruginosa*. Indian J. Forensic Med. Toxicol. 14, 1608–1614.
- Ariyanti, Y., Sianturi, S., 2019. Ekstraksi DNA Total dari Sumber Jaringan Hewan (Ikan Kerapu) menggunakan Metode Kit for Animal tissue, J. Sci. Appl. Technol. 3,40.
- Bhattacharjee, M.J., Laskar, B.A., Dhar, B., Ghosh, S.K., 2012. Identification and Re-Evaluation of Freshwater Catfishes through DNA Barcoding. Plos One 7.
- Dewi, R.K., bin abd Kadir, M., 2020. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Buah Kecombrang (*Nicola speciosa*) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Java Heal. Jounal 4.
- Ethica, S.N., Raharjo, T.J., 2014. Detection of Genes Involved in Glycerol Metabolism of *Alcaligenes sp.* JG3. Dr. Diss. Univ. Gadjah Mada.
- Fazri, M., Kartika, A.I., Darmawati, S., Ethica, S.N., 2019. Isolasi dan Identifikasi Molekuler Bakteri *Staphylococcus epidermis* pada Rusip Udang Windu (*Penaeus monodon*) Pasca Fermentasi 24 Jam Berdasarkan Sekuen Gen 16S rRNA. Pros. Mhs. Semin. Nas. Unimus 1, 208–216.
- Geneaid, 2017. Presto TM Mini Gdna Bacteria Kit, Geneaid.
- Gunawan, K., Farrasizdihar, D., Wau, T.P.K., Ziraluo, E.C., Lubis, Y.E.P., 2019. Uji efektivitas antibakteri ekstrak buah kesemek (*Diospyros kaki*) terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Semin. Nas. Teknol. Komput. Sains 1, 166–169.

- Inayatul, W.O., Muchlissin, S.I., Mukaromah, A.H., Darmawati, S., Ethica, S.N., 2018. Isolasi Dan Identifikasi Molekuler Bakteri Penghasil Enzim Protease *Pseudomonas Stutzeri* ISTD4 dari Tempe Gembus Pasca Fermentasi 1 Hari. Semin. Nas. Edusaintek 102–109.
- Intarapanich, A., Kaewkamnerd, S., Shaw, P.J., Ukosakit, K., Tragoonrungs, S. and Tongshima, S., 2015. Automatic DNA diagnosis for 1D gel electrophoresis images using bio-image processing technique. *BMC genomics*, 16(12), pp.1-11.
- Namuq, A.O., Ali, K.O.M., Al-ani, A.H., 2019. Correlation Between Biofilm Formation , Multi-Drug Resistance and AlgD Gene among *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Isolates. *J. Univ. Babylon Pure Appl. Sci.* 143–150.
- Narita, V., Arum, A.L., Isnaeni M, S., Fawzya, N.Y., 2014. WEB-Based Bioinformatics Analysis for Exploration Chitosanase Enzymes Based on Sequence Similarities. *J. Al-AZHAR* 1, 197.
- Purwaningsih, D., Wulandari, D., 2021. Uji Aktivitas Antibakteri Hasil Fermentasi Bakteri Endofit Umbi Talas (*Colocasia esculenta L*) terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Potential of Antibacterial Compound Fermentation of Endophytic Bacteria from Taro Tuber (*Colocasia esculenta L.*) againts. *J. Sains Kes.* 2021 3, 750.
- Safitri, R., Muchlissin, S.I., Mukaromah, A.H., Darmawati, S., Ethica, S.N., 2018. Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Protease *Bacillus thuringiensis* Pada Oncom Merah Pasca Fermentasi 24 Jam dan Identifikasi Molekuler Bakteri Berbasis Gen 16S rRNA. Semin. Nas. Edusainstek 31–39.
- Serisana Wasita, I., Agus Hendrayana, I., 2016. Identifikasi Bakteri *Escherichia Coli* Serotipe 0157 Dengan Media Sorbitol Mac Conkey Agar (Smac) Pada Jamu Beras Kencur Dari Pedagang Jam Gendong Di Kota Denpasar. *E-Jurnal Med. Udayana* 5, 1–13.
- Turkina, M. V, Vikström, E., 2019. Bacteria-host crosstalk: Sensing of the Quorum in the Context of *Pseudomonas aeruginosa* Infections. *J. Innate Immun.* 11, 263–279.
- Waluyo, L., 2018. *Bioremediasi Limbah: Limbah* (Vol. 1). UMMPress.
- Wijayati, N., Astutiningsih, C., Mulyati, S., Artikel, I., 2014. Transformasi α -Pinena dengan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25923. *Biosaintifika J. Biol. Biol. Educ.* 6, 24–28.
- Windari, U., Joko, T., Subandiyah, S., 2015. Deteksi Penyakit Bacterial Fruit blotch pada Melon menggunakan ELISA. *J. Perlindungan Tanam. Indones.* 19, 1–5.
- Wisdom, N.O., Nnaemeka J.O., Ndubueze, C.W., Dike-Ndudim, J.N., 2021. Antibacterial effect of *Chromolaena odorata* (Awolowo Leaf) aqueous leaf extract on *Pseudomonas aeruginosa* induced gastrointestinal tract infection in adult Wistar rat. *GSC*
- Yuka, R.A., Setyawan, A., Supono, 2020. Identifikasi Bakteri Pendegradasi tan (Totak Ammonia Nitrogen) dari Tambak Udang Vanname di Lampung Timur.



Aquatropic Asia.

Yusuf, Z.K., 2010. Polymerase Chain Reaction (PCR). Saintek 5, 6.

Zahrah, T.H., Dewi, A.P., Safari, W.F., 2021. Perbandingan Efektivitas Hand Sanitizer dengan Tisu Basah Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Public Heal. Saf. Int. J. 1, 9–15.