

SKRIPSI

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI GEN Rv1419 PADA
Mycobacterium tuberculosis DARI PASIEN *MULTI DRUG RESISTANT*
TUBERCULOSIS DI KOTA MAKASSAR**

**FIRAZH AHMADILLA MA'GA
H041 19 1006**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI GEN Rv1419 PADA
Mycobacterium tuberculosis DARI PASIEN MULTI DRUG RESISTANT
TUBERCULOSIS DI KOTA MAKASSAR**

SKRIPSI

*Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana pada
program studi strata satu (S-1) pada Program Studi Biologi,
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin*



Disusun dan diajukan oleh

FIRAZH AHMADILLA MA'GA

H041 19 1006

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI GEN Rv1419 PADA
Mycobacterium tuberculosis DARI PASIEN MULTI DRUG RESISTANT
TUBERCULOSIS DI KOTA MAKASSAR**

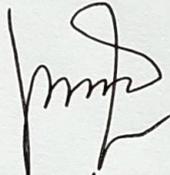
Disusun dan diajukan oleh

**FIRAZH AHMADILLA MA'GA
H041 19 1006**

**Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Skripsi yang dibentuk
dalam rangka penyelesaian studi program Sarjana pada
Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Hasanuddin, pada tanggal 3 Agustus 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan**

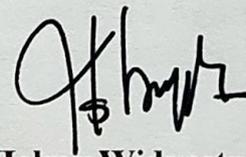
Menyetujui,

Pembimbing Utama,



Dr. Rosana Agus, M.Si.
NIP 19650905 199103 2 003

Pembimbing Pertama,



Dr. Helmy Widyastuti, M.Si.
NIP 19801204 200801 2 013

Ketua Program Studi,



Dr. Magdalena Litaay, M.Sc.
NIP 19640929 198903 2 002

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Firazh Ahmadilla Ma'ga
NIM : H041191006
Program Studi : Biologi
Jenjang : S-1

Menyatakan dengan ini bahwa skripsi saya berjudul:

“Isolasi dan Identifikasi Gen Rv1419 pada *Mycobacterium tuberculosis* dari
Pasien *Multi Drug Resistant Tuberculosis* di Kota Makassar”

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilalihan tulisan orang lain, bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 14 Agustus 2023
Yang menyatakan,



Firazh Ahmadilla Ma'ga

KATA PENGANTAR

Assalamu 'alaikum warahmatullahi wabarakatuh,

Penulis memanjatkan segala puji dan penuh syukur kehadirat Allah *Subhanahu Wa Ta'ala*, sebagai Tuhan Yang Maha Esa atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya yang tak terhingga, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulis senantiasa mencurahkan selawat dan salam kepada Rasulullah yang terakhir, Nabi Muhammad *Shallallahu 'Alaihi Wasallam* sebagai nabi akhir zaman, yang telah menuntun umatnya dari zaman kebodohan menuju zaman penuh ilmu pengetahuan seperti saat ini, juga teladan terbaik bagi umat manusia.

Skripsi dengan judul “Isolasi dan Identifikasi Gen Rv1419 pada *Mycobacterium tuberculosis* dari Pasien *Multi Drug Resistant Tuberculosis* di Kota Makassar”. Skripsi ini disusun sebagai syarat dalam menyelesaikan pendidikan sarjana pada Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. Skripsi ini berisi tentang laporan hasil penelitian di bidang genetika, untuk memberikan informasi tentang keberadaan gen Rv1419 pada pasien tuberkulosis dengan kategori *Multi Drug Resistant* di Kota Makassar.

Selama penelitian hingga penyusunan skripsi ini dilaksanakan, penulis tak henti-hentinya didukung oleh berbagai bantuan dalam mengatasi berbagai masalah dan kendala yang dihadapi sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih yang tidak terhingga kepada Ayahanda Sersan Mayor Ma'ga dan Ibunda Jerni Hasil, sebagai orang tua penulis atas segala rasa cinta serta kasih sayang yang sungguh penuh, dan dengan berbagai jerih

payahnya yang telah membesarkan, mendidik, serta upayanya yang tidak pernah terputus dalam mendoakan serta memberikan dukungan baik moral serta materi kepada penulis. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada adik-adik penulis yang tersayang, Firania Dwi Faradilla Ma'ga dan Firga Farizh Abdillah Ma'ga, serta anggota keluarga penulis lainnya yang senantiasa memberikan bantuan yang menjadi semangat bagi penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis juga mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Ibu Dr. Rosana Agus, M.Si. sebagai pembimbing utama, dan Ibu Dr. Helmy Widyastuti, M.Si. sebagai pembimbing pertama yang telah memberikan bimbingan, dukungan, arahan, dan motivasi berupa kritik dan saran, serta bersedia meluangkan waktu dalam menuntun penulis selama penyusunan skripsi ini.

Dalam penyusunan skripsi ini hingga selesai, tentunya tidak lepas dari berbagai bimbingan, dukungan, kerja sama dan bantuan dari berbagai pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Rektor Universitas Hasanuddin, Bapak Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc., beserta staf.
2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Bapak Dr. Eng. Amiruddin, M.Si., beserta staf yang telah membantu penulis dalam urusan akademik dan administrasi.
3. Ketua Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Ibu Dr. Magdalena Litaay, M.Sc. Terima

kasih banyak kepada ibu atas segala ilmu, kontribusi, dan saran kepada penulis selama perkuliahan dari semester pertama hingga semester akhir ini.

4. Bapak Dody Priosambodo, S.Si., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Akademik penulis serta penguji skripsi. Terima kasih kepada bapak yang senantiasa memberikan bimbingan akademik serta saran-saran kepada penulis dari awal perkuliahan hingga akhir studi, serta memberikan arahan dan saran yang membangun dalam penyelesaian skripsi ini.
5. Ibu Andi Evi Erviani, S.Si., M.Sc. selaku penguji skripsi. Terima kasih kepada ibu yang senantiasa memberikan arahan dan saran yang membangun dalam penyelesaian skripsi ini.
6. Bapak dan Ibu Dosen Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin yang telah mendidik dengan ilmu selama perkuliahan kepada penulis. Terima kasih juga penulis ucapkan kepada para laboran Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin yang telah membantu dan membimbing selama praktikum yang dijalani oleh penulis selama perkuliahan, serta staf Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin yang telah membantu penulis dalam mengurus dokumen administrasi penulis selama perkuliahan.
7. Seluruh pegawai, staf, analis dan laboran pada laboratorium *Hasanuddin University Medical Research Center (HUM-RC)* Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, terkhusus kepada Kakak Nur Samsi, S.Si. selaku pembimbing selama penelitian dilaksanakan, sehingga dapat diselesaikan

dengan baik. Terima kasih juga penulis ucapkan terkhusus kepada Kakak Marina Binti Ali, S.Si., Kakak Riyan Sukma, S.Si., M.Biomed. serta Ibu Handayani Halik, S.Si., M.Kes. atas segala bantuan, bimbingan serta dukungan selama pelaksanaan penelitian ini.

8. Rekan-rekan seperjuangan, peneliti *Mycobacterium tuberculosis* yaitu Raffi Gani, Noer Zakiah Derajat Sam, Kakak Dedeng Wahyudi, Kakak St. Rahmah, S.Si. dan Kakak Waode Siti Purnamasari, S.Si. yang telah kebersamai selama penelitian dilaksanakan, meneliti gen bakteri Mtb.
9. Sahabat-sahabat penulis sesama peneliti genetika, Geng Genet (GG) Biologi Unhas 2019, yaitu Raffi Gani, Noer Zakiah Derajat Sam, Muhammad Farid, dan Nur Fitrah Amelia yang senantiasa memberikan motivasi, saling tolong menolong dan kebersamai penulis dalam menghadapi segala permasalahan dalam penyelesaian skripsi ini.
10. Saudara-saudara senasib, seperjuangan dan sepenanggungan Biot19ris Himbio FMIPA Unhas angkatan 2019, serta teman-teman seangkatan Biologi Unhas 2019, yang selama ini telah kebersamai, membantu dan memberikan dukungan dan semangat kepada penulis selama perkuliahan.
11. Sahabat-sahabat Harimau Jantan, yaitu Abdul Hayat, Raffi Gani, Muhammad Farid, Henra, Sulfikar, Zulfiqar Lukman, Yusuf Hamonangan Nainggolan, Muh. Alfarabi Fadhil dan Muhammad Fadhil Banjar yang selalu ada dalam memberikan bantuan dan semangat kepada penulis.
12. Keluarga Himbio FMIPA Unhas dan KM FMIPA Unhas, sebagai wadah penulis dalam berorganisasi selama berkuliah di Universitas Hasanuddin.

13. Keluarga Posko Ayang, Posko 14 KKN Tematik Smart Village Gelombang 108 Universitas Hasanuddin di Desa Corawali, Kec. Tanete Rilau, Kab. Barru. Terima kasih atas segala motivasi dan kebersamaan kepada penulis selama menyelesaikan skripsi ini.

14. Sahabat-sahabat penulis pada Deputy Kesehatan Generasi Baru Indonesia (GenBI) Komisariat Universitas Hasanuddin Periode 2022/2023. Terima kasih atas segala dukungan, motivasi, semangat dan kebersamaan kepada penulis dalam penyelesaian skripsi ini.

Sebagai manusia biasa, penulis tentu menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna dan masih banyak kekurangan. Oleh karena itu, segala kritik dan saran membangun yang telah diberikan dari semua pihak, penulis mengucapkan banyak terima kasih. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Wassalamu 'alaikum warahmatullahi wabarakatuh.

Makassar, 3 Agustus 2023

Firazh Ahmadilla Ma'ga

ABSTRAK

Tuberkulosis (TB) adalah penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), yang ditandai dengan gejala utama batuk selama 2 minggu atau lebih, serta gejala lainnya seperti malaise, keringat pada malam hari, demam, hemoptisis, dan berat badan yang turun drastis. Penyakit TB termasuk dalam sepuluh besar penyakit menular sebagai penyebab kematian terbanyak di dunia saat ini sehingga masih menjadi masalah kesehatan masyarakat dunia. Salah satu langkah yang dapat digunakan dalam diagnosis penyakit adalah dengan mengisolasi dan mengidentifikasi gen pada suatu penyakit tersebut dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Rv1419 adalah gen dengan 474 susunan nukleotida, yang mengode 157 asam amino dan 33 asam amino N-terminal. Protein sMTL-13 berperan pada proses masuknya bakteri dalam makrofag induk yang berasal dari manusia. Protein ini juga dapat terlibat dalam berbagai proses dari aktivitas biologis bakteri, misalnya adhesi sel-sel, mitosis sel dan imunitas bawaan. Protein sMTL-13 juga dapat memicu respon imun spesifik, yang merangsang sistem imun berupa sitokin IFN- γ . Penelitian mengenai isolasi dan identifikasi gen Rv1419 dari pasien *multi-drug resistant* (MDR) di Kota Makassar dilakukan dengan tujuan memberikan informasi tentang keberadaan gen Rv1419 pada pasien tuberkulosis dengan kategori *Multi-drug Resistant* di Kota Makassar. Metode yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu pemilihan dan dekontaminasi sputum, pewarnaan Ziehl-Neelsen, isolasi dan ekstraksi DNA sampel, amplifikasi gen Rv1419 dengan teknik PCR, dan elektroforesis produk PCR. Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, bahwa produk PCR yang telah diamplifikasi serta divisualisasikan dengan elektroforesis pada gel agarosa menunjukkan hasil positif mengandung gen Rv1419 dengan panjang 474 bp, sehingga gen ini berhasil diisolasi dan diidentifikasi pada sampel yang berasal dari pasien *multi-drug resistant tuberculosis* (MDR-TB) di Kota Makassar.

Kata kunci: Tuberkulosis, MDR-TB, Gen Rv1419, Isolasi, PCR.

ABSTRACT

Tuberculosis (TB) is a disease caused by Mycobacterium tuberculosis bacterial infection (Mtb), which is characterized by the main symptoms of cough for two weeks or more, as well as other symptoms such as nausea, night sweats, fever, hemoptysis, and drastic weight loss. TB disease is among the top 10 infectious diseases and the leading cause of death in the world today, so it is still a global public health problem. One of the steps that can be used in the diagnosis of a disease is to isolate and identify genes in the disease by the Polymerase Chain Reaction (PCR) technique. Rv1419 is a gene with 474 nucleotide arrangements that codes for 157 amino acids and 33 N-terminal amino acids. The sMTL-13 protein plays a role in the process of entering bacteria into human macrophages. These proteins can also be involved in various processes of bacterial biological activity, such as cell adherence, cell mitosis, and innate immunity. The sMTL-13 protein can also cause a specific immune response, which stimulates the immune system in the form of IFN- γ cytokines. Research on the isolation and identification of the Rv1419 gene from multi-drug-resistant patients (MDR) in Makassar City was carried out to provide information on the existence of the gene Rv 1419 in tuberculosis patients with the category Multi-Drug Resistant in Makassar City. The methods carried out in this study are sputum selection and decontamination, Ziehl-Neelsen bacterial coloring, DNA sampling and extraction, Rv1419 gene amplification with PCR techniques, and PCR product electrophoresis. Based on this research, we found that the PCR product, which has been amplified and visualized by agarose gel electrophoresis, showed a positive result containing the Rv1419 gene with a length of 474 bp. Therefore, this gene has been successfully isolated and identified in samples from patients with multi-drug resistant tuberculosis (MDR-TB) in the City of Makassar.

Keywords: *Tuberculosis, MDR-TB, gene Rv1419, isolation, PCR.*

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGAJUAN.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	x
ABSTRACT	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang.....	1
I.2 Tujuan Penelitian	4
I.3 Manfaat Penelitian	4
I.4 Waktu dan Tempat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
II.1 Bakteri <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	5
II.2 Patogenesis Tuberkulosis	8
II.3 <i>Multi-drug Resistant Tuberculosis</i> (MDR-TB).....	9
II.4 Gen Rv1419.....	12

II.5 <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).....	14
II.6 Elektroforesis.....	16
BAB III METODE PENELITIAN.....	18
III.1 Alat.....	18
III.2 Bahan.....	18
III.3 Prosedur Penelitian.....	18
III.3.1 Kriteria Sampel.....	18
III.3.2 Dekontaminasi Sputum.....	19
III.3.3 Pewarnaan Ziehl-Neelsen (ZN)	20
III.3.4 Isolasi DNA	21
III.3.5 Amplifikasi Gen Rv1419 <i>Mycobacterium tuberculosis</i> dengan PCR	22
III.3.6 Elektroforesis Produk <i>Polymerase Chain Reaction</i> dan Analisis Data ...	23
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	24
IV.1 Preparasi Sampel.....	24
IV.2 Ekstraksi DNA	28
IV.3 Amplifikasi Gen Rv1419 dengan <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	31
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	37
V.1 Kesimpulan.....	37
V.2 Saran.....	37
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN	45

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Data Pasien Sampel MDR-TB	24

DAFTAR GAMBAR

Nomor		Halaman
1.	Bakteri <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	5
2.	Struktur dinding sel pada <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	7
3.	Penyebaran <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	8
4.	Lokus gen Rv1419 pada <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	13
5.	Hasil pewarnaan Ziehl-Neelsen bakteri Mtb dari Sampel.....	27
6.	Hasil ekstraksi sampel dengan menggunakan Geneaid Kit.....	30
7.	Hasil BLAST <i>forward primer</i> Rv1419	31
8.	Hasil BLAST <i>reverse primer</i> Rv1419	32
9.	Hasil visualisasi elektroforesis produk PCR gen Rv1419.....	34

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Skema Kerja	45
2. Peta <i>Origin</i> antara Primer dan Gen Rv1419 dari DataBank	51
3. Komposisi Bahan	52
4. Dokumentasi Penelitian.....	54

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Tuberkulosis (TB) adalah penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb). Robert Koch memperkenalkan *Mycobacterium tuberculosis* yang menyebabkan penyakit tuberkulosis pada tanggal 24 Maret 1882 di Berlin. Penyakit tuberkulosis ditandai dengan gejala utama batuk selama dua minggu atau lebih. Penderita TB juga dapat mengalami beberapa gejala lainnya seperti malaise, keringat pada malam hari, demam, hemoptisis, dan berat badan yang turun drastis (Loddenkemper dan Murray, 2021).

Penyakit TB adalah penyakit menular pertama yang menjadi penyebab kematian pada skala global. Penyakit TB adalah infeksi yang paling mematikan dalam beberapa waktu terakhir, dengan angka lebih dari satu miliar kematian selama 2.000 tahun terakhir, dan lebih dari 1,5 juta kematian per tahun (Kerner *et al.*, 2021). Di seluruh dunia, diperkirakan terdapat 9,9 juta orang menderita penyakit TB pada tahun 2020, yang angkanya setara dengan 127 kasus per 100.000 penduduk (*World Health Organization*, 2021). Penyakit TB termasuk dalam sepuluh besar penyakit menular sebagai penyebab kematian terbanyak di dunia saat ini. Seperempat dari total populasi dunia diperkirakan terinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*, dan sebagian besar dari jumlah kasus tuberkulosis tersebut terjadi pada masyarakat yang tergolong miskin, terutama pada negara-

negara berpenghasilan rendah dan menengah (Franco dan Peri, 2021). Oleh karena itu, penyakit tuberkulosis masih menjadi masalah kesehatan masyarakat dunia.

Menurut data *World Health Organization* (2021) bahwa negara Indonesia menempati peringkat ketiga penderita TB terbanyak dengan persentase 8,4% secara global dengan angka deteksi kasus TB di Indonesia yakni sebesar 41% (Sakundano dan Jazuli, 2022). Data yang dilaporkan oleh Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (2022) menyebut bahwa jumlah kasus tuberkulosis yang ditemukan pada tahun 2021 sebanyak 397.377 kasus. Jumlah kasus tuberkulosis tersebut meningkat apabila dibandingkan dengan jumlah kasus tuberkulosis yang ditemukan pada tahun 2020 sebesar 351.936 kasus. Provinsi Jawa Barat, Jawa Timur dan Jawa Tengah melaporkan angka kasus TB yang tertinggi dengan menyumbang angka sebesar 44% dari jumlah seluruh kasus TB di Indonesia. Jumlah kasus pada laki-laki lebih tinggi dibandingkan dengan perempuan, baik secara nasional maupun provinsi. Secara nasional, persentase jumlah kasus pada laki-laki lebih banyak yakni sebesar 57,5% dibandingkan dengan persentase 42,5% pada perempuan. Provinsi Sulawesi Selatan menempati peringkat kesembilan dari 34 provinsi di Indonesia dengan angka notifikasi kasus tuberkulosis terbanyak yakni 165 kasus per 100.000 penduduk (Kemenkes, 2022). Pada tahun 2020, jumlah kasus TB di Sulawesi Selatan mencapai 12.203 kasus. Jumlah kasus TB terbanyak di Sulawesi Selatan berada di Kota Makassar dengan 3.255 kasus (Aswi *et al.*, 2021).

Upaya pemberantasan kasus TB yang terjadi pada masyarakat semakin sulit disebabkan karena meningkatnya jumlah penderita TB dengan kategori *multi-drug*

resistant (MDR). Kondisi ini merupakan penyakit TB yang telah mengalami resistan terhadap isoniazid atau *Isonicotinic Acid Hydrasid* (INH) dan rifampisin. Kondisi ini juga disertai dengan resistan satu atau lebih pada jenis Obat Anti Tuberkulosis (OAT) berdasarkan pemeriksaan laboratorium yang terstandar (Carolia dan Mardhiyyah, 2016).

Dalam upaya mengatasi masalah penyakit TB, pencegahan penularan penyakit ini diperlukan sebagai langkah awal yang diterapkan pada masyarakat. Salah satu pencegahan penularan penyakit TB adalah melakukan deteksi untuk mengetahui apakah individu positif menderita penyakit TB. Diagnosis penyakit TB yang cepat dan dini, serta memulai pengobatan yang optimal sejak dini, tidak hanya akan meningkatkan tingkat kesembuhan seorang pasien, tetapi juga akan mengurangi jumlah kasus TB di masa mendatang (Eddabra dan Benhassou, 2018).

Salah satu langkah yang dapat digunakan dalam diagnosis penyakit adalah dengan mengisolasi dan mengidentifikasi gen pada suatu penyakit tersebut. Teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) adalah teknik yang dapat digunakan dalam mengisolasi dan melakukan identifikasi gen (Azyenela dan Marlina, 2016).

Gen Rv1419 adalah gen yang mengode protein *secreted Mycobacterium tuberculosis lectin* (sMTL-13) pada bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Peranan protein sMTL-13 yakni pada proses masuknya bakteri dalam makrofag induk yang berasal dari manusia (Bafica *et al.*, 2015). Gen Rv1419 adalah gen dengan 474 susunan nukleotida, yang mengode 157 asam amino dan 33 asam amino N-terminal. Protein ini juga dapat terlibat dalam aktivitas biologis bakteri, misalnya adhesi sel-sel, mitosis sel dan imunitas bawaan (Liang *et al.*, 2016). Protein ini juga berperan

dalam interaksi *host* yang dapat menyebabkan respon imun spesifik, yang merangsang sistem imun berupa sitokin IFN- γ (Nogueira *et al.*, 2010).

Berdasarkan uraian di atas, maka penelitian mengenai isolasi dan identifikasi gen Rv1419 dari pasien *multi-drug resistant* (MDR) di Kota Makassar dilakukan. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang keberadaan gen Rv1419 pada pasien tuberkulosis dengan kategori *multi-drug resistant* di Kota Makassar.

I.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini dilakukan yaitu untuk mengetahui keberadaan gen Rv1419 dari *Mycobacterium tuberculosis* pada pasien *Multi Drug Resistant* (MDR) *Tuberculosis* di Kota Makassar.

I.3 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini yaitu dapat memberikan informasi tentang keberadaan gen Rv1419 dari *Mycobacterium tuberculosis* pada pasien *Multi Drug Resistant* (MDR) *Tuberculosis*, serta dapat digunakan sebagai biomarker pengobatan tuberkulosis.

I.4 Waktu dan Tempat Penelitian

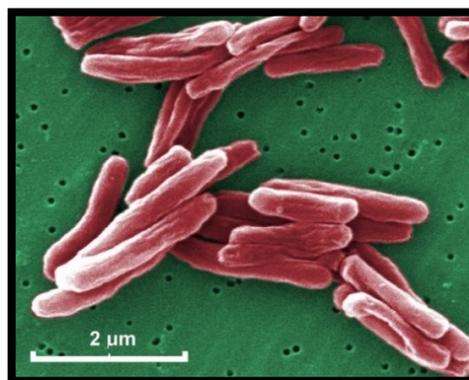
Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan April sampai Mei 2023, bertempat di Unit Tuberkulosis *Hasanuddin University Medical Research Center* (HUM-RC) Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin di Rumah Sakit Universitas Hasanuddin, Makassar, Sulawesi Selatan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Bakteri *Mycobacterium tuberculosis*

Robert Koch dalam presentasinya di Berlin pada tanggal 24 Maret 1882 menyampaikan bahwa telah menemukan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) sebagai penyebab penyakit TB. *Mycobacterium tuberculosis* adalah bakteri jenis *Bacillus* gram positif dengan ukuran yang kecil dan bervariasi, dengan panjang berkisar dari 1 sampai 4 μm dengan ketebalan berkisar antara 0,3 sampai 0,6 μm . *Mycobacterium tuberculosis* bersifat hidrofobik (sulit bercampur dengan air) di alam yang disebabkan karena memiliki dinding yang tebal dan memiliki banyak zat lilin, yang terbuat dari peptidoglikan (Lamichhane dan Milic, 2018). Menurut Gordon dan Parish (2018), *Mycobacterium tuberculosis* adalah bakteri yang tumbuh lambat, bersifat kemoorganotrofik yaitu bakteri yang tidak menggunakan bantuan cahaya matahari untuk digunakan dalam merombak bahan organik, tidak bergerak, tidak membentuk spora, serta tergolong dalam bakteri aerob basil.



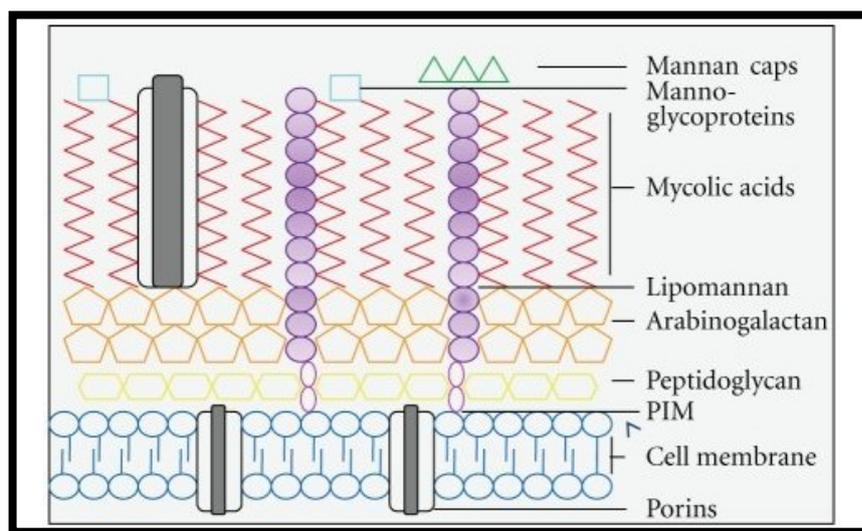
Gambar 1. Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* (Satchidanandam, 2016).

Mycobacterium tuberculosis termasuk dalam keluarga bakteri yang berada di bawah ordo Actinomycetales, yang berkerabat dekat dengan bakteri seperti *Nocardia*, *Corynebacterium*, dan *Rhodococcus*. *Mycobacterium tuberculosis* dikenal sebagai anggota kompleks *Mycobacterium* yang terdiri dari beberapa spesies yaitu, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium caprae*, *Mycobacterium africanum*, dan *Mycobacterium microti*. Bakteri-bakteri tersebut merupakan agen penyebab tuberkulosis pada inang yang berbeda. Klasifikasi *Mycobacterium tuberculosis* adalah sebagai berikut (Brosch, 2002 dalam Montalla, 2021):

Domain	: Bacteria
Phylum	: Actinobacteria
Class	: Actinobacteria
Order	: Actinomycetales
Family	: Mycobacteriaceae
Genus	: <i>Mycobacterium</i>
Species	: <i>Mycobacterium tuberculosis</i>

Selama infeksi eksperimental, bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dapat beralih dari metabolisme lipid dan mode mikroaerofilik ke metabolisme karbohidrat dan mode aerobik. *Mycobacterium tuberculosis* serta spesies *Mycobacteria* lainnya merupakan parasit intraseluler fakultatif yang dapat berkembang biak di dalam sel fagosit yaitu monosit dan makrofag. Bakteri ini dapat bertahan hidup dalam tubuh manusia selama beberapa dekade, bahkan di dalam tubuh dengan sistem kekebalan yang sehat (Montalla, 2021).

Ciri utama *Mycobacterium tuberculosis* adalah kompleksitas struktur dinding selnya yang kaya akan polisakarida dan lipid. Struktur tersebut berfungsi sebagai penghalang yang bersifat kedap air, yang sangat kuat terhadap obat dan senyawa berbahaya. Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* walau diklasifikasikan dalam kelompok Gram-positif, *Mycobacterium tuberculosis* memiliki membran luar yang secara fungsional serupa dengan yang dapat diamati pada bakteri Gram-negatif yang dikemas dalam lapisan ganda lipid asimetris, yang terdiri dari glikolipid dan zat lilin pada lapisan luar dan rantai asam lemak panjang (C60 menjadi C90) di lapisan dalam (asam mikolat). Membran luar dan membran dalam secara bersama-sama membentuk ruang periplasma, dengan lapisan peptidoglikan tipis di lapisan terdalam yang terikat secara kovalen dengan *lipomannan* dan *arabinogalactan*, yang bergabung dengan asam mikolat (Kalscheuer, 2019).



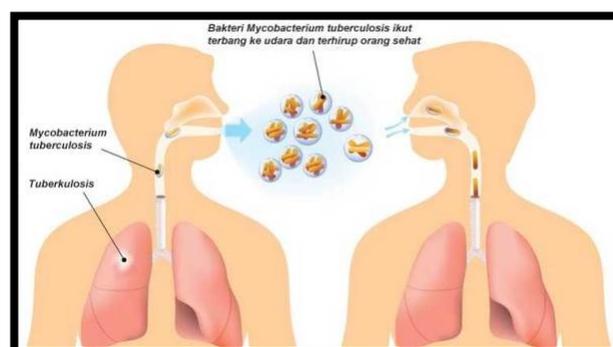
Gambar 2. Struktur dinding sel pada *Mycobacterium tuberculosis* (Kleinnijenhuis *et al.*, 2017).

Mycobacterium tuberculosis dapat menyebar melalui droplet infeksius yang dikeluarkan oleh penderita tuberkulosis saat batuk, bersin, bernyanyi, atau bahkan

melalui bernapas saat tidur (Peters *et al.*, 2020). Bakteri tersebut dapat menyebar dari orang ke orang melalui partikel aerosol. Ukuran droplet infeksius dari pasien yang terinfeksi *Mycobacterium tuberculosis* berkisar dari 0,65 (kecil) hingga 7,0 m (sedang-besar). *Mycobacterium tuberculosis* dapat menginfeksi paru-paru, nasofaring atau trakeobronkial dan dapat hidup di saluran udara distal. Partikel yang lebih besar dapat terperangkap di saluran napas atas (orofaring) yang berpotensi menyebabkan penyakit tuberkulosis pada orofaring atau kelenjar getah bening leher (Bussi dan Gutierrez, 2019).

II.2 Patogenesis Tuberkulosis

Siklus hidup bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yakni menginfeksi dan menginduksi sistem kekebalan pada tubuh. Siklus hidup *Mycobacterium tuberculosis* biasanya terjadi selama beberapa dekade, hingga dapat menyebabkan infeksi tuberkulosis pada paru-paru yang aktif. Infeksi *Mycobacterium tuberculosis* tersebut dapat terjadi melalui reaktivasi maupun infeksi ulang yang berlanjut, sehingga menghasilkan rongga di paru-paru sebelum pada akhirnya ditularkan ke lingkungan melalui udara. Patogenesis tuberkulosis dimulai dari masuknya kuman sampai timbulnya berbagai gejala klinis (Hunter, 2018).



Gambar 3. Penyebaran *Mycobacterium tuberculosis* (Medkes, 2017).

Mycobacterium tuberculosis ini terbawa oleh partikel droplet. *Mycobacterium tuberculosis* ditularkan melalui udara, bukan melalui permukaan kontak. Penularan terjadi apabila seseorang menghirup droplet yang mengandung *Mycobacterium tuberculosis* masuk ke dalam mulut atau saluran hidung, saluran pernapasan bagian atas, dan bronkus hingga mencapai alveoli paru-paru (CDC, 2016). Risiko infeksi tergantung pada beberapa faktor seperti penularan dari sumber penderita. Pada fase awal infeksi dimulai dari *Mycobacterium tuberculosis* diinternalisasi oleh fagositik sel kekebalan dan bereplikasi secara intraseluler (Ahmad, 2011).

II.3 Multi-drug Resistant Tuberculosis (MDR-TB)

Penderita tuberkulosis biasanya diberikan pengobatan berupa obat anti tuberkulosis (OAT) lini pertama yaitu isoniazid dan rifampisin. Isoniazid adalah salah satu jenis OAT yang bekerja dengan mekanisme yang mempengaruhi proses biosintesis lipid, protein, asam nukleat dan glikolisis. Isoniazid pula menghambat biosintesis asam mikolat dalam dinding sel mikobakteri. Sedangkan rifampisin adalah antibiotik semisintetik dengan efek bakterisid terhadap mikobakteri dan organisme gram positif. Rifampisin dengan dosis yang tinggi pula ampuh digunakan sebagai bakterisid organisme gram negatif. Mekanisme kerja rifampisin yakni menghambat sintesis RNA dari mikobakterium (Putri, 2022).

Kekebalan atau resistansi bakteri tuberkulosis terhadap lini pertama Obat Anti Tuberkulosis (OAT) disebut dengan *Multi-drug Resistant* (MDR). Kondisi ini merupakan penyakit TB yang telah mengalami resistan terhadap isoniazid atau *Isonicotinic Acid Hydrasid* (INH) dan rifampisin, yang dapat terjadi dengan atau

tanpa OAT lini pertama lainnya seperti ethambutol, streptomisin dan pirazinamid (Martin, 2009). Fenomena terjadinya resistansi terhadap obat anti tuberkulosis berupa rifampisin dan isoniazid banyak ditemukan di masyarakat. Penyebab kedua obat ini digunakan sebagai obat anti tuberkulosis adalah karena kemampuannya yang ampuh dalam mengatasi *Mycobacterium tuberculosis*. Oleh karena itu, kedua obat ini sering digunakan sebagai monoterapi (pemberian obat hanya satu jenis OAT) dan terapi singkat. Mekanisme terjadinya resistansi pada jenis obat rifampisin terutama terjadi pada pasien tuberkulosis yang mendapatkan monoterapi. Kondisi rendahnya jumlah rifampisin pada *Mycobacterium tuberculosis* yang dapat disebabkan karena ketidakpatuhan pasien dalam pengobatan, dapat mempengaruhi permeabilitas membran sel bakteri dan terlibat dalam mekanisme pompa efluks yaitu pengeluaran obat dari sel bakteri (Goldstein, 2014 dalam Nugrahaeni dan Malik, 2015). Penyebab terjadinya resistansi isoniazid (INH) pada bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yakni terjadinya mutasi gen yang memiliki peranan dalam mengatur atau memodulasi mekanisme efluks bakteri (Louw GE, 2009 dalam Nugrahaeni dan Malik, 2015).

Resistansi pada strain MDR-TB adalah pasien yang telah berobat dan putus berobat selama dua bulan atau lebih dengan sampel bakteri tahan asam (BTA) positif. Putus berobat akan menjadi masalah individu dan masyarakat, yang berisiko terjadinya peningkatan penularan, resistansi, hingga mortalitas. Faktor penderita yang putus pengobatan TB paru disebabkan karena jenuh dengan pengobatan yang cukup lama, efek samping obat, atau merasa lebih baik setelah awal (dua bulan pertama) pengobatan. Penyebab lain seperti faktor ekonomi dan hambatan menuju

ke pelayanan kesehatan. Penghentian pengobatan sebelum waktunya di Indonesia adalah faktor terbesar dalam kegagalan pengobatan penderita TB paru yang besarnya 50% (Cahyati dan Maelani, 2019).

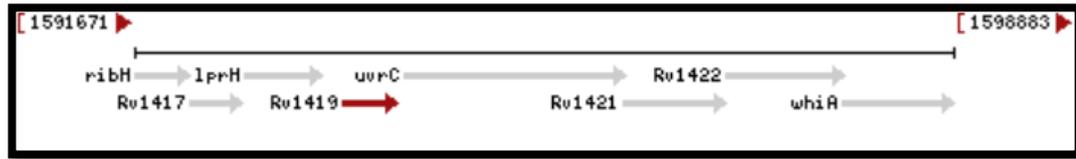
Penyakit tuberkulosis yang resistan terhadap berbagai obat atau *multi-drug resistant* (MDR), setidaknya resistan pada OAT lini pertama yaitu isoniazid dan rifampisin. Kasus *multi-drug resistant tuberculosis* (MDR-TB) merupakan ancaman besar di seluruh dunia, diperkirakan 484 juta kasus baru yang merupakan 78% dari TB yang resistan terhadap rifampisin (Muthukrishnan, 2021). MDR-TB merupakan masalah terbesar terhadap pencegahan dan pemberantasan TB di dunia maupun di Indonesia. Dalam *Global TB report*, WHO mengatakan estimasi kasus MDR-TB di dunia sebesar 3,3% dari kasus baru, sedangkan pada kasus yang pernah diobati sebelumnya estimasinya sebesar 20%. Indonesia termasuk negara dengan kasus MDR-TB terbanyak keempat di dunia setelah India, China, dan Federasi Rusia (*World Health Organization*, 2015). Di Indonesia, WHO memperkirakan terdapat 23.000 kasus MDR-TB. Kasus TB yang tercatat sebanyak 442.000 kasus pada tahun 2017, diperkirakan ada 8.600- 15.000 kasus MDR-TB. Diperkirakan sekitar 2,4% kasusnya merupakan kasus baru yang termasuk dalam kategori MDR-TB, dan sekitar 13% dari pasien TB yang telah diobati sebelumnya (Kemenkes, 2019). Penyebaran kasus MDR-TB di Indonesia yang meningkat disebabkan karena beberapa faktor, yaitu lemahnya pengendalian TB, kurangnya sumber dana, isolasi yang tidak ketat serta keterlambatan dalam diagnosis suatu kasus MDR-TB (Sihombing *et al.*, 2012). Resistansi yang dimiliki oleh kuman *M. tuberculosis* menyebabkan berkurangnya efektifitas kemoterapi sehingga angka kesembuhan

hanya sekitar 59-70% sehingga menyulitkan kesuksesan program penyembuhan bagi penderita MDR-TB. Penderita yang pernah diobati sebelumnya mempunyai kemungkinan resistan empat kali lebih tinggi dan untuk MDR-TB lebih sepuluh kali lebih tinggi dari pada penderita yang belum pernah menjalani pengobatan (*World Health Organization*, 2011). Penderita dengan penyakit MDR-TB akan diberikan pengobatan OAT lini kedua berupa pemberian obat jenis kanamisin, etionamid, levofloksasin, sikloserin, pirazinamid dan ethambutol. Namun, OAT lini kedua memiliki efek samping berat, seperti gangguan psikologis (Nugroho *et al.*, 2019).

Orang yang terinfeksi kuman MDR-TB dapat berkembang menjadi sakit TB dan akan mengalami sakit MDR-TB. Hal ini disebabkan karena bakteri yang terdapat di dalam tubuh pasien tersebut adalah kuman MDR-TB sehingga dapat menularkan kuman TB yang resistan obat kepada masyarakat disekitarnya (Handayani *et al.*, 2021).

II.4 Gen Rv1419

Gen Rv1419 adalah gen salinan tunggal seperti yang didefinisikan dalam urutan *Mycobacterium tuberculosis* genom H37Rv. Rv1419 adalah gen yang mengode protein sMTL-13. Protein sMTL-13 ini adalah antigen mikobakteri utama pada pasien TB. Pada pendeteksian dan analisis *in silico* dari protein *Mycobacterium tuberculosis*, pada permukaannya menunjukkan bahwa sMTL-13 berperan dalam masuknya bakteri dalam makrofag inang dari eksperimen pengikatan yang dilakukan di makrofag murine atau manusia (Nogueira *et al.*, 2010).



Gambar 4. Lokus gen Rv1419 pada *Mycobacterium tuberculosis* (NCBI, 2021).

Kadar TNF yang lebih rendah terdeteksi pada sel yang terinfeksi gen Rv1419. Hal ini menunjukkan bahwa lektin ini penting dalam pengenalan patogen. Gen Rv1419 memperlihatkan pertumbuhan pada intraseluler yang lebih tinggi daripada bakteri WT. Meskipun pengikatan *Mycobacterium tuberculosis* ke makrofag menurun tanpa gen Rv1419, sel yang terpapar *Mycobacterium tuberculosis* menunjukkan tingkat replikasi bakteri dan kematian sel yang lebih tinggi (Bafica *et al.*, 2015).

Gen Rv1419 menunjukkan urutan asam amino dengan kemiripan sebesar 41% dengan jenis lektin yang mengode protein sMTL-13. Protein sMTL-13 yang dikodekan oleh gen Rv1419 dapat berfungsi dalam pengembangan vaksin atau pengobatan pada tuberkulosis, akibat lektin tersebut bersifat *anti toxin* terhadap beberapa bakteri yang masuk ke dalam tubuh, salah satunya *Mycobacterium tuberculosis* (Kolbe *et al.*, 2019). Menurut Nogueira *et al.* (2010), sekresi lektin 13 kDa dari *Mycobacterium tuberculosis* menunjukkan respon terhadap salah satu antigen yaitu sMTL-13. sMTL-13 yang digunakan sebagai antigen, terdeteksi di dalam pemeriksaan cairan darah pasien TB aktif. Hal ini menunjukkan bahwa antigen tersebut dapat bereaksi dengan IFN- γ yang dapat dibuktikan dengan meningkatnya produksi IFN- γ . Penelitian oleh Nogueira *et al.* (2010) dapat menemukan bahwa titer antibodi IgG yang tinggi terhadap sMTL-13 dalam serum

dari pasien TB, respon yang ditemukan berkurang setelah terapi antituberkulosis berhasil. Nogueira *et al.* (2010) juga mengungkap bahwa lektin mikobakteri diekspresikan secara *in vivo*. Lektin mikobakteri ini berpotensi berperan penting dalam infeksi *Mycobacterium tuberculosis*. Antibodi anti-sMTL-13 dapat berfungsi sebagai biomarker perkembangan pengobatan penyakit TB (Kolbe *et al.*, 2019).

Biomarker adalah karakteristik yang diukur sebagai indikator proses biologis normal, proses patogen, atau respons terhadap paparan. Paparan tersebut dapat berasal atau diturunkan dari karakteristik molekuler, histologis, radiografik, atau fisiologis. Salah satu contoh biomarker adalah *monitoring biomarker*, yakni biomarker yang digunakan untuk mengetahui status penyakit atau kondisi medis sebagai dampak dari paparan atau penggunaan produk medis atau agen lingkungan, atau untuk mendeteksi efek produk medis atau agen biologis (Califf, 2018).

II.5 Polymerase Chain Reaction (PCR)

Selama beberapa dekade terakhir, perkembangan teknik diagnostik penyakit TB telah mengalami kemajuan dalam bentuk tes molekuler baru. Tes molekuler ini sering disebut sebagai tes amplifikasi asam nukleat atau *nucleic acid amplification tests* (NAATs). NAATs bergantung pada teknik amplifikasi materi genetik yang ditargetkan dari *Mycobacterium tuberculosis complex*, biasanya dilakukan dengan teknik PCR. NAATs dapat mendeteksi penyakit TB, dan dapat pula dilakukan pengujian kelemahan obat atau *drug susceptibility testing* (DST) untuk obat-obatan utama, seperti rifampisin (RIF) dan isoniazid (INH) yang lebih cepat jika dibandingkan dengan kultur mikobakteri konvensional dan juga tersedia di berbagai layanan kesehatan (MacLean *et al.*, 2020).

Polymerase chain reaction (PCR) atau reaksi berantai polimerase adalah teknik ilmiah dalam biologi molekuler untuk mengamplifikasi satu atau beberapa salinan DNA yang akan menghasilkan ribuan hingga jutaan salinan dari urutan DNA tertentu. PCR dikembangkan pada tahun 1984 oleh ahli biokimia Amerika, Kary Mullis. PCR saat ini menjadi teknik yang umum dan diperlukan dalam laboratorium penelitian medis dan biologi untuk berbagai penerapan. PCR adalah teknik yang cepat menjadi salah satu teknik yang banyak digunakan dalam biologi molekuler karena cepat, murah dan sederhana (Joshi dan Deshpande, 2010).

Teknik PCR dapat digunakan untuk mengidentifikasi bakteri yang dikultur ataupun yang tidak dibiakkan dengan cepat. Teknik PCR juga dapat digunakan dalam diagnosis suatu wabah penyakit (Zhang *et al.*, 2022). Metode PCR memungkinkan amplifikasi gen dan transkrip RNA yang diisolasi dari beberapa sumber seperti saliva, kulit, plasma, cairan sulkus gingiva, obat kumur, plak subgingiva, semen, dan rambut. Tes PCR membutuhkan adanya enzim DNA polimerase, sampel DNA yang diekstraksi, primer dan nukleotida. Teknik PCR adalah sebagai berikut (Shahi *et al.*, 2018):

1. *Template* DNA yang diekstraksi adalah urutan target yang diidentifikasi yang perlu diamplifikasi. DNA polimerase adalah enzim untuk mereplikasi urutan target DNA yang menempelkan nukleotida individu bersama-sama untuk menghasilkan produk PCR. Molekul primer adalah sekuens DNA atau RNA yang pendek dan berantai tunggal yang dirancang khusus untuk menyatu dengan target asam nukleat yang diinginkan. Pasangan *forward* dan *reverse* primer memiliki panjang 18-22 pasangan basa. Untuk amplifikasi PCR, DNA

diekstraksi dari target yang diinginkan dan ditambahkan ke tabung reaksi termasuk primer, *buffer* PCR, *deoxynucleotides* (dNTP), $MgCl_2$ dan enzim DNA polimerase dalam tabung pemeriksaan. Tabung reaksi kemudian ditempatkan dalam *thermocycler* yang akan mereplikasi DNA berulang-ulang. Denaturasi DNA yakni pemanasan tabung reaksi hingga $94^\circ C$ untuk pemisahan untai ganda DNA dan menghasilkan dua untai tunggal DNA.

2. *Annealing* merupakan tahap penempelan primer pada rantai tunggal DNA, umumnya selama 30-45 detik pada suhu $50-65^\circ C$.
3. Ekstensi atau pemanjangan. Pada suhu $72^\circ C$, untai DNA komplementer baru disintesis dengan pemanjangan primer menggunakan enzim DNA polimerase bekerja dalam perpanjangan sekuens DNA dari ujung 3'. Reaksi PCR dilakukan dengan siklus termal otomatis selama setiap langkah reaksi pada suhu yang tepat dan untuk durasi yang ditentukan. Umumnya, prosedur ini diulang 30-40 kali. Pada akhirnya, tabung reaksi berisi sekitar 230 molekul produk PCR yang diinginkan.

II.6 Elektroforesis

Elektroforesis adalah metode yang digunakan untuk mengetahui keberadaan *band* DNA serta untuk menguji kualitas DNA. Prinsip dasar dari metode elektroforesis adalah pergerakan molekul bermuatan atau ion melalui medium semisolid dibawah pengaruh suatu medan listrik. Elektroforesis dapat digunakan untuk mengetahui ukuran DNA dengan menggunakan DNA marker yang sudah diketahui ukurannya. DNA marker ini berfungsi sebagai pembanding sehingga dapat diketahui perkiraan ukuran DNA sampel. Jika molekul yang

bermuatan negatif (DNA) dilewatkan melalui gel agarosa, dan dialiri arus listrik dari satu kutub ke kutub yang muatannya berlawanan, molekul tersebut akan bergerak dari kutub negatif ke kutub positif, sehingga dapat memisahkan DNA berdasarkan ukuran panjangnya (Yuwono, 2006 dalam Sundari dan Priadi, 2020).

Pemilihan medium pemisah mempengaruhi keberhasilan elektroforesis. Dalam mengidentifikasi serta memurnikan fragmen-fragmen *Deoxyribo Nucleic Acid* (DNA) dan *Ribose Nucleic Acid* (RNA), digunakan gel agarosa. Senyawa DNA serta RNA adalah pembawa sifat genetik pada makhluk hidup-dilakukan pada medan listrik horizontal. Kelebihan gel agarosa yaitu mudah, sederhana dan laju pemisahannya lebih cepat dalam membentuk fragmen-fragmen dan tidak bersifat toksik. Namun, gel ini memiliki sensitivitas tinggi dan mudah rusak sehingga memerlukan ketelitian dan proses pengerjaannya harus dilakukan dengan hati-hati. Dalam melakukan elektroforesis, terdapat berbagai komponen utama yang digunakan. Pertama adalah larutan elektrolit yang berfungsi sebagai pembawa komponen, umumnya berupa larutan *buffer* dengan pH tertentu sesuai dengan karakteristik senyawa yang akan dipisahkan. Komponen selanjutnya adalah media pemisah yang digunakan sebagai tempat proses pemisahan terjadi, berupa kertas (selulosa asetat, selulosa nitrat), gel kanji, gel polikrilamid, busa poliuretan atau agar-agar. Komponen lainnya adalah elektroda yang berfungsi sebagai penghubung arus listrik dengan media pemisah dan baterai atau arus listrik sebagai sumber energi (*source*) pada rangkaian alat (Harahap, 2018).