

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan pada sampel urin penderita diabetes mellitus dengan kadar HbA1c $\geq 7\%$ yang berasal dari RS. Bhayangkara Surabaya H.S Samsuori Mertojoso. Sampel tersebut dilakukan screening kultur pada media *Sabauroud Dextrose Agar* (SDA) untuk mengetahui adanya koloni jamur *Candida*. Kemudian dilakukan uji biologi molekuler *Realtime* PCR untuk mendeteksi adanya jamur *Candida albicans* pada sampel. Proses penentuan terdeteksinya *Candida albicans* pada urin penderita diabetes mellitus dimulai dengan melakukan ekstraksi DNA pada koloni jamur *Candida*, dilanjutkan amplifikasi DNA menggunakan *Realtime* PCR serta primer ITS2, dan diakhiri dengan pembacaan hasil dari perpotongna antara kurva amplifikasi dan garis threshold.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan seperti yang tertera pada tabel 5.2 bahwa enam dari delapan sampel menunjukkan hasil positif, sedangkan sisanya yaitu dua sampel menunjukkan hasil negative. Maka dapat dibuat persentase seperti pada gambar 5.1 yaitu 75% untuk hasil positif terdeteksi jamur *Candida albicans* dan 25% untuk hasil yang negative. Pada sampel yang menunjukkan hasil negative, *Candida albicans* tidak terdeteksi dimungkinkan karena adanya mutasi yang disebabkan perubahan pada urutan basa jamur tersebut atau isolate pada media SDA bukan merupakan spesies *Candida albicans*, sehingga primer tidak mengenali wilayah dari perubahan basa tersebut. Pengertian dari mutasi gen sendiri menurut Baharuddin & Idrus (2020) adalah perubahan materi genetik pada gen akibat urutan basa nitrogen pada rantai DNA yang berubah.

Pada penelitian ini primer yang digunakan adalah primer ITS2 (*Internal Transcribed Spacer*) sesuai dengan penelitian Busser *et al.*, (2020) dengan basa primer forward 5'-GGGTTTGCTTGAAAGACGGTA-3' serta primer revers 5'-TTGAAGATATACGTGGACGTTA-3' yang merupakan wilayah non-coding, yaitu wilayah yang tidak terekspresikan protein dan merupakan bagian dari RNA ribosom yang dimiliki oleh semua fungi. Karena varian sekuens yang dimiliki cukup tinggi bahkan dalam spesies yang sama, wilayah ini dapat digunakan untuk penanda genetika (Rakhmana *et al.*, 2015). Pada wilayah non-coding terdapat banyak mutasi yang terjadi dibandingkan di dalam gen serta tidak mengalami perubahan fenotip, sehingga wilayah ini tidak menunjukkan perbedaan diantara individu (Gaffar, 2007).

Pembacaan hasil akhir dari *realtime* PCR berupa nilai Ct atau *Cycle threshold* yang merupakan perpotongan antara garis threshold dan kurva amplifikasi. Maksimal nilai Ct yang tertera tergantung dari siklus amplifikasi yang digunakan. Nilai Ct yang rendah menunjukkan bila semakin banyak DNA yang *tercopy*, maka semakin awal pula sinyal terdeteksi (Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 2020a). Sinyal tersebut merupakan untai ganda DNA yang terdeteksi dan pewarna fluoresens SYBR akan berpendar dan menangkap sinyal tersebut. (Zilhada *et al.*, 2017)

Seperti pada sampel 02, 06, 12 serta control positif menunjukkan nilai Ct yang rendah (<10) berarti, sinyal DNA dari jamur *Candida albicans* yang di tangkap oleh Power SYBR[®] Green banyak atau bisa dikatakan positif kuat karena jumlah DNA banyak. Sedangkan pada sampel 03, 10, dan 13 menunjukkan nilai Ct yang lebih tinggi (>17) jika dibandingkan dengan sampel lainnya.

Nilai Ct didapatkan dari siklus yang dipakai, sedangkan banyaknya siklus yang digunakan dilihat dari penelitian acuan karena dalam penentuan siklus serta suhu yang digunakan dibutuhkan penelitian yang lebih dalam.