

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Kajian Pustaka

Dalam penelitian ini, peneliti menggali informasi dari penelitian – penelitian sebelumnya sebagai referensi. Berdasarkan bidang yang diteliti, belum ada penelitian lain dengan judul yang sama dengan penelitian ini. Namun, dari penelitian sebelumnya terdapat beberapa masalah yang hampir sama sehingga dapat dibandingkan. Adapun penelitian sebelumnya yang dapat dijadikan sebagai referensi serta bahan perbandingan antara lain :

1. Jurnal penelitian oleh Ave Olivia Rahman pada Tahun 2017 yang berjudul “Uji Kepekaan Bakteri yang Diisolasi dari Pasien dengan Bakteriuria Terhadap Antibiotik Amoksisilin, Levofloksasin dan Siprofloksasin di Laboratorium Mikrobiologi RSUD Raden Mattaer Jambi Periode Oktober - November 2016”. Adapun perbedaan dengan penelitian tersebut yakni jumlah antibiotik yang digunakan. Penelitian ini menggunakan tiga jenis antibiotik sedangkan peneliti hanya menggunakan satu jenis antibiotik. Selain hal tersebut, tempat penelitian juga berbeda. Penelitian tersebut dilakukan di RSUD Raden Mattaer Jambi sedangkan peneliti melakukan penelitian di RSD Mangusada Badung.
2. Jurnal penelitian oleh Shirby A. Ch. Sumolang, John Porotu’o, dan Standy Soeliongan pada Tahun 2012 yang berjudul “Pola Bakteri pada Penderita Infeksi Saluran Kemih di BLU RSUP PROF. Dr. R. D. Kandou Manado”. Adapun perbedaan dengan penelitian tersebut yakni jumlah dan jenis bakteri yang diidentifikasi. Jumlah bakteri yang diidentifikasi dalam penelitian

tersebut sebanyak 8 jenis yaitu *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Citrobacter diversus*, *Alcaligenes faecalis*, *Acinetobacter anitratus*, *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus aureus*, dan *Proteus mirabilis*. Sedangkan, penelitian yang dilakukan oleh peneliti hanya mengidentifikasi satu jenis bakteri yaitu *Escherichia coli*. Selain itu, pada penelitian tersebut tidak dilakukan pengujian bakteri dengan antibiotik sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh peneliti dilakukan pengujian bakteri terhadap antibiotik.

3. Jurnal penelitian oleh Nova Octavianty Rachman, Muhamad Darwin Prenggono, dan Lia Yulia Budiarti pada Tahun 2016 dengan judul “Uji Sensitivitas Bakteri Penyebab Infeksi Saluran Kemih pada Pasien Diabetes Melitus Terhadap Sefriakson, Levofloksasin, dan Gentamisin”. Adapun perbedaan dengan penelitian tersebut yaitu jumlah dan jenis antibiotik yang digunakan. Pada penelitian tersebut jumlah antibiotik yang digunakan dalam penelitian tersebut sebanyak tiga jenis yaitu sefriakson, levofloksasin dan gentamisin. Sedangkan, penelitian peneliti hanya menggunakan satu jenis antibiotik yaitu siprofloksasin.
4. Jurnal penelitian Adzkie Muhammad, Nunuk Aries Nurulita, dan Arif Budiman pada Tahun 2017 dengan judul “Uji Sensitivitas Antibiotik Terhadap Bakteri Penyebab Infeksi Saluran Kemih Pada Pasien Rawat Inap di RSUD Prof. Dr Margono Soekarjo Purwokerto”. Adapun perbedaan penelitian tersebut yakni jenis antibiotik yang digunakan. Penelitian tersebut menggunakan antibiotik sefiksime dan asam pipemidat, sedangkan peneliti menggunakan antibiotik siprofloksasin.

5. Jurnal penelitian Debi Arivo dan Ai Winarti Dwiningtyas pada Tahun 2017 dengan judul “Uji Sensitivitas Antibiotik Terhadap *Escherichia coli* Penyebab Infeksi Saluran Kemih”. Adapun perbedaan penelitian tersebut yakni jumlah antibiotik yang digunakan dalam penelitian tersebut sebanyak empat jenis yaitu siprofloksasin, gentamisin, ampisilin, dan sefiksim. Sedangkan jumlah antibiotik yang digunakan oleh peneliti hanya satu jenis yaitu siprofloksasin.

B. Landasan Teori

1. Infeksi saluran kemih

a. Definisi

Infeksi Saluran Kemih (ISK) merupakan reaksi inflamasi dari urotelium yang disebabkan oleh masuknya mikroorganisme ke dalam saluran kemih. ISK dapat menyerang segala usia dengan/atau tanpa gejala. Mikroorganisme yang paling sering menyebabkan ISK adalah mikroorganisme aerob (Kumala dkk., 2009).

b. Klasifikasi

ISK secara praktis dibagi menjadi ISK Non Komplikata, ISK Komplikata dan Sepsis (Ghinorawa, 2015).

1) ISK non komplikata

ISK non komplikata adalah ISK yang terjadi pada orang dewasa, termasuk episode sporadik, episode sporadik yang didapat dari komunitas, dalam hal ini sistitis akut dan pielonefritis akut pada individu yang sehat (Mochtar, 2015). Diagnosis sistitis akut non komplikata dapat ditegakkan berdasarkan riwayat gejala iritatif seperti disuria, frekuensi dan urgensi serta tidak adanya *discharge*

atau iritasi vagina, pada wanita yang tidak memiliki faktor risiko. Diagnostik secara mikrobiologis pada wanita yang menunjukkan gejala sistitis akut non komplikata yaitu ditemukan jumlah koloni bakteri uropatogen $\geq 10^3$ /mL. Sedangkan pada wanita dengan gejala yang tidak spesifik dan gagal dalam terapi perlu dilakukan pemeriksaan penunjang lainnya. Pada pria dengan ISK harus dilakukan evaluasi urologis termasuk pemeriksaan *rectal swab* untuk menentukan ada atau tidaknya prostatitis (Ghinorawa, 2015).

2) ISK komplikata

Infeksi saluran kemih komplikata adalah sebuah infeksi yang diasosiasikan dengan suatu kondisi, misalnya abnormalitas struktural atau fungsional saluran genitourinari atau adanya penyakit dasar yang mengganggu dengan mekanisme pertahanan diri individu yang meningkatkan risiko infeksi atau kegagalan terapi. Infeksi saluran kemih komplikata disebabkan oleh bakteri dengan spektrum yang lebih luas dibandingkan infeksi saluran kemih non komplikata dan lebih sering resisten terhadap antimikroba (Renaldo, 2015).

Suatu ISK komplikata diikuti dengan gejala klinis seperti disuria, urgensi, frekuensi, nyeri kolik, nyeri sudut kostovertebra, nyeri suprapubik dan demam. Gejala saluran kemih bagian bawah dapat disebabkan oleh ISK tapi juga oleh gangguan urologi lainnya, seperti misalnya *Benign Prostatic Hyperplasia* (BPH) atau *Transurethral Resection of The Prostate* (TURP). Kondisi medis seperti diabetes melitus (10%) dan gagal ginjal seringkali ditemukan dalam sebuah ISK komplikata (Renaldo, 2015).

Bakteriuria yang signifikan pada ISK komplikata didefinisikan sebagai perhitungan uropathogen $\geq 10^5$ cfu/mL dan $\geq 10^4$ cfu/mL, pada urin porsi tengah

baik pada wanita maupun pria. Jika sampel urin diambil dari kateter, $\geq 10^4$ cfu/mL bisa dianggap relevan. Piuria adalah ≥ 10 sel darah putih per *high-power field* (400 x) untuk sampel urin yang disentrifugasi. Pemeriksaan dipstick dapat digunakan untuk pemeriksaan rutin, termasuk uji leukosit esterase, hemoglobin dan reaksi nitrit. Pada ISK komplikata, selain ditemukan mikroba, harus didapatkan kelainan anatomi atau fungsional saluran genitourinari atau adanya penyakit dasar. Mikroba penyebab tersering adalah *Escherichia coli*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Serratia*, dan *Enterococci* (Renaldo, 2015).

3) Urosepsis

Urosepsis merupakan proses inflamasi akibat infeksi yang terjadi pada saluran kemih dan dalam kondisi sepsis berat dapat disertai disfungsi organ, hipoperfusi, dan hipotensi. Diagnosa urosepsis berdasarkan gejala, pemeriksaan fisik, pemeriksaan radiologi dan laboratorium (bakteriuria dan leukosituria). Diagnosis yang paling tepat adalah apabila dapat dibuktikan bahwa bakteri dari kultur darah sama dengan yang ditemukan pada kultur urin. Bakteri berasal dari traktus urinarius dicurigai apabila disertai oleh gejala sistitis atau pielonefritis. Secara umum, dikatakan urosepsis apabila terdapat komplikasi dari beberapa situasi, antara lain (1) tindakan instrumentasi pada traktus genitourinaria, (2) abses renal, (3) pielonefritis akut, (4) infeksi akibat obstruksi saluran kemih atau pasien dengan gangguan kekebalan imunitas, dan (5) bakteriuria akibat pemasangan kateter pada obstruksi dan pasien dengan gangguan kekebalan imunitas (Renaldo dan Tarmono, 2015).

c. Etiologi

Bakteri yang sering menyebabkan ISK adalah bakteri komensal di perineum atau usus bagian bawah (Tabel 1). Faktor virulensi bakteri meliputi :

1) Fimbriae

Escherichia coli serotipe tertentu memiliki fimbriae (pili) spesifik yang mempermudah kolonisasi dan perlekatan ke daerah periuretra, uretra, dan dinding kandung kemih (Elliott dkk.,2013).

2) Kapsul

Beberapa galur *Escherichia coli* menghasilkan kapsul polisakarida yang menghambat fagositosis dan menyebabkan terjadinya pielonefritis (Elliott dkk.,2013).

Tabel 1
Bakteri yang sering menyebabkan ISK (perkiraan persentase)

Organisme	Didapat di masyarakat (%)	Didapat di rumah sakit (%)
<i>Escherichia coli</i>	75	40
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	5	1
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2	3
<i>Proteus mirabilis</i>	3	10
<i>Enterococcus faecalis</i>	5	8
<i>Koliform lain</i>	5	25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	5
<i>Candida albicans</i>	4	8

(Sumber : Elliott dkk., Mikrobiologi Kedokteran & Infeksi. 2013)

d. Patogenesis

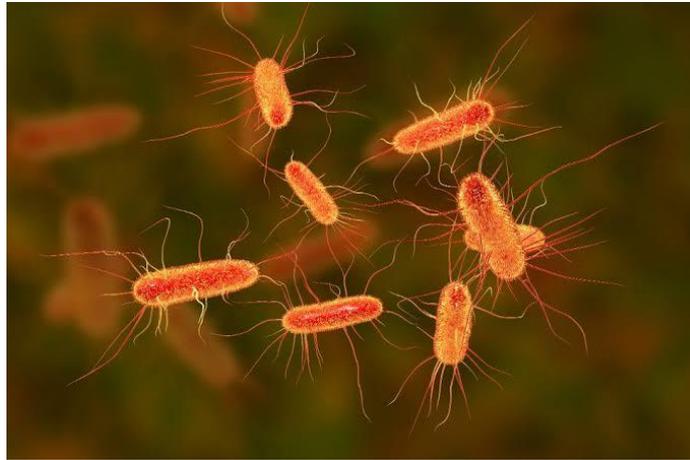
Infeksi saluran kemih dapat terjadi akibat penyebaran bakteri secara *ascending* dari flora usus yang mencemari daerah sekitar orifisium uretra dan

mengalami kolonisasi. Penyebaran juga dapat terjadi secara hematogen dari fokus infeksi di luar saluran kemih dan ginjal, atau dengan cara perkontinuitatum dari jaringan sekitarnya. Di antara berbagai cara infeksi tersebut maka penyebaran secara *ascending* merupakan mekanisme yang paling sering terjadi. Untuk melakukan kolonisasi dan invasi ke sel inang, bakteri harus melakukan perlekatan pada permukaan mukosa sel inang. Perlekatan bakteri pada sel inang merupakan proses awal terjadinya infeksi. Faktor predisposisi, terjadinya ISK inkomplikata pada wanita muda yang sehat dapat berupa kebiasaan, genetik atau faktor biologis, demikian pula hubungan seksual, penggunaan produk spermisida dan riwayat ISK berulang sebelumnya. Semua faktor risiko dan patogenesis awal pada ISK inkomplikata juga dapat terjadi pada pasien yang mengalami ISK komplikata. Faktor predisposisi terjadinya ISK komplikata dapat berupa obstruksi atau stasis aliran urin, atau masuknya mikroorganisme uropatogen ke saluran kemih akibat menurunnya mekanisme pertahanan tubuh pejamu (Rasyid dan Tessy, 2014).

Faktor – faktor yang mempengaruhi patogenitas meliputi spesifisitas mikroba, kemampuan invasi, kuantitas mikroba, virulensi, toksigenisitas, *adhesiveness* (daya lekat), antigenisitas dan viabilitas mikroba penginfeksi (Kowalak dkk., 2017).

2. *Escherichia coli*

a. Definisi



Gambar 1. Bakteri *Escherichia coli*

(Sumber : <https://www.forbes.com/sites/linhanhcat/2019/12/10/e-coli-eats-carbon-dioxide/amp/>)

Escherichia coli adalah spesies bakteri komensal pada manusia dan hewan (Kabiru dkk., 2015). Bakteri ini merupakan bakteri yang masuk dalam golongan *Enterobacteriaceae* yang berbentuk basil pendek dan bersifat Gram negatif, berflagel, dan mempunyai ukuran berkisar $0,4 - 0,7 \mu\text{m} \times 1,4 \mu\text{m}$ serta mempunyai kapsul (Kurniawan dan Taufik, 2017). Meskipun sebagian besar strain *Escherichia coli* tidak berbahaya, strain tertentu bersifat patogen dan menyebabkan penyakit seperti diare berair, diare berdarah, infeksi saluran kemih, meningitis, dan sepsis, yang dapat menyebabkan kematian (Cho dkk., 2018). *Escherichia coli* merupakan bakteri yang dapat tumbuh pada suasana aerob dan anaerob serta dapat memfermentasi glukosa, dan bersifat oksidasi negatif (Widianingsih dan Jesus, 2018).

b. Taksonomi

Menurut Kurniawan dan Taufik (2017), klasifikasi *Escherichia coli* yaitu sebagai berikut.

Devisio : *Protophyta*

Classis : *Schizomycetes*

Ordo : *Eubacteriales*

Family : *Eubacteriaseae*

Genus : *Escherichia*

Species : *Escherichia coli*

c. Klasifikasi

1) *UroPathogenic Escherichia coli* (UPEC)

UPEC adalah penyebab utama. Empat *pylogroup* (A, B1, B2, dan D) dari UPEC telah diidentifikasi berdasarkan *Genomic Pathogenicity Island* (PAI), dan faktor virulensinya seperti kemampuan adhesi, toksin, permukaan polisakarida, flagel, dan sistem akuisisi besinya. Adapun patogenesis dari UPEC meliputi (Terlizzi dkk., 2017) :

- a) Kolonisasi bakteri pada daerah periuretral dan vagina.
- b) Naik ke lumen kandung kemih dan tumbuh sebagai sel – sel *planktonic* dalam urin.
- c) Menempel pada permukaan dan berinteraksi dengan sistem pertahanan kandung kemih.
- d) Pembentukan *biofilm*.
- e) Invasi dan replikasi dengan membentuk *Intracellular Bacterials Communities* (IBCs) pada kandung kemih.

2) *Escherichia coli* Enteropatogenik (EPEC)

Escherichia coli Enteropatogenik (EPEC) merupakan penyebab diare yang berbahaya pada bayi, terutama di negara berkembang. EPEC menempel pada sel mukosa usus halus. Faktor yang diperantarai oleh kromosom meningkatkan perekatan. Terdapat kehilangan mikrovili (penumpulan), pembentukan tumpuan filamen aktin atau struktur mirip mangkuk, dan pada kondisi tertentu *Escherichia coli* masuk ke dalam sel mukosa. Akibat dari infeksi EPEC yaitu diare encer, yang biasanya sembuh sendiri tetapi dapat menjadi kronik (Brooks dkk., 2013).

3) *Escherichia coli* Enterotoksigenik (ETEC)

Escherichia coli Enterotoksigenik (ETEC) adalah penyebab umum diare pada wisatawan dan penyebab utama diare pada bayi di negara berkembang. Faktor kolonisasi ETEC spesifik untuk mendorong perlekatan ETEC pada sel epitel usus halus manusia. Beberapa strain ETEC menghasilkan eksotoksin yang tidak tahan panas yang berada di bawah kendali genetik plasmid (Brooks dkk., 2013).

4) *Escherichia coli* Enterohemoragik (EHEC)

Escherichia coli Enterohemoragik (EHEC) menghasilkan verotoksin yang diberi nama berdasarkan efek sitotoksiknya terhadap sel Vero pada sel ginjal monyet di Afrika. EHEC menimbulkan colitis hemoragik, diare yang berat, dan pada sindroma hemolitik uremic, suatu penyakit yang mengakibatkan gagal ginjal akut, anemia hemolitik mikroangiopati, dan trombositopenia (Brooks dkk., 2013).

5) Enteroinvasif *Escherichia coli* (EIEC)

Enteroinvasif *Escherichia coli* (EIEC) menimbulkan penyakit yang sangat mirip dengan shigelosis. EIEC menginfeksi dengan penetrasi dalam enterosit dan

menempel pada lapisan mukosa usus besar dan menginvasi sel dengan endositosis (Brooks dkk., 2013).

6) Enteroaggregative *Escherichia coli* (AEAC)

Enteroaggregative *Escherichia coli* (AEAC) adalah *Escherichia coli* patogen penyebab diare. Diare yang disebabkan oleh bakteri ini memiliki ciri – ciri berair, berlendir, dengan atau tanpa darah, dengan gejala sakit perut, demam, dan muntah. Diare yang dialami berkepanjangan yaitu lebih dari 14 hari tergantung dari imunitas, status gizi orang yang terinfeksi Enteroaggregative *Escherichia coli* (AEAC) menyerang anak – anak hingga orang dewasa di seluruh dunia dan sebagai penyebab utama dari diare akut dan persisten. Selain itu bakteri ini banyak ditemukan menginfeksi manusia dengan sistem kekebalan tubuh yang lemah seperti penderita HIV (Gomes dkk., 2016).

3. Diagnosis infeksi saluran kemih

Tahap awal dalam diagnosis dugaan infeksi saluran kemih adalah pemeriksaan laboratorium spesimen urin. Sampel yang harus dikumpulkan berupa urin yang mengalir pada pertengahan berkemih setelah bagian luar genital dibersihkan dengan prosedur yang sesuai dan ditampung dalam wadah steril. Sampel urin segar yang baru diperoleh dan tidak disimpan dalam pendingin harus segera dibiakan untuk menghindari pertumbuhan organisme flora normal, yang mungkin mengalahkan pertumbuhan patogen – patogen yang tumbuh lebih lambat. Pada kondisi demikian, organisme penyebab infeksi mungkin tidak terlihat, yang menyebabkan kesalahan diagnosis (Cappucino dkk., 2013).

Evaluasi klinis spesimen membutuhkan suatu penentuan kuantitatif jumlah mikroorganisme per ml urin. Urin yang mengandung jumlah hitungan bakteri per

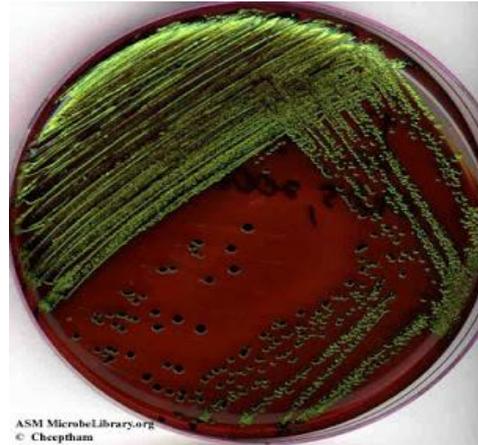
ml melebihi 100.000 (10^5) menunjukkan bakteriuria yang signifikan dan merupakan penanda terjadinya infeksi saluran kemih. Urin yang mengandung jumlah hitungan bakteri pada rentang 0 hingga 1000 per ml umumnya normal (Cappucino dkk., 2013).

Pada metode konvensional, suatu sampel urin digoreskan pada permukaan suatu media agar dengan sebuah ose khusus yang telah dikalibrasi untuk menginokulasikan sejumlah volume inokulum yang diketahui. Setelah inkubasi, jumlah koloni – koloni terpisah yang ada pada lempeng dihitung dan dikalikan dengan suatu faktor yang mengonversikan volume urin menjadi 1 ml. perhitungan akhir sebanding dengan jumlah organisme per ml sampel (Cappucino dkk., 2013).

4. Identifikasi *Escherichia coli* metode konvensional

a. Inokulasi sampel pada media EMB

EMB Agar merupakan media selektif karena kandungan *methylen blue* pada media bisa menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif. Gula yang terdapat dalam media, yaitu sukrosa dan laktosa merupakan substrat yang bisa difermentasi oleh sebagian besar bakteri Gram negatif, terutama bakteri *coliform*. Adanya sukrosa dan laktosa juga bertujuan untuk membedakan antara bakteri *coliform* yang mampu memfermentasi sukrosa lebih cepat daripada laktosa dan yang tidak dapat memfermentasi sukrosa (Rasyid dan Tessy, 2014).

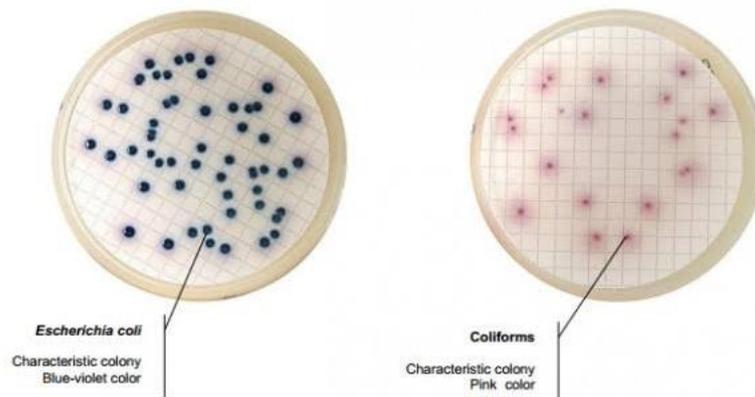


Gambar 2. Koloni Bakteri *Escherichia coli* pada media EMB
(Sumber : <http://images.app.goo.gl/xw9NBn8szTvjaqnn8>)

Bakteri *coliform* umumnya mampu memfermentasi laktosa dan menghasilkan asam. Kondisi ini membuat media menjadi asam sehingga indikator Eosin Y berubah warna dari bening menjadi ungu gelap yang biasanya disertai kilap logam. Koloni yang tumbuh berinti gelap disertai kilap logam pada permukaan *Eosin Methylen Blue* (EMB) Agar merupakan ciri koloni *Escherichia coli*. Bakteri gram negatif lain yang mampu memfermentasi laktosa dengan lambat akan ditunjukkan dengan warna coklat merah muda, dan bakteri yang tidak mampu memfermentasi laktosa akan terlihat merah muda pudar (Rasyid dan Tessy, 2014).

b. Inokulasi pada media CCA

Chromocult Coliform Agar (CCA) merupakan media kromogenik yang digunakan sebagai media kultur yang digunakan untuk membedakan *Escherichia coli* dan bakteri *coliform* setelah tahap filtrasi membran. Prinsip kerja media CCA didasarkan pada reaksi enzimatik yang memberikan warna pada koloni bakteri yang tumbuh, sebagai penanda bakteri *coliform* dan *Escherichia coli* (ISO 9308-1, 2014).



Gambar 3. Koloni Bakteri *Escherichia coli* (kiri) dan *coliform* (kanan) pada media CCA
 (Sumber : <https://images.app.goo.gl/9PyDfmbbxQThcwmJ6>)

Bakteri *Escherichia coli* pada media CCA akan menunjukkan koloni berwarna biru hingga violet, bakteri *coliform* akan menunjukkan koloni berwarna merah muda hingga merah, sedangkan bakteri lainnya (terutama gram negatif) akan memiliki koloni yang tidak berwarna (kecuali pada bakteri yang memiliki aktivitas glucuronidase lemah tetapi tidak galactosidase, akan menunjukkan warna koloni biru muda). Adapun kelebihan dari media CCA, yaitu ideal untuk mendeteksi dan mengisolasi bakteri *Escherichia coli* dan *coliform* dalam konsentrasi yang rendah dalam sampel serta memiliki kontras warna yang baik sehingga memudahkan dalam interpretasi hasil. Untuk mengkonfirmasi bahwa koloni yang tumbuh adalah bakteri *Escherichia coli* dapat digunakan uji indol (ISO 9308-1, 2014).

c. Uji TSIA

Uji *Triple Sugar-Iron Agar* (TSIA) dirancang untuk membedakan antar – kelompok atau antar – genus yang berbeda dalam *Enterobacteriaceae*, yang seluruhnya merupakan basilus Gram-negatif yang dapat memfermentasi glukosa dengan disertai pembentukan asam, dan untuk membedakan *Enterobacteriaceae* dari basilus Gram - negatif intestinal lainnya. Perbedaan ini dilakukan

berdasarkan perbedaan pola fermentasi karbohidrat dan pembentukan hidrogen sulfida oleh berbagai kelompok organisme intestinal (Cappucino dkk., 2013).

Permukaan miring basa (merah) dan bagian dasar asam (kuning) dengan atau tanpa pembentukan gas (pecah pada dasar agar) menandakan hanya terjadi fermentasi glukosa. Organisme cenderung menguraikan glukosa terlebih dahulu karena substrat ini berada dalam konsentrasi yang kecil. Pepton dalam media juga digunakan untuk pembentukan basa. Reaksi asam pada bagian dasar dipertahankan karena berkurangnya tekanan oksigen dan pertumbuhan organisme lambat (Cappucino dkk., 2013).

Permukaan miring asam (kuning) dan bagian dasar asam (kuning) dengan atau tanpa pembentukan gas menandakan terjadinya fermentasi laktosa dan sukrosa. Karena berada dalam konsentrasi yang lebih tinggi, kedua senyawa ini berperan sebagai substrat untuk aktivitas fermentasi yang berkelanjutan dengan mempertahankan reaksi asam baik pada permukaan miring maupun dasar media (Cappucino dkk., 2013).

Permukaan miring basa (merah) dan bagian dasar basa (merah) atau tidak berubah (merah-jingga) menandakan bahwa tidak terjadi fermentasi karbohidrat. Sebaliknya, pepton dikatabolisme pada kondisi anaerob dan/atau aerob menghasilkan pH basa karena pembentukan amonia. Jika hanya terjadi penguraian pepton secara aerob, reaksi basa hanya terlihat pada permukaan miring. Jika terjadi penggunaan pepton secara aerob dan anaerob, reaksi basa tampak pada permukaan miring dan dasar media (Cappucino dkk., 2013).

Tabel 2
 Jenis bakteri yang tumbuh pada media TSIA berdasarkan perubahan warna media

Perubahan warna media TSIA	Jenis bakteri yang tumbuh
Permukaan miring asam, bagian dasar asam, tidak ada H ₂ S	<i>Escherichia, Klebsiella, Enterobacter</i>
Permukaan miring asam, bagian dasar asam, dihasilkan H ₂ S	<i>Citrobacter, Arizona</i> , beberapa <i>Proteus spp.</i>
Permukaan miring basa, bagian dasar asam, tidak ada H ₂ S	<i>Shigella</i> , beberapa <i>Proteus spp.</i>
Permukaan miring basa, bagian dasar asam, dihasilkan H ₂ S	Sebagian besar <i>Salmonella, Arizona, Citrobacter</i>
Permukaan miring basa, bagian dasar basa atau tidak berubah	<i>Alcaligenes, Pseudomonas, Acinetobacter</i>

(Sumber : Cappuccino dkk., *Manual Laboratorium Mikrobiologi*. 2013)

d. Uji produksi indol

Triptofan merupakan asam amino esensial yang dapat mengalami oksidasi melalui aktivitas enzimatis beberapa bakteri. Pengubahan triptofan menjadi produk – produk metabolik dimediasi oleh enzim triptofanase. Kemampuan menghidrolisis triptofan yang disertai dengan produksi indol bukan merupakan karakteristik semua mikroorganisme sehingga dapat digunakan sebagai uji karakteristik secara biokimia (Cappucino dkk., 2013).

Dalam pengujian indol digunakan media SIM, yang mengandung substrat triptofan. Keberadaan indol dapat dideteksi dengan menambahkan pereaksi kovac, yang akan menghasilkan suatu lapisan berwarna merah ceri. Warna merah ceri dihasilkan oleh pereaksi, yang terdiri atas *p*-dimetilaminobenzaldehida, butanol, dan asam hidroklorida. Indol diekskresikan dari media ke dalam lapisan pereaksi oleh komponen *butyl alcohol* yang diasamkan dan membentuk suatu kompleks

dengan *p*-dimetilaminobenzaldehida menghasilkan warna merah ceri. Biakan – biakan yang menghasilkan lapisan pereaksi merah setelah penambahan pereaksi kovac merupakan indol positif. Tidak terbentuknya warna merah ceri menunjukkan bahwa substrat triptofan tidak dihidrolisis dan menyatakan reaksi indol negatif (Cappucino dkk., 2013).

5. Antibiotik

Antibiotik adalah zat-zat yang dihasilkan dari fungi atau bakteri yang memiliki khasiat mematikan atau menghambat pertumbuhan mikroba, sedangkan toksisitasnya bagi manusia relatif kecil. Berdasarkan kemampuan mempengaruhi pertumbuhan mikroba, antibiotik dibagi menjadi spektrum sempit dan spektrum luas. Antibiotik yang berspektrum sempit hanya mempengaruhi beberapa jenis mikroba, misalnya penisilin G hanya efektif terhadap bakteri Gram positif sedangkan antibiotik berspektrum luas mempengaruhi bakteri Gram positif dan Gram negatif serta beberapa jenis bakteri lainnya, misalnya kloramfenikol, siprofloksasin, tetrasiklin dan sulfonamide (Brooks., 2013). Berdasarkan mekanisme aksinya, antibiotika dibedakan menjadi empat, yaitu:

a. Inhibisi sintesis dinding sel

Bakteri memiliki lapisan luar yang kaku, yaitu dinding sel. Dinding sel mempertahankan bentuk dan ukuran mikroorganisme, yang memiliki tekanan osmotik internal yang tinggi. Kerusakan dinding sel atau inhibisi pembentukan dinding sel dapat menyebabkan lisis sel. Dalam suatu lingkungan hipertonik, kerusakan pada dinding sel akan menyebabkan terbentuknya bakteri dengan bentuk sferis, protoplasma atau sferoplas dibatasi oleh membran sitoplasma yang rapuh. Jika protoplasma atau sferoplas berada dilingkungan bertonisitas biasa

maka akan terjadi penyerapan cairan yang cepat, membengkak dan pecah. Spesimen yang mendapatkan terapi antibiotik yang aktif terhadap dinding sel sering memperlihatkan bakteri yang membengkak atau terdistorsi (Brooks., 2013).

b. Inhibisi fungsi membran sel

Sitoplasma pada semua sel hidup dibungkus oleh membran sitoplasma yang berperan sebagai sawar berpermeabilitas selektif, melakukan fungsi transportasi aktif dan mengatur komposisi internal sel. Jika integritas fungsional membran sitoplasma terganggu, makromolekul dan ion – ion akan keluar dari sel dan kemudian terjadi kerusakan atau kematian sel (Brooks., 2013).

c. Inhibisi sintesis protein

Antibiotik ini memberikan efek dengan cara bereaksi pada subunit 50S ribosom dan menghalangi aktivitas enzim peptidil transferase. Enzim ini berfungsi untuk membentuk ikatan peptida antara asam amino baru yang masih melekat pada tRNA dengan asam amino terakhir yang sedang berkembang. Sebagai akibatnya, sintesis protein bakteri akan terhenti seketika (Pratiwi., 2017).

d. Inhibisi sintesis asam nukleat

Mekanisme antibiotik dalam menghambat sintesis asam nukleat ada beberapa jenis. Antibiotik jenis rifampin akan menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengikat polimerasi DNA *dependent RNA polymerase* pada bakteri. Sedangkan antibiotik jenis kuinolon dan fluorokuinon menghambat sintesis DNA mikroba dengan cara menyekat DNA *gyrase* (Brooks., 2013).

6. Antibiotik siprofloksasin

Menurut Suwanto (2014) dikatakan bahwa antibiotik yang sering diberikan kepada penderita ISK adalah antibiotik golongan fluorokuinolon yaitu

siprofloksasin, ofloksasin, dan levofloksasin yang memiliki tingkat keberhasilan 90% - 95% dalam mengobati ISK.

Fluorokuinolon termasuk siprofloksasin dapat digunakan untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh *Gonokokus*, *Shigella*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Haemophilus*, *Moraxella catarrhalis* serta *Enterobacteriaceae* dan *P. aeruginosa* (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2011).

Adapun mekanisme kerja antibiotik golongan fluorokuinolon termasuk siprofloksasin yaitu bekerja menghambat topoisomerase II (DNA gyrase) dan topoisomerase IV yang diperlukan oleh bakteri untuk replikasi DNA. Antibiotik ini membentuk ikatan kompleks dengan masing-masing enzim ini dan DNA bakteri. Hambatan ini menghasilkan efek sitotoksik dalam sel target. Beberapa fluorokuinolon aktif melawan dormant dan bakteri bereplikasi (Raini, 2016).

7. Uji sensitivitas

Uji sensitivitas adalah pengukuran kemampuan antibiotik atau obat kimia dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri secara *in vitro*. Pemeriksaan ini dapat dilakukan dengan 2 cara, yaitu uji sensitivitas dengan metode uji difusi Kirby Bauer dan uji pengenceran MIC (Kuswiyanto, 2015).

a. Uji sensitivitas dengan metode uji difusi Kirby Bauer

Pada uji ini, cakram kertas saring yang telah mengandung antibiotik dengan kadar tertentu diletakan di atas lempeng agar yang telah diinokulasikan bakteri. Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri yang tampak menunjukkan sensitivitas bakteri tersebut terhadap antibiotik yang diujikan. Penilaian terhadap zona hambatan dilakukan dengan membandingkan besarnya diameter zona

hambat dengan tabel rujukan. Hasil penilaiannya berupa sensitif (S), resisten (R), dan intermediet (I) (Kuswiyanto, 2015).

Uji sensitivitas antibiotik terhadap suatu bakteri dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, yaitu (Kuswiyanto, 2015) :

1) Kekeruhan suspensi bakteri

Suspensi yang kurang keruh menunjukkan diameter zona hambat yang lebih lebar. Semakin keruh suspensi, diameter zona hambat akan semakin sempit. Hal ini akan menyebabkan hasil resisten dapat dilaporkan sensitif serta hasil sensitif dapat dilaporkan resisten.

2) Waktu pengeringan/peresapan suspensi bakteri ke dalam agar MH

Waktu pengeringan/peresapan suspensi bakteri ke dalam agar MH tidak boleh lebih dari batas waktu yang ditentukan karena dapat mempersempit diameter zona hambat.

3) Temperatur inkubasi

Pertumbuhan bakteri yang optimum dapat diperoleh dengan inkubasi pada suhu 35⁰C. Suhu yang kurang dari 35⁰C menyebabkan diameter zona hambat lebih lebar.

4) Waktu inkubasi

Metode uji sensitivitas umumnya menggunakan suhu inkubasi 16 – 18 jam. Apabila waktu inkubasi kurang dari 16 jam maka pertumbuhan bakteri belum sempurna sehingga diameter zona hambat akan sulit dibaca atau diameter zona hambat menjadi lebar. Sebaliknya, apabila waktu inkubasi lebih dari 18 jam maka zona hambat yang terbentuk akan semakin sempit.

5) Ketebalan agar

Ketebalan agar yang baik sekitar 4 mm. Apabila lebih dari 4 mm difusi antibiotik akan lebih lambat sedangkan apabila lebih tipis dari 4 mm maka difusi akan berlangsung lebih cepat.

6) Jarak antar-cakram antibiotik

Jarak antar cakram antibiotik yang dianjurkan minimal 15 mm untuk mencegah zona hambat yang tumpang tindih.

7) Komposisi media

Komponen media sangat besar pengaruhnya terhadap pertumbuhan bakteri, difusi antibiotik, dan aktivitas antibiotik.

b. Metode pengenceran (*Minimum Inhibitor Concentration* (MIC))

Minimum Inhibitor Concentration (MIC) adalah kadar terendah antibiotik yang masih mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Dalam metode ini, antibiotik dilarutkan ke dalam kaldu (*broth dilution*) atau di dalam agar (*agar dilution*) untuk kemudian diinokulasikan bakteri yang akan diperiksa (Kuswiyanto, 2015).

Prinsip dari metode ini yaitu bahan anti-mikroba dengan konsentrasi tertentu dimasukkan ke dalam media cawan agar yang kemudian ditanami dengan bakteri. Dengan membandingkan koloni yang tumbuh dengan jumlah koloni yang terdapat pada kontrol akan diketahui persentase hambatan oleh bahan anti-mikroba dan didapatkan nilai *minimum inhibition concentration* (MIC). MIC dinyatakan dalam satuan mg/ml atau mg/L. Metode ini lebih kuantitatif daripada metode difusi (Kuswiyanto, 2015).

8. VITEK[®] 2 Compact

Identifikasi dan uji sensitifitas bakteri secara otomatis dapat dilakukan dengan menggunakan alat VITEK[®] 2 Compact. VITEK[®] 2 Compact merupakan alat hasil pengembangan terbaru VITEK[®] 2 Technology dan merupakan alat *Highly Automatic System* untuk identifikasi dan uji sensitifitas antimikroba berdasarkan prinsip *Advanced Colorimetry* dan *Turbidimetry*. Sehingga memungkinkan hasil identifikasi waktu 5–8 jam (BioMerieux, 2018).



Gambar 4. Alat Vitek-2 Compact
(Sumber : <https://images.app.goo.gl/4n3RFabKgqCxRQOT7>)

Teknologi terbaru menggunakan VITEK[®] 2 Compact ini memudahkan pemeriksaan laboratorium, yaitu dengan 3 tahap. Adapun tiga tahapan tersebut yaitu : persiapan dan pembakuan (standarisasi) kekeruhan inokulum, memasukkan data dengan sistem barcode dan memasukkan kartu ke dalam alat. Selanjutnya seluruh proses inokulasi, inkubasi, pembacaan, validasi dan interpretasi hasil akan dilakukan secara otomatis oleh alat. Hasil pemeriksaan yang sudah selesai dapat dicetak secara otomatis, sedangkan kartu ID/AST (*Identification/Antimicroba Sensitivity Test*) oleh sistemnya secara otomatis akan dibuang ke tempat pembuangan. Hasil pemeriksaan ini juga dapat langsung terhubung dengan

LIS (*Laboratory Information System*). Reagensia yang digunakan hanya larutan salin steril dan VITEK[®] 2 cards (BioMerieux, 2018).

VITEK[®] 2 cards terdiri atas 2 jenis kartu. ID card untuk identifikasi dan AST card untuk uji sensitifitas antibiotik. Setiap kartu dilengkapi dengan barcode. VITEK[®] 2 cards memiliki 600 jenis substrat uji kolorimetrik yang sangat spesifik untuk membedakan antar spesies, sehingga 98% isolat klinik dapat terdeteksi dengan sistem tunggal ini secara cepat. Berikut merupakan jenis VITEK[®] 2 card dan jumlah databasenya (Tabel 3) (BioMerieux, 2018).

Tabel 3
Jenis dan Jumlah Database VITEK[®] 2 Cards

No	Card Type	Jumlah Database
1	GN (Gram negative bacilli)	162 organisms
2	GP (Gram positive cocci and bacilli)	124 organisms
3	ANC (anaerobes and Corynebacteria)	89 organisms
4	NH (Neisseria and Haemophilus)	32 organisms
5	YST (Yeast)	54 organisms

(Sumber : BioMerieux, VITEK[®] 2 Microbiology with Confidence. 2018).

VITEK[®] 2 Compact menggunakan substrat kromogenik sebanyak 47 substrat untuk bakteri Gram negatif dan 43 untuk bakteri Gram positif dibandingkan dengan identifikasi bakteri (Tauran dkk., 2013). Reaksi bakteri *Escherichia coli* dengan substrat dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4
Reaksi yang dihasilkan oleh *Escherichia coli* terhadap Substrat

Substrat Uji Biokimia	Singkatan	Intepretasi Hasil
Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE	APPA	-
ADONITOL	ADO	-
L-Pyrrolydonyl-ARYLAMIDASE	PyrA	-
L-ARABITOL	Larl	-
D-CELLOBIOSE	Dcel	-
BETA-GALACTOSIDASE	BGAL	+
H ₂ S PRODUCTION	H ₂ S	-
BETA-N-ACETYL-GLUCOSAMINIDASE	BNAG	-
Glutamyl Arylamidase Pna	AGLTp	-
D-GLUCOSE	Dglu	+
GAMMA-GLUTAMYL-TRANSFERASE	GGT	-
FERMENTATION/GLUCOSE	OFF	+/-
BETA-GLUCOSIDASE	BGLU	-
D-MALTOSE	Dmal	+
D-MANNITOL	Dman	+
D-MANNOSE	Dmne	+
BETA-XYLOSIDASE	BXYL	-
BETA-Alanine arylamidase Pna	BAlap	-
L-Proline ARYLAMIDASE	ProA	-
LIPASE	LIP	-
PALATINOSE	PLE	-
Tyrosine ARYLAMIDASE	TyrA	+/-
UREASE	URE	-
D-SORBITOL	Dsor	+
SACCHAROSE/SUCROSE	SAC	+/-
D-TAGATOSE	Dtag	+/-
D-TREHALOSE	Dtre	+
CITRATE (SODIUM)	CIT	-
MALONATE	MNT	-

1	2	3
5-KETO-D-GLUCONATE	5KG	-
L-LACTATE alkalization	LLATk	+/-
ALPHA-GLUCONATE	AGLU	-
SUCCINATE alkalization	SUCT	+
Beta-N-ACETYL-GALACTOSAMINIDASE	NAGA	-
ALPHA-GALACTOSIDASE	AGAL	+/-
PHOSPHATASE	PHOS	+/-
Glycine ARYLAMIDASE	GlyA	-
ORNITHINE DECARBOXYLASE	ODC	+/-
LYSINE DECARBOXYLASE	LDC	+/-
L-HISTIDINE assimilation	LHISa	-
COURMARATE	CMT	+
BETA-GLUCURONIDASE	BGUR	+
O/129 RESISTANCE (comp.vibrio)	O129R	+
Glu-Gly-Arg-ARYLAMIDASE	GGAA	-
L-MALATE assimilation	IMLTa	-
ELLMAN	ELLM	+/-
L-LACTATE assimilation	ILATA	-

(Sumber : Tauran dkk., *Identifikasi Bakteri Aerob Gram Negatif Dan Gram Positif Menggunakan Metode Konvensional Dan Otomatik*, 2013)

VITEK[®] 2 *Compact* memiliki perangkat lunak atau software yang mudah digunakan. AES (*Advanced Expert System*) merupakan perangkat lunak yang berkemampuan untuk memvalidasi dan menginterpretasikan hasil identifikasi dan uji sensitivitas bakteri terhadap antimikroba (BioMerieux, 2018).