BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

A. Rumah Sakit

1. Pengertian rumah sakit

Rumah sakit merupakan salah satu bagian sistem pelayanan kesehatan secara garis besar memberikan pelayanan untuk masyarakat berupa pelayanan kesehatan mencakup pelayanan medik, pelayanan penunjang medik, rehabilitasi medik, dan pelayanan perawatan.pelayanan tersebut dilaksanakan melalui unit gawat darurat, unit rawat jalan, dan unit rawat inap (Septiari, 2012).

Rumah sakit merupakan unit pelayanan medis yang sangat kompleks. Kompleksitasnya tidak hanya dari segi jenis dan macam penyakit yang harus memperoleh perhatian dari para dokter untuk menegakkan diagnosis dan menentukan terapinya, namun juga adanya berbagai macam peralatan medis dari yang sederhana hingga yang modern dan canggih (Darmadi, 2008).

Terdapat 4 jenis rumah sakit berdasarkan klasifikasi perumahsakitan di Indonesia yaitu kelas A, B, C dan D. Di Indonesia, Rumah sakit dapat dibedakan berdasarkan jenis pelayanannya menjadi 3 jenis pelayanan yaitu: Rumah Sakit Umum, Rumah Sakit Jiwa, Rumah Sakit Khusus (mata, paru, kusta, rehabilitasi, jantung, kanker, dan sebagainya (Septiari, 2012).

2. RSUD Badung Mangusada

RSUD Badung Mangusada merupakan rumah sakit milik pemerintah Daerah Kabupaten Badung yang berdiri pada tahun 1998, dulu masih berbentuk klinik dengan nama Klinik Dharma Asih yang dikelola oleh Yayasan Hindu Rsi Markandeya. Pada bulan September 2002 RSUD Badung Mangusada resmi

dibuka dengan jenis pelayanan yang disiapkan yaitu UGD, Rawat Jalan dan Rawat Inap. Hingga saat ini layanan kesehatan di RSUD Kabupaten Badung Mangusada terdiri dari Pavilium, Gawat Darurat, Poliklinik, Layanan Unggulan, Rawat Inap, dan Rawat Intensif yang didukung dengan layanan penunjang klinik dan non klinik. Salah satu ruang rawat intensif yaitu ruang NICU yang merupakan ruangan untuk perawatan intensif pasien neonatus (RSUD Mangusada, 2017).

B. Infeksi Nosokomial

1. Pengertian infeksi nosokomial

Nosokomial berasal dari bahasa Yunani, dari kata nosos yang artinya penyakit, dan komeo yang artinya merawat. Nosokomion berarti tempat untuk merawat atau rumah sakit. Jadi infeksi nosokomial dapat diartikan sebagai infeksi yang didapat penderita, ketika penderita dalam proses asuhan keperawatan di rumah sakit (Darmadi, 2008).

Rumah sakit sebagai tempat pengobatan juga merupakan sarana pelayanan kesehatan yang dapat menjadi sumber infeksi dimana orang sakit dirawat. Infeksi yang ada di pusat pelayanan kesehatan ini dapat ditularkan atau diperoleh melalui petugas kesehatan, orang sakit, pengunjung yang berstatus karier atau karena kondisi rumah sakit (Septiari, 2012).

Suatu infeksi pada penderita dapat dinyaatakan sebagai infeksi nosokomial apabila memenuhi beberapa kriteria atau batasan tertentu diantaranya:

a. Pada waktu penderita mulai dirawat di rumah sakit tidak didapatkan tanda-tanda klinik dari infeksi tersebut.

b. Pada waktu penderita mulai dirawat di rumah sakit tidak sedang dalam masa inkubasi dari infeksi tersebut.

c. Tanda-tanda klinik infeksi tersebut timbul sekurang-kurangnya 3 x 24 jam sejak mulai perawatan.

d. Infeksi tersebut bukan merupakan sisa dari infeksi sebelumnya.

e. Bila saat mulai dirawat di rumah sakit sudah ada tanda-tanda infeksi, dan terbukti infeksi tersebut didapat penderita ketika dirawat di rumah sakit yang sama pada waktu yang lalu, serta belum pernah dilaporkan sebagai infeksi nosokomial (Septiari, 2012).

2. Cara penularan infeksi nosokomial

a. Penularan secara kontak

Penularan ini dapat terjadi secara kontak langsung, kontak tidak langsung dan droplet. Kontak langsung terjadi apabila sumber infeksi berhubungan langsung dengan penjamu, misalnya *person to person* pada penularan infeksi virus Hepatitis A secara *fecal oral*. Kontak tidak langsung terjadi apabila penularan membutuhkan objek perantara. Hal ini terjadi karena benda mati tersebut telah terkontaminasi oleh infeksi, misalnya kontaminasi peralatan medis dan mikroorganisme (Septiari, 2012).

b. Penularan melalui *common vehicle*

Penularan ini melalui benda mati yang telah terkontaminasi oleh kuman dan dapat menyebabkan penyakit pada lebih dari satu penjamu. Adapun jenis-jenis *common vehicle* adalah darah atau produk darah, cairan intravena, obat-obatan, dan sebagainya (Septiari, 2012).

c. Penularan melalui udara dan inhalasi

Penularan ini terjadi apabila mikroorganisme mempunyai ukuran yang sangat kecil sehingga dapat mengenai penjamu dalam jarak yang cukup jauh, dan melalui saluran pernapasan. Misalnya mikroorganisme yang terdapat dalam sel-sel kulit yang terlepas seperti *Staphylococcus* dan *Tuberculosis* (Septiari, 2012).

d. Penularan dengan perantara vector

Penularan ini dapat terjadi secara eksternal maupun internal. Penularan secara eksternal apabila hanya terjadi pemindahan secara mekanis dari mikroorganisme yang menempel pada tubuh vektor misalnya *Shigella*, dan *Salmonella* oleh lalat (Septiari, 2012).

3. Tahapan infeksi nosokomial

Adapun tahapan infeksi nosokomial yaitu:

a. Tahap pertama: mikroba patogen bergerak menuju ke penjamu atau penderita dengan mekanisme penyebaran terdiri dari penularan langsung, dan tidak langsung.
b. Tahap kedua: adalah upaya dari mikroba patogen untuk menginvasi ke jaringan atau organ penjamu (pasien) dengan cara mencari akses masuk (*port d'entree*) seperti adanya kerusakan atau lesi kulit atau mukosa dari rongga hidung, mulut dan orifisium uretra, dan sebagainya.
c. Tahap ketiga: adalah mikroba patogen berkembang biak disertai dengan tindakan destruktif terhadap jaringan, walaupun ada mengakibatkan perubahan morfologis, dan gangguan fisiologis jaringan (Septiari, 2012).

4. Dampak infeksi nosokomial

Infeksi nosokomial dapat memberikan dampak sebagai berikut:

a. Menyebabkan cacat fungsional, serta stres emosional dan dapat menyebabkan cacat yang permanen serta kematian.
b. Dampak tertinggi pada negara berkembang dengan prevalensi HIV/AIDS yang tinggi.
c. Meningkatkan biaya kesehatan di berbagai negara yang tidak mampu dengan meningkatkan lama perawatan di rumah sakit, pengobatan dengan obat-obat mahal dan penggunaan pelayanan lainnya.
d. Morbiditas dan mortalitas semakin tinggi.
e. Adanya tuntutan secara hukum.
f. Penurunan citra rumah sakit (Septiari, 2012).

C. Flora Normal

Bakteri merupakan organisme uniseluler yang relatif sederhana karena materi genetik tidak diselimuti oleh selaput membran inti, sel bakteri disebut dengan sel prokariot. Secara umum, sel bakteri terdiri atas beberapa bentuk, yaitu bentuk basil/batang, bulat atau spiral. Bakteri umumnya bereproduksi dengan cara pembelahan biner. Untuk nutrisi, bakteri umumnya menggunakan bahan kimia organik yang dapat diperoleh secara alami dari organisme hidup atau organisme yang sudah mati. Beberapa bakteri dapat membuat makanan sendiri dengan proses biosintesis, sedangkan beberapa bakteri yang lain memperoleh nutrisi dari substansi organik (Radji, 2010).

Istilah flora mikroba normal atau mikrobiota menunjukkan populasi mikroorganisme yang menghuni kulit dan membran mukosa manusia normal yang sehat. Kulit dan membran mukosa selalu menjadi tempat bermukim berbagai mikroorganisme yang dapat dikelompokkan dalam dua grup yaitu (1) flora residen terdiri dari tipe mikroorganisme yang relatif tetap yang secara reguler ditemukan di area tertentu pada umur tertentu, (2) flora transien terdiri dari mikroorganisme nonpatogen atau potensial patogen yang menghuni kulit atau mebran mukosa selama beberapa jam, hari, atau minggu yang berasal dari lingkungan, tidak menimbulkan penyakit dan tidak menetap secara permanen pada permukaan. Namun, jika flora residen terganggu, mikroorganisme transien dapat berkolonisasi, proliferase dan menimbulkan penyakit (Jawetz, Melnick and Adelberg, 2012).

Mikrobiota residen normal tidak berbahaya dan dapat bermanfaat di lokasi normalnya pada penjamu dan dalam keadaan yang tidak abnormalitas koinsiden. Mikrobiota residen normal dapat menimbulkan penyakit jika masuk ke lokasi asing dalam jumlah besar dan jika terdapat faktor predisporsisi (Jawetz, Melnick and Adelberg, 2012).

Beberapa bakteri yang dapat bersifat patogen pada manusia yaitu:

1. *Staphylococcus sp.*

Bakteri *Staphylococcus sp* merupakan bakteri gram positif yang berdiameter sekitar 1 µm tersusun dalam kelompok ireguler. Berbentuk coccus tunggal, berpasangan, berempatan, dan membentuk rantai juga tampak pada kultur likuid. *Staphylococcus* bersifat nonmotil dan tidak membentuk spora. *Staphylococcus* tumbuh dengan mudah pada sebagian besar media bakteriologis

dengan kondisi aerob atau mikroaerofilik. koloni pada media solid berbentuk bulat, halus, timbul dan mengkilat (Jawetz, Melnick and Adelberg, 2012). *Staphylococcus aureus* merupakan Salah satu spesies yag menghasilkan pigmen berwarna kuning emas sehingga dinamakan aureus (berarti emas, seperti matahari). Bakteri ini dapat tumbuh dengan atau tanpa bantuan oksigen (Radji, 2010).

Staphylococcus aureus kebanyakan berkoloni di saluran hidung, dan di bagian tubuh lain. *Staphylococcus epidermidis* ditemukan di kulit. *Staphylococcus aureus* membentuk koloni berwarna kuning pada media yang kaya nutrisi. *Staphylococcus epidermidis* membentuk koloni berwarna putih dan relatif kecil. Staphylococus aureus seringkali bersifat hemolitik pada media agar yang mengandung darah, sedangkan *Staphylococcus epidermidis* bersifat nonhemolitik (Radji, 2010).

Staphylococcus bersifat anaerob fakultatif dan menghasilkan enzim katalase. *Staphylococcus aureus* menghasilkan enzim koagulase, sedangkan *Staphylococcus aureus* bersifat patogen pada manusia, sedangkan *Staphylococcus epidermidis* bersifat nonpatogen dan dapat hidup sebagai flora normal tubuh, seperti pada hidung, tenggorokan rambut, dan kulit orang sehat (Radji, 2010).

2. *Streptococcus sp.*

Bakteri *Streptococcus* merupakan bakteri gram positif dengan ciri khas berpasangan atau berbentuk rantai selama tumbuhnya. Beberapa *Streptococcus* merupakan flora normal, sebagin lainnya berkaitan dengan penyakit penting pada manusia baik akibat infeksi *Streptococcus* maupun sensitisasi terhadap bakteri

tersebut (Jawetz, Melnick and Adelberg, 2012). Bakteri ini memiliki diameter 0,6-1,0 µm, tidak bergerak, dan tidak membentuk spora (Radji, 2010).

Beberapa spesies *Streptococcus* yang cukup penting adalah *Streptococcus agalactiae* (grup B), yang sering menyebabkan penyakit pada bayi baru lahir; *Streptococcus faecalis* (grup D), penyebab utama endokarditis; dan *Streptococcus viridans*, yang berpengaruh pada bakterimia, meningitis dan pneumonia (Radji, 2010).

3. *Corynebacterium diphteriae*

Bakteri *Corynebacterium diphteriae* merupakan bakteri batang gram positif dan tidak dapat membentuk spora. *Corynebacterium* berdiameter 0,5-1 µm dan panjangnya beberapa mikrometer. Secara khas, bakteri ini memiliki pembengkakan ireguler pada salah satu ujung yang memberikan gambaran "bentuk gada" (Jawetz, Melnick and Adelberg, 2012).

Bakteri ini biasanya menyerang saluran napas, terutama laring, amandel, tonsil, tenggorokan dan nasofaring. Infeksi bakteri ini juga dapat terjadi pada rongga hidung bagian depan, hidung bagian dalam, mulut, mata, telinga tengah, dan vagina walaupun sangat jarang terjadi. *Corynebacterium diptheriae* menyebabkan penyakit difteri. Penyakit ini sering menyerang anak-anak berusia kurang dari 1-15 tahun yang tidak mendapatkan vaksinasi, terutama usia 1-9 tahun. Difteri juga dapat terjadi pada orang dewasa yang tidak divaksinasi dan pada bayi baru lahir (Radji, 2010).

4. *Escherichia coli*

Escherichia coli termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae*. Bakteri ini merupakan bakteri gram negatif, berbentuk batang pendek, mempunyai flagel,

berukuran 0,4-0,7 µm x 1,4 µm, dan mempunyai simpai. *Escherichia coli* tumbuh dengan baik di hampir semua media perbenihan, dapat meragi laktosa, dan bersifat mikroaerofilik (Radji, 2010).

Beberapa galur *Escherichia coli* menjadi penyebab infeksi pada manusia, seperti infeksi saluran kemih, infeksi meningitis pada neonatus, dan infeksi intestin (*gastroenteritis*). Ketiga penyakit infeksi tersebut sangat bergantung pada ekspresi faktor virulensi masing-masing serotipe *Escherichia coli*, termasuk adanya adhesin, invasin, jenis toksin yang diproduksi, dan kemampuan mengatasi pertahanan tubuh hospes. Sebagian besar penyakit yang disebabkan oleh infeksi *Escherihia coli* ditularkan melalui makanan yang tidak dimasak dan daging yang terkontaminasi. Penularan penyakit dapat terjadi melalui kontak langsung dan biasanya terjadi di tempat yang memiliki sanitasi dan lingkungan yang kurang bersih (Radji, 2010).

5. *Salmonella*

Salmonella yang termasuk dalam famili *Enterobactericeae* merupakan bakteri patogen pada manusia dan hewan. Infeksi *Salmonella* terjadi pada saluran cerna dan terkadang menyebar lewat peredaran darah ke seluruh organ tubuh (Radji, 2010).

Salmonella merupakan bakteri gram negatif, tidak berspora, tidak mempunyai simpai, tanpa fimbria, dan mempunyai flagel peritrik, keculai *Salmonella pullorum* dan *Salmonella gallinarum*. Sifat *Salmonella typhi* antara lain dapat bergerak, tumbuh pada suasana aerob dan anaerob fakultatif, memberikan hasil positif pada reaksi fermentasi manitol dan sorbitol, dan memberikan hasil negatif pada reaksi indole, DNAse, fenilalanis deaminase,

urease, *Voges Proskauer*, dan reaksi fermentasi sukrosa dna laktosa. *Salmonella typhi* tidak tumbuh dalam larutan KCN, hanya sedikit membentuk gas H_2S, dan tidak membentuk gas pada fermentasi glukosa (Radji, 2010).

6. *Shigella*

Hingga saat ini, telah ditemukan 4 spesies Shigella yaitu *Shigella dysenteriae, Shigella flexneri, Shigella boydii, dan Shigella sonnei*. *Shigella dysenteriae* merupakan bakteri patogen usus yang umumnya dikenal sebagai bakteri penyebab disentri (basilus disentri). *Shigella dysenteriae* termasuk dalam famili *Enterobacteriacea* (Radji, 2010).

Bakteri shigella biasanya tidak memfermentasi laktosa, tetapi memfermentasi karbohidrat lain, menghasilkan asam tetapi tidak menghasilkan gas. Bakteri ini menghasilkan H_2S. Keempat spesies *Shigella* berkerabat dekat dengan *Escherichia coli*. Sebagain besar memiliki antigen yang sama satu dengan yang lain dan dengan bakteri enterik lain (Jawetz, Melnick and Adelberg, 2012). Berdasarkan reaksi fermentasi, *Shigella dysenteriae* dapat dibedakan dari spesies *Shigella* lain karena hasil negatif pada fermentasi manitol (Radji, 2010).

D. Pemeriksaan Laboratorium

1. Pemeriksaan angka kuman

Ada beberapa cara yang dapat digunakan untuk mengukur atau menghitung jumlah jasad renik, salah satunya yaitu hitungan cawan.

Prinsip dari metode hitungan cawan adalah bila sel mikroba yang masih hidup ditumbuhkan pada medium, maka mikroba tersebut akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung, dan kemudian dihitung tanpa

menggunakan mikroskop. Metode ini merupakan metode yang paling sensitif untuk menentukan jumlah jasad renik, dengan alasan:

a. Hanya sel mikroba yang hidup dapat dihitung.
b. Beberapa jasad renik dapat dihitung sekaligus.
c. Dapat digunakan untuk isolasi dan identifikasi mikroba, karena koloni yang terbentuk mungkin berasal dari mikroba yang mempunyai penampakan spesifik (Waluyo, 2016).

Selain keuntungan-keuntungan tersebut diatas, metode hitungan cawan juga mempunyai kelemahan sebagai berikut:

a. Hasil perhitungan tidak menunjukkan jumlah sel yang sebenarnya, karena beberapa sel yang berdekatan mungki membentuk koloni.
b. Medium dan kondisi inkubasi yang berbeda mungkin menghasilkan jumlah yang berbeda pula.
c. Mikroba yang ditumbuhkan harus dapat tumbuh pada medium padat dan membentuk koloni yang kompak, jelas dan menyebar.
d. Memerlukan persiapan dan waktu inkubasi relatif lama sehingga pertumbuhan koloni dapat dihitung (Waluyo, 2016).

Dalam metode hitungan cawan, bahan yang diperlukan mengandung lebih dari 300 sel mikroba per ml atau per gram atau per cm (jika pengambilan sampel dilakukan pada permukaan), memerlukan perlakuan pengenceran sebelumnya ditumbuhkan pada medium agar di dalam cawan petri. Setelah inkubasi, akan terbentuk koloni pada cawan tersebut dalam jumlah yang dapat dihitung, di mana jumlah yang terbaik adalah diantara 30 sampai 300 koloni. Pengenceran biasanya dilakukan secara desimal, yaitu 1:10, 1:100, 1:1000, dan seterusnya. Larutan yang

digunakan untuk pengenceran dapat berupa larutan buffer fosfat, 0,85% NaCl atau larutan Ringer (Waluyo, 2016).

Metode hitungan cawan dibedakan atas dua cara, yakni metode tuang (*pour plate*) dan metode permukaan (*surface/spread plate*). Pada metode tuang, sejumlah sampel (1 ml atau 0,1 ml) dari pengenceran yang dikehendaki dimasukkan ke dalam cawan petri, kemudian ditambah agar-agar cair steril yang telah didinginkan (47^0C) sebanyak 15-20 ml dan digoyangkan supaya sampelnya menyebar. Pada pemupukan dengan metode permukaan, terlebih dahulu dibuat agar cawan kemudian sebanyak 0,1 ml sampel yang telah diencerkan dipipet pada permukaan agar-agar tersebut. Kemudian diratakan dengan batang gelas melengkung yang steril. Jumlah koloni dalam sampel dapat dihitung sebagai berikut :

Koloni per ml atau per gram = $Jumlah\ Koloni\ per\ cawan\ x\ \frac{1}{Faktor\ pengenceran}$

Laporan dari hasil menghitung dengan cara hitungan cawan menggunakan suatu standar yang disebut *Standard Plate Counts* (SPC) sebagai berikut:

a. Cawan yang dipilih dan dihitung adalah yang mengandung jumlah koloni antara 30-300.
b. Beberapa koloni yang bergabung menjadi satu merupakan satu kumpulan koloni yang besar dimana jumlah koloninya diragukan dapat dihitung sebagai satu koloni.
c. Satu deretan rantai kolom yang terlihat sebagai suatu garis tebal dihitung sebagai satu koloni (Waluyo, 2016).

Dalam SPC ditentukan cara pelaporan dan perhitungan koloni sebagai berikut:

a. Hasil yang dilaporkan hanya terdiri dari dua angka yakni angka pertama (satuan) dan angka kedua (desimal) jika angka ketiga sama dengan atau lebih besar daripada 5, harus dibulatkan menjadi satu angka lebih tinggi ada angka kedua. Sebagai contoh, didapatkan 1,7 x 10^4 unit koloni/ml atau 2,0x10^6 unit koloni/gram.
b. Jika pada semua pengenceran dihasilkan kurang dari 30 koloni per cawan petri, berarti pengenceran yang dilakukan terlalu tinggi. Karena itu, jumlah koloni pada pengenceran yang terendah yang dihitung. Hasilnya dilaporkan sebagai kurang dari 30 dikalikan dengan besarnya pengenceran, tetapi jumlah sebenarnya harus dicantumkan di dalam tanda kurung.
c. Jika pada semua pengenceran dihasilkan lebih dari 300 koloni pada cawan petri, berarti pengenceran yang dilakukan terlalu rendah. Karena itu, jumlah koloni pada pengenceran yang tertinggi yang dihitung. Hasilnya dilaporkan sebagai lebih dari 300 dikalikan dengan faktor pengenceran, tetapi jumlah sebenarnya harus dicantumkan di dalam tanda kurung.
d. Jika jumlah dari dua tingkat pengenceran dihasilkan koloni dengan jumlah antara 30 dan 300, dan perbandingan antara hasil tertinggi dan terendah dari kedua pengenceran tersebut lebih kecil atau sama dengan dua, dilaporkan rata-rata dari kedua nilai tersebut dengan memperhitungkan faktor pengencerannya. Jika perbandingan antara hasil tertinggi dan terendah lebih besar daripada dua, yang dilaporkan hanya hasil yang terkecil.

e. Jika digunakan dua cawan petri (duplo) per pengenceran, data yang diambil harus dari kedua cawan tersebut, tidak boleh satu. Oleh karena itu, harus dipilih tingkat pengenceran yang menghasilkan kedua cawan duplo dengan koloni antara 30 dan 300 (Waluyo, 2016)

2. Identifikasi bakteri

Bakteri yang tumbuh pada media perbenihan dilakukan identifikasi dengan tahapan sebagai berikut:

a. Mikroskopis

Penampakan mikroorganisme dalam keadaan hidup cukup sulit, bukan hanya karena ukurannya yang sangat kecil, melainkan juga krena mikroorganisme tersebut transparan dan praktis tidak berwarna bila disuspensikan dalam suatu media cair. Untuk mempelajari sifat-sifat dan membagi mikroorganisme-mikroorganisme tersebut ke dalam kelompok-kelompok spesifik untuk tujuan diagnosis, pewarna-pewarna biologis dan prosedur pewarnaan bersama dengan mikroskopi cahaya telah menjadi peralatan utama pada mikrobiologi (Cappucino and Sherman, 2009).

Berbagai teknik pewarnaan tersedia untuk visualisasi, diferensiasi, dan pemisahan bakteri dalam hal karakteristik morfologis dan struktur sel. Salah satu pewarnaan bakteri yaitu pewarnaan gram yang merupakan pewarnaan diferensial (Cappucino and Sherman, 2009).

Pewarnaan gram membagi sel-sel bakteri ke dalam dua kelompok utama yaitu gram positif dan gram negatif, yang menjadikan sebagai suatu alat yang penting untuk klasifikasi dan diferensiasi mikroorganisme. Reaksi pewarnaan gram didasarkan pada perbedaan komposisi kimiawi dinding sel bakteri. Sel-sel

gram positif memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal, sedangkan lapisan peptidoglikan pada sel-sel gram negatif jauh lebih tipis dan dikelilingi oleh lapisan yang mengandung lemak di bagian luarnya (Cappucino and Sherman, 2009).

Pewarnaan gram menggunakan empat pereaksi yang berbeda yaitu kristal violet yang digunakan pertama kali dan mewarnai seluruh sel menjadi ungu, iodin gram berperan sebagai peluntur yang meningkatkan afinitas sel terhadap suatu pewarna dengan cara berikatan dengan pewarna primer, etil alkohol 95%. sebagai senyawa pendehidrasi protein dan pelarut lipid dan pewarna safranin digunakan untuk memberikan warna merah pada sel-sel yang sebelumnya telah kehilangan warna (Cappucino and Sherman, 2009).

b. Uji Biokimia

1) Uji *Triple Sugar-Iron Agar* (TSIA)

Uji 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. Pembedaan ini dilakukan berdasarkan perbedaan pola fermentasi karbohidrat dan pembentukan hidrogen sulfida oleh berbagai kelompok organisme intestinal.

Agar miring TSIA mengandung laktosa dan sukrosa berkonsentrasi 1% serta glukosa berkonsentrasi 0,1%. ini akan memungkinkan deteksi penggunaan substrat-substrat tersebut saja. Indikator asam-basa fenol merah juga ditambahkan dalam media utnuk mendeteksi fermentasi karbohidrat yang ditandai oleh

perubahan warna media dari merah-jingga menjadi kuning karena terbentuknya asam. Media TSIA juga mengandung natrium tiosulfat, suatu substrat untuk pembentukan hidrogen sulfida (H_2S), dan fero sulfat untuk mendeteksi hasil akhir yang tidak berwarna ini. Setelah inkubassi, hanya biakan organisme yang dapat menghasikan H_2S yang akan menunjukkan penghitaman yang pekat di bagian dasar karena terjadi pengendapan fero sulfida yang tidak larut (Cappucino asnd Sherman, 2009).

2) Fermentasi Karbohidrat

Sebagian besar mikroorganisme mendapatkan energi melalui serangkaian reaksi enzimatik yang teratur dan terpadu pada biooksidasi suatu substrat, biasanya karbohidrat. Pada fermentasi, substrat-substrat seperti karbohidrat dan alkohol mengalami disimilasi anaerob dan menghasilkan suatu asam organik yang kemungkinan disertai dengan pembentukan gas seperti hidrogen atau karbon dioksida (Cappucino and Sherman, 2009).

3) Uji Indole Metil Merah Voges-Proskauer Citrate (IMViC)

Diferensiasi kelompok-kelompok utama *Enterobacteriaceae* dapat dilakukan berdasarkan sifat biokimia dan reaksi enzimatik bakteri-bakteri tersebut ketika terdapat substrat-substrat spesifik.

a) Triptofan

Triptofan merupakan asam amino esensial yang dapat mengalami oksidasi melalui aktivitas enzimatik beberapa bakteri. Pengubahan triptofan menjadi produk-produk metabolik dimediasi oleh enzim triptofanase. Pada uji ini digunakan agar *Sulfide Indole Motility* (SIM) yang mengandung substrat triptofan. Keberadaan indol dapat dideteksi dengan menambahkan pereaksi Kovac, yang

akan menghasilkan suatu lapisan pereaksi berwarna merah ceri. Warna ceri dihasilkan oleh pereaksi yang terdiri atas *p*-dimetilaminobenzaldehida, butanol dan asam hidroklorida. Indol diekstraksi dari media ke dalam lapisan pereaksi oleh komponen butil alkohol yang diasamkan dan membentuk suatu kompleks dengan *p*-dimetilaminobenzaldehida menghasilkan warna merah ceri (Cappucino and Sherman, 2009).

b) Metil Merah

Monosakarida heksosa glukosa merupakan substrat utama yang digunakan oleh semua organisme enterik untuk membentuk energi. Produk-produk akhir dalam proses ini akan beragam bergantung pada jalur enzimatik spesifik yang ada dalam bakteri. Pada uji ini, indikator pH metil merah mendeteksi terbentuknya produk akhir asam berkonsentrasi tinggi. Meskipun sebagian besar mikroorganisme enterik memfermentasi glukosa menghasilkan asam-asam organik, uji ini penting untuk membedakan *Escherichia coli* dan *Enterobacter aerogenes* (Cappucino and Sherman, 2009).

c) Voges-Proskauer

Uji Voges-Proskauer menentukan kemampuan beberapa organisme membentuk produk akhir non-asam atau netral, seperti asetilmetilkarbinol, dari asam-asam organik yang dihasilkan dari metabolisme glukosa. Fermentasi glukosa ini yang merupakan karakteristik *Enterobacter aerogenes.*

Pereaksi yang digunakan dalam uji ini, pereaksi Barritt, terdiri atsa campuran senyawa alkohol α-naftol dan larutan kalium hidroksida 40%. Deteksi asetilmetilkarbinol dapat dilakukan apabila produk akhir ini dioksidasi menjadi suatu senyawa diasetil. Reaksi ini akan terjadi dengan adanya katalis α-naftol dan

gugus guanidin dalam pepton yang terkadung dalam media MR-VP. Hasilnya akan terbentuk kompleks berwarna merah muda, yang memberikan warna merah mawar pada media (Cappucino and Sherman, 2009).

d) Simmons Citrate (SC)

Dalam kondisi tidak ada glukosa atau laktosa yang dapat difermentasi, beberapa mikroorganisme dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon tuntuk mendapatkan energi, kemampuan menggunakan sitrat sebagai sumber karbon bergantung pada keberadaan sitrat permease yang memfasilitasi transpor sitrat di dalam sel. Sitrat diaktifkan oleh enzim sitrase, yang menghasilkan asamoksaloasetat dan asetat. Produk-produk ini kemudian diubah secara enzimatik menajdi asam piruvat dan karbondioksida. Selama reaksi ini, media menjadi basa-karbondioksida yang dihasilkan akan bergabung dengan natrium dan air membentuk natrium karbonat, suatu produk yang bersifat basa (Cappucino and Sherman, 2009).

e) Hidrogen Sulfida dan Motilitas

Media SIM mengandung peptone dan natrium tiosulfat sebagai substrat sulfur, fero sulfat ($FeSO_4$), yang berperan sebagai indikator H_2S, dan agar secukupnya untuk menghasilkan media yang semisolid sehingga meningkatkan respirasi anaerob. Selain itu agar SIM juga digunakan untuk mendeteksi organisme motil. Motilitas dikenali apabila pertumbuhan biakan (kekeruhan) organisme berflagelum tidak hanya tampak pada garis inokulasi (Cappucino and Sherman, 2009).

4) Uji katalase

Organisme-organisme yang dapat menghasilkan katalase menguraikan hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen bebas. Produksi katalase dapat ditentukan dengan menambahkan substrat H_2O_2 ke dalam biakan agar miring *Trypticase Soy Agar* (TSA). Jika terdapat katalase maka akan terbentuk gelembung-gelembung gas oksigen bebas (Cappucino and Sherman, 2009).

5) Uji koagulase

Plasma kelinci atau plasma manusia yang mengandung sitrat dan diencerkan 1:5, dicampur dengan biakan kaldu atau pertumbuhan koloni pada agar dengan volume yang sama dan diinkubasi pada suhu 37^0C. Jika terbentuk bekuan dalam 1-4 jam, tes ini positif. Stafilokokus koagulase positif dianggap patogen bagi manusia (Jawetz, Melnick and Adelberg, 2012).