

UJI KEPEKAAN BAKTERI YANG DIISOLASI DAN DIIDENTIFIKASI DARI URIN PENDERITA INFEKSI SALURAN KEMIH (ISK) DI RSUP PROF. DR. R. D. KANDOU MANADO TERHADAP ANTIBIOTIK CEFIXIME, CIPROFLOXACIN DAN COTRIMOKSAZOLE

Anastasya R. Nua¹⁾, Fatimawali¹⁾, Widdhi Bodhi¹⁾
¹⁾Program Studi Farmasi, FMIPA UNSRAT Manado, 95115

ABSTRACT

Urinary tract infection is an infection that occurs along the urinary tract including the kidneys due to the proliferation of microorganisms . Most of the treatment of urinary tract infections was done by using antibiotics according to the indication. The purpose of this study were to determine the level of sensitivity of the bacteria which isolated and identified from the urine of patients urinary tract infection against antibiotic such as cefixime, ciprofloxacin, and cotrimoksazole. For this research, samples was taken from the urine of urinary tract infection patiens for the isolation and identification of bacteria, as well as testing their sensitivity to antibiotics as the standard CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). These results indicated that three species of bacteria identified from the urine which isolated from patients with urinary tract infections and there are Escherichia coli, Proteus mirabilis, Klebsiella sp . The three species of these bacteria had a sensitivity of 100 % against ciprofloxacin, intermediates of 57.1 % against cotrimosazole and 100% resistant against cefixime .

Keywords : *Urinary tract infections, bacteria , identification, antibiotic, sensitivity*

ABSTRAK

Infeksi saluran kemih adalah infeksi yang terjadi di sepanjang saluran kemih termasuk ginjal akibat poliferasi mikroorganisme. Sebagian besar pengobatan infeksi saluran kemih menggunakan antibiotik atas indikasi. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan tingkat kepekaan bakteri yang diisolasi dan diidentifikasi dari urin penderita infeksi saluran kemih terhadap antibiotik cefixime, ciprofloxacin, dan cotrimoksazole. Penelitian ini dilakukan dengan mengambil sampel urin penderita infeksi saluran kemih untuk dilakukan isolasi dan identifikasi bakteri, serta uji kepekaannya terhadap antibiotik sesuai standar CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat 3 jenis bakteri yang teridentifikasi dari isolat urin penderita infeksi saluran kemih yaitu *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella* sp. Ketiga jenis bakteri ini memiliki sensitifitas 100% terhadap antibiotik ciprofloxacin, intermediet sebesar 57,1% terhadap antibiotik cotrimosazole dan resisten sebesar 100% terhadap antibiotik cefixime.

Kata kunci : Infeksi saluran kemih, bakteri, identifikasi, antibiotik, sensitivitas

PENDAHULUAN

Infeksi saluran kemih (ISK) adalah infeksi yang terjadi di sepanjang saluran kemih, termasuk ginjal akibat poliferasi mikroorganisme. Infeksi saluran kemih dapat dibagi menjadi cystitis dan pielonefritis. Cystitis adalah infeksi kandung kemih sedangkan pielonefritis adalah infeksi pada ginjal yang dapat bersifat akut atau kronik (Corwin,2000). Infeksi saluran kemih merupakan penyakit kedua tersering setelah infeksi saluran napas bagian atas (Betz,2009). Pada wanita biasanya ISK lebih sering terjadi, salah satu penyebabnya adalah uretra wanita yang lebih pendek sehingga bakteri lebih mudah berkembang hingga kandung kemih. Infeksi saluran kemih dapat terjadi pada pria usia lanjut meskipun jarang terjadi, penyebab paling sering ialah prostatitis dan hiperplasia prostat (Corwin, 2000).

Bakteri penyebab paling umum adalah *Escherichia coli*, organisme aerobik yang banyak terdapat di daerah usus bagian bawah. ISK dapat pula disebabkan oleh mikroorganisme lain seperti *Proteus*, *Klebsiella*, dan *staphylococcus* yang bisa ditemukan pada pemasangan kateter (Tambayong,2000). Sebagian besar pengobatan ISK menggunakan antibiotik atas indikasi. Antibiotik yang biasa digunakan adalah cotrimoksazole, fluoroquinolon, betalaktam contohnya penisilin dan sefalosporin, dan aminoglikosida (Syarif A dkk, 2007).

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat Pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2015 sampai Agustus 2016. Tempat pelaksanaan dilakukan di RSUP

Prof. Dr. R.D. Kandou Manado dan Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi.

Jenis Penelitian

Penelitian yang dilakukan menggunakan metode deskriptif eksploratif dengan pendekatan studi prospektif. Pengambilan sampel dilakukan dengan cara total sampling dari pasien penderita ISK yang menjalani rawat jalan di RSUP Prof. R. D. Kandou Manado dari bulan Mei-Juni 2016.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu : Jarum Ose, Cawan Petri (*Normax*), Bunsen, Tabung Reaksi (*Pyrex*), Rak Tabung, Pinset, Pipet Tetes, Laminal Air Flow (*Biotek*), Autoklaf (*ALP*), Baker Glass (*Approx*), Hot Plate dan Stirrer, Timbangan Analitik (*Kern*), Gelas Ukur (*Pyrex*), Kapas, Mikropipet (*Ecopipette*), Erlenmeyer (*Approx*), Inkubator (*Incucell*), Batang Pengaduk, Mistar Berskala, Plastik Wrap dan Aluminium Foil, Tabung Hach.

Bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu : Urine, cakram antibiotik Cefixime 5µg (*Oxoid*), Ciprofloxacin 5µg (*Oxoid*) dan Cotrimoksazole 25 µg (*Oxoid*), NaCl 0,9%, Aquades, H₂O₂, Kristal Violet, Lugol, Minyak Imeri, Alkohol, Nutrient Agar (*Oxoid*), Nutrient Broth (*Oxoid*), NaCl, Safranin, Simon Citrate Agar (*Oxoid*), Triple Sugar Iron Agar (*Oxoid*), Trypton (*Oxoid*), Lysine Iron Agar (*Oxoid*), Yeast Extract (*Oxoid*), Reagen covac, dan Agar Bacteriological (*Oxoid*).

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan dengan cara mengambil sampel urin pada 3

orang pasien rawat jalan yang terdiagnosa infeksi saluran kemih di RSUP Prof. Dr. R.D. Kandou Manado.

Sterilisasi Alat

Alat-alat yang digunakan disterilkan terlebih dahulu sebelum penelitian. Sterilisasi alat dilakukan menggunakan autoklaf dengan cara alat-alat gelas yang akan digunakan dalam penelitian dibungkus menggunakan alumunium foil kemudian dimasukkan kedalam autoklaf, kemudian autoklaf dihidupkan pada suhu 121°C selama 15-20 menit. Alat-alat yang sudah disterilkan kemudian ditunggu hingga mencapai suhu kamar dan kering (Maradona,2013).

Pembuatan Media

a. Media Pertumbuhan

Nutrien Agar (NA) sebanyak 2,3 gram dilarutkan dalam 100 ml aquades (23 g/1000 ml) menggunakan Erlenmeyer, setelah itu dihomogenkan dengan stirer diatas penangas air sampai mendidih. Media yang sudah homogeny ini disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian didinginkan sampai suhu $\pm 45-50^{\circ}\text{C}$. Media pertumbuhan digunakan dalam pertumbuhan dan isolasi bakteri yang berasal dari urin (Lay,1994).

b. Media *Luria Bertani* Agar

Media LB dibuat dengan menimbang tripton sebanyak 2 gram, NaCl sebanyak 2 gram, yeast extract sebanyak 1 gram dan agar bacteriological sebanyak 3 gram, kemudian dimasukkan kedalam erlenmeyer dan dilarutkan bersama aquades sebanyak 200 ml kemudian dihomogenkan. Media yang sudah homogen ini disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit,

kemudian dituangkan pada masing-masing cawan petri sebanyak 20 ml dan didinginkan sampai memadat. Media ini digunakan untuk inokulasi bakteri dan uji kepekaan terhadap bakteri.

Inokulasi Bakteri pada Media

Diambil urin sebanyak 1 ml kemudian dimasukkan pada tabung reaksi yang telah berisi 10 ml NaCl 0,9% dan divortex. Selanjutnya dipipet sebanyak 100 μl dan dituangkan keatas media Nutrien Agar (NA) yang sudah memadat. Selanjutnya cawan petri ditutup dengan plastik wrap. Urin yang mengandung bakteri yang telah ditanamkan pada media Nutrien Agar selanjutnya diinkubasi dalam inkubator pada suhu 35-36 °C. Dibiarkan selama minimal 18 jam, tetapi reinkubasi tambahan selama 24 jam diindikasikan jika pada pertumbuhannya kurang dari perkiraan atau jika hanya terdapat sedikit koloni (Vandepitte dkk,2010).

Isolasi Bakteri

Setiap koloni yang telah ditanam pada media Nutrien Agar (NA) diambil menggunakan jarum ose untuk dipindahkn ke media agar miring untuk mendapatkan isolat bakteri. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 35-36 °C selama $\pm 18-24$ jam (Vandepitte dkk,2010).

Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri bertujuan untuk mengetahui jenis/genus bakteri yang terdapat pada urin. Hal ini dilakukan dengan beberapa pengujian.

Uji Morfologi dilakukan dengan pewarnaan Gram yang bertujuan untuk memudahkan melihat bakteri dengan mikroskop, memperjelas ukuran dan bentuk bakteri, melihat struktur luar dan struktur dalam seperti dinding sel dan vakuola,

menghasilkan sifat-sifat fisik dan kimia yang khas dari pada bakteri dengan zat warna, serta menentukan bentuk bakteri apakah berupa basil, kokus, atau spiral

Uji Fisiologi dilakukan dengan uji motilitas yang bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri yang diuji dapat melakukan pergerakan atau tidak.

Uji Indol bertujuan untuk menentukan kemampuan isolat uji dalam mendegradasi triptofan. Untuk media ini digunakan media semi padat yang kaya akan triptofan.

Uji Sitrat bertujuan untuk menentukan kemampuan bakteri dalam menggunakan sitrat sebagai sumber karbon dan energi.

Uji H₂S bertujuan untuk menentukan kemampuan isolat uji dalam memproduksi H₂S melalui reduksi tiosulfat. Adanya endapan hitam menunjukkan terjadinya produksi H₂S.

Uji Fermentasi karbohidrat bertujuan untuk menentukan kemampuan bakteri dalam mendegradasi dan memfermentasikan karbohidrat tertentu dengan memproduksi asam atau basa dan gas.

Uji lysin digunakan untuk melihat kemampuan bakteri melakukan dekarboksilasi dalam asam amino berupa lysin melalui produksi enzim dekarboksilasi.

Uji Katalase bertujuan untuk menentukan kemampuan bakteri untuk mendegradasi hydrogen peroksida melalui produksi enzim katalase.

Uji Kepekaan Bakteri Terhadap Antibiotik

a. Pembuatan Larutan Mc. Farland

Larutan H₂SO₄ 1% Sebanyak 99,5 ml dicampurkan dengan larutan BaCl₂ 1,175% sebanyak 0,5 ml dalam Erlenmeyer. Kemudian dikocok sampai

terbentuk larutan yang keruh. Kekeruhan ini dipakai sebagai standar kekeruhan suspensi bakteri uji (Bresson dan Borges,2004).

b. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri uji yang telah diinokulasi diambil dengan jarum ose steril lalu disuspensikan kedalam tabung yang berisi 5 ml larutan NaCl 0,9% hingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan *Mc. Farland*. Perlakuan yang sama dilakukan pada setiap jenis bakteri uji (Davis and Stout,1971).

c. Penanaman Cakram Antibiotik

Dipipet suspense bakteri uji sebanyak 200 µl dan dituangkan keseluruh permukaan media *Luria Bertani Agar Plate* selanjutnya diratakan menggunakan *L-glass* dan diamankan selama 5 menit. Tempatkan cakram Cefixime 5 µg, Ciprofloxacin 5 µg, dan Cotrimoksazole 25 µg, pada permukaan media *Luria Bertani Plate*. Cakram antibiotik ditekan menggunakan pinset agar dapat menempel secara sempurna di permukaan agar. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Dibuat tiga kali ulangan pada cawan petri yang berbeda (Kumala dkk,2010).

d. Pengukuran dan Penetapan Zona Hambat

Setelah inkubasi, diamati *zona* pertumbuhan bakteri disekitar cakram antibiotik. Koloni bakteri yang sensitif terhadap antibiotik Cefixime, Ciprofloxacin, dan Cotrimoksazole dilihat dengan adanya zona hambatan berupa daerah bening di sekitar cakram antibiotik. Daerah hambatan antibiotik

terhadap pertumbuhan bakteri diukur menggunakan mistar berskala atau jangka sorong dengan satuan mm. Kemudian zona hambatan dibandingkan berdasarkan pedoman CLSI.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Isolasi dan identifikasi secara Uji Morfologi, Uji Fisiologi, Uji Biokimia dan Pewarnaan Gram dari 3 sampel urin diperoleh 7 isolat. Untuk hasil penelitian mengenai jenis bakteri yang teridentifikasi dapat dilihat pada Tabel berikut :

Tabel 1. Jenis Bakteri Hasil Identifikasi

Kode Isolat	Hasil Identifikasi Bakteri
U1-1	<i>Escherichia Coli</i>
U1-2	<i>Proteus Mirabilis</i>
U2-1	<i>Escherichia Coli</i>
U2-2	<i>Proteus Mirabilis</i>
U2-3	<i>Klebsiella sp</i>
U2-4	<i>Klebsiella sp</i>
U3-1	<i>Escherichia Coli</i>

Dari tabel 1 ditunjukkan bahwa jenis bakteri yang teridentifikasi dari uji biokimia dan pewarnaan gram hasil isolasi dari urin cukup beragam yaitu *Escherichia Coli* (U1-1, U2-1, U3-1), *Proteus Mirabilis* (UI-2, U2-2), *Klebsiella sp* (U2-3, U2-4).

Uji Kepekaan Bakteri Terhadap Antibiotik.

Sensitivitas bakteri terhadap antibiotik diperoleh melalui pengukuran diameter zona hambatan yang terbentuk setelah proses penempelan cakram antibiotik. Hasil pengukuran zona hambat selanjutnya dibandingkan dengan standar diameter zona hambatan berdasarkan pedoman CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*). Pada uji kepekaan digunakan 3 jenis cakram antibiotik yaitu Cefixime,

Ciprofloxacin dan Cotrimoksazole. Sehingga didapatkan distribusi frekuensi pola sensitivitas dari antibiotik Cefixime, Ciprofloxacin dan Cotrimoksazole yang dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 2 Distribusi Frekuensi Pola Sensitivitas Bakteri Terhadap Antibiotik Cefixime

Jenis Bakteri	Cefixime		
	Sensiti f	Intermedie t	Resiste n
<i>Escherichia Coli</i>	0	0	3
<i>Proteus Mirabilis</i>	0	0	2
<i>Klebsiella sp</i>	0	0	2
Jumlah	0 (0%)	0 (0%)	7 (100%)

Pada tabel 2 menunjukkan bahwa antibiotik cefixime telah resisten 100% terhadap semua jenis bakteri yang berhasil diisolasi dari urin penderita ISK. tingginya angka resistensi terhadap golongan beta lactam ini diakibatkan oleh kemampuan bakteri untuk membentuk enzim *beta lactamase*. Untuk mengatasi masalah resistensi kuman ini, telah disintesa dua jenis senyawa yaitu derivat yang tahan *beta lactamase* dan yang memblok *beta lactamase* (Mutiara,2012). Turunan sefalosporin masih tahan terhadap bermacam-macam *lactamase* yang dibentuk oleh berbagai kuman, namun kenyataannya bakteri penyebab infeksi saluran kemih, sebagian besar menunjukkan angka resistensi yang cukup tinggi terhadap sefalosporin. Tingginya angka resistensi terhadap sefalosporin diakibatkan oleh penggunaan sefalosporin secara luas dan tidak rasional.

Tabel 3 Distribusi Frekuensi Pola Sensitivitas Bakteri Terhadap Antibiotik Ciprofloxacin

Jenis Bakteri	Ciprofloxacin		
	Sensitif	Intermedi et	Resiste n
<i>Escherichia Coli</i>	3	0	0
<i>Proteus Mirabilis</i>	2	0	0
<i>Klebsiella</i> sp	2	0	0
Jumlah	7(100%)	0(0%)	0(0%)

Tabel 3 menunjukkan bahwa antibiotik Ciprofloxacin memiliki pola sensitive sebesar 100% terhadap semua jenis bakteri hasil isolasi dari urin penderita ISK, hal ini menandakan bahwa ciprofloxacin merupakan antibiotik spectrum luas yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri khususnya bakteri Gram negative penyebab infeksi saluran kemih (ISK). Mekanisme kerjanya dengan menghambat tropoisomerase II (DNA girase) dan tropoisomerase VI pada bakteri (Setiabudy,2007).

Tabel 4. Distribusi Frekuensi Pola Sensitivitas Bakteri Terhadap Antibiotik Cotrimoksazole

Jenis Bakteri	Cotrimoksazole		
	Sensitif	Intermediet	Resisten
<i>Escherichia Coli</i>	1	1	1
<i>Proteus Mirabilis</i>	0	1	1
<i>Klebsiella</i> sp	0	2	0
Jumlah	1(14,3%)	4(57,1%)	2(28,6%)

Tabel 4 menunjukkan bahwa antibiotik Cotrimoksazole memiliki pola sensitivitas yaitu intermediet dengan nilai paling tinggi sebesar 57,1%. intermediet merupakan hasil kepekaan yang menunjukkan zona tengah antara sensitive dan resisten terhadap suatu antibiotik dan dapat digunakan dengan menaikkan dosis terapi (Vandepitte *et al*,2010). Sehingga dalam hal ini antibiotik cotrimoksazole masih dapat digunakan sebagai terapi infeksi saluran kemih dengan menaikkan dosis terapi namun tetap memperhatikan keamanan terapi.

Antibiotik tidak selamanya selalu efektif membunuh bakteri atau menghambat pertumbuhannya. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh berbagai faktor, salah satunya adalah terjadinya resistensi bakteri terhadap antibiotik tertentu. Resistensi kuman adalah suatu sifat tidak terganggunya kehidupan sel bakteri oleh antibiotik. Terdapat 5 mekanisme Antibiotik dalam membunuh bakteri, yaitu pertama, menghasilkan enzim yang menghancurkan obat aktif. Kedua mengubah permeabilitas terhadap obat. Ketiga dengan mengubah target struktural untuk obat. Keempat dengan mengubah jalur metabolik yang dilintasi oleh reaksi penghambatan obat, contohnya beberapa bakteri yang resisten terhadap sulfonamid tidak memerlukan PABA ekstraseluler tetapi seperti sel mamalia dapat menggunakan asam folat yang telah dibentuk sebelumnya. Kelima dengan mengubah enzim yang masih dapat melakukan fungsi metaboliknya tetapi kurang dipengaruhi obat (Jawetz,2004).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa

bakteri yang teridentifikasi dari isolat urin penderita infeksi saluran kemih di RSUP Prof. Dr. R.D. Kandou Manado adalah jenis *Escherichia Coli*, *Proteus Mirabilis*, dan *Klebsiella* sp. Ketiga jenis bakteri ini memiliki sensitifitas 100% terhadap antibiotik ciprofloxacin, intermediet sebesar 57,1% terhadap antibiotik cotrimoksazole dan resisten sebesar 100% terhadap antibiotik cefixime.

SARAN

1. Berdasarkan penelitian yang dilakukan perlu dipertimbangkan untuk penggunaan antibiotik ciprofloxacin terhadap penderita ISK di RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado
2. Perlu dilakukan evaluasi prosedur terapi ISK dengan antibiotik agar selalu sesuai dengan pola bakteri penyebab dan uji kepekaannya yang terkini, agar mendapat terapi yang tepat.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan jumlah sampel yang lebih banyak dan dilakukan secara teratur untuk mengetahui antibiotik yang tepat bagi penderita ISK berdasarkan pola kepekaan bakteri terhadap antibiotik.

DAFTAR PUSTAKA

Betz, Cecily Lynn. 2009. *Buku Saku Keperawatan Pediatri* ed.5. Jakarta:EGC

Bresson dan Broges. 2004. *Delievery Methods for Introducing Endophytic Bacteria into Maize*.Biocontrol. **49**: 315-322

Corwin, Elizabeth J.2000. *Hand Book Pathophysiology* edisi pertama. Alih bahasa: Brahm U. Jakarta: EGC

Davis and Stout.1971. *Disc Plate Methods of Microbiological Antibiotik Assay*.Mikrobiologi

Jawetz, M, Adelberg.2004. *Mikrobiologi Kedokteran Fakultas Kedokteran* edisi 23. Jakarta : ECG

Kumala dan Mardiasuti.2010. *Pola Resistensi Antibiotik Terhadap Isolat Bakteri Sputum Penderita Tersangka Infeksi Saluran Nafas Bawah*. Jurnal Farmasi Indonesia. 5: 24-32

Lay. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium Edisi 1*. Jakarta : Raja Grafindo Persada

Maradona Doni. 2013. *Uji Aktivitas Antibakteri Estrak Etanol Daun Durian (*Duriozibethinus L*),Daun Lengkung (*Dimocarpus longan Lour*), Dan Daun Rambutan (*Nephelium lappaceumL*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25925 dan *Escherichia coli* ATCC 25922*. Uin syarif hidayatullah jakarta (skripsi).

Mutiara Medika.2012. *Identifikasi Pola Kepekaan dan Jenis Bakteri pada Pasien Infeksi Saluran Kemih di Rumah Sakit PKU Muhammadiyah Yogyakarta*. Vol 12. 2: 93-101.

Setiabudy. R.2007 . *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5. Balai penerbit FKUI. Jakarta

Syarif, A et.al. 2007 . *Farmakologi dan Terapi edisi 5*. Jakarta: Gaya Baru

Tambayong.2000. *Patofisiologi untuk Keperawatan*. Jakarta: EGC

Vandepitte,J,K. Engbaek, P.Rohner, P.Piot, C.C Heuck.2010. *Prosedur Laboratorium Dasar Untuk Bakteriologi Klinis*. Edisi 2.

Terjemahan L.Setiawan. Buku
Kedokteran.Jakarta:EGC