

**UJI KEPEKAAN BAKTERI YANG DIISOLASI DAN DIIDENTIFIKASI
DARI URIN PENDERITA INFEKSI SALURAN KEMIH
DI RSUP PROF. DR. R. D. KANDOU MANADO TERHADAP ANTIBIOTIK
AMOKSISILIN, GENTAMISIN DAN SEFTRIAKSON**

Florecia Angela Sondakh¹⁾, Fatimawali¹⁾, Defny Silvia Wewengkang¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

ABSTRACT

Urinary tract infection is one of the most infectious diseases, which are found after a respiratory tract infection. Urinary Tract Infection is the state of where the microorganisms was discover in human urine within a certain amount. The use of antibiotics is the main choice in the treatment of urinary tract infections. The purpose of this study were to isolated and identified the bacteria from the urine of patients with urinary tract infection and to test the sensitivity of the bacteria against the antibiotic Amoxicillin, Gentamicin and Ceftriaxone. Bacteria were obtained from the urine sample of three patients with urinary tract infection and sample were identifying using biochemical test and Gram staining. Susceptibility test of bacteria was performing using disc diffusion with the antibiotic amoxicillin, gentamicin, and ceftriaxone. The result obtained three types of bacteria such as Escherichia coli, Klebisella sp. and Proteus mirabilis, which the highest sensitivity shown to gentamicin (100%) and the highest resistance was to ceftriaxone (100%).

Keywords : Urinary tract infection, Sensitivity, Bacteria, Antibiotic

ABSTRAK

Infeksi saluran kemih merupakan salah satu penyakit infeksi kedua terbanyak yang sering ditemukan setelah infeksi saluran napas. Infeksi Saluran Kemih adalah keadaan ditemukannya mikrorganisme di dalam urin dalam jumlah tertentu. Penggunaan antibiotik ialah pilihan utama dalam pengobatan infeksi saluran kemih. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan isolasi dan identifikasi bakteri dari urin pasien penderita infeksi saluran kemih dan melakukan uji kepekaan bakteri tersebut terhadap antibiotik Amoksisisilin, Gentamisin dan Seftriakson. Bakteri yang didapatkan dari 3 sampel urin infeksi saluran kemih dilakukan identifikasi menggunakan uji biokimia dan pewarnaan gram. Uji kepekaan bakteri menggunakan difusi cakram dengan antibiotik amoksisisilin, gentamisin dan seftriakson. Hasil penelitian didapatkan 3 jenis bakteri yaitu *Escherichia coli*, *Klebisella* sp. dan *Proteus mirabilis* dengan sensitivitas tertinggi terhadap gentamisin (100%) dan resisten tertinggi terhadap seftriakson (100%).

Kata kunci : Infeksi Saluran Kemih, Kepakaan, Bakteri, Antibiotik

PENDAHULUAN

Infeksi Saluran Kemih (ISK) adalah keadaan ditemukannya mikroorganisme di dalam urin dalam jumlah tertentu. Dalam keadaan normal, urin mengandung mikroorganisme, umumnya sekitar 100 bakteri/mL urin. Pasien didiagnosis infeksi saluran kemih bila urinnya mengandung lebih dari 100.000 bakteri/mL (Coyle dan Prince., 2005).

Penyakit infeksi saluran kemih merupakan masalah kesehatan masyarakat di Indonesia yang perlu mendapatkan perhatian yang serius. Diperkirakan 8% anak wanita dan 2% anak laki-laki pernah mengalami ISK pada masa kanak-kanaknya (Travis LB dkk, 1996). Sekitar 150 juta penduduk di seluruh dunia tiap tahunnya terdiagnosis menderita infeksi saluran kemih. Prevalensinya sangat bervariasi berdasarkan umur dan jenis kelamin, dimana infeksi saluran kemih lebih sering terjadi pada wanita dibandingkan dengan pria karena perbedaan anatomis antara keduanya (Rajabnia dkk, 2012). Total penderita infeksi saluran kemih di Kota Manado pada tahun 2013-2014 sebanyak 773 penderita (Anonim, 2015).

Penggunaan antibiotik ialah pilihan utama dalam pengobatan infeksi saluran kemih. Pemakaian antibiotik secara efektif dan optimal memerlukan pengertian dan pemahaman mengenai bagaimana memilih dan memakai antibiotik secara benar. Antibiotik yang biasa digunakan dalam infeksi saluran kemih ialah kotrimoksasol, fluorokuinolon, penisilin, sefalosporin dan aminoglikosida (Syarif A dkk, 2007). Penggunaan antibiotik yang tidak tepat dapat menimbulkan masalah resistensi dan efek obat yang tidak dikehendaki (Lestari dkk., 2011).

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu: jarum ose, cawan petri (*Normax*), Bunsen, tabung reaksi (*Pyrex*), rak tabung, pinset, pipet tetes, *laminar 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, *plasticwrap* dan *aluminium foil*. Bahan yang digunakan dalam penelitian: sampel urin, cakram antibiotik amoksisilin 25 μ g (*Oxoid*), cakram antibiotik gentamisin 10 μ g (*Oxoid*), cakram antibiotik sefadroxil 30 μ g (*Oxoid*), aquades, Kristal violet, alkohol, nutrient agar (*Oxoid*), nutrient broth (*Oxoid*), NaCl 0,9%, safranin, Lugol, reagen kovac, H₂O₂, Minyak Imersi, *simon citrate agar* (*Oxoid*), *triple sugar iron* (TSI) Agar (*Oxoid*), tripton (*Oxoid*), *yeast extract* (*Oxoid*), Agar bacteriological (*Oxoid*) dan Lisin iron agar (*Oxoid*)

Prosedur Kerja

A. 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 aluminium 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 (Lay dan Hastowo, 1992).

B. Pembuatan Media

Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah medium Nutrient Agar (NA). Medium ini digunakan sebagai media agar miring untuk inokulasi bakteri, media dasar dan media pemberian. Adapun cara pengeraan sebagai berikut:

a. Pembuatan agar miring

Nutrient agar (NA) sebanyak 2,3 gram dilarutkan dalam 100 mL aquades (23 g/1000 mL) menggunakan Erlenmeyer. Setelah itu, dihomogenkan dengan stirrer diatas penangas air sampai mendidih. Sebanyak 20 mL dituangkan masing-masing pada tabung reaksi steril dan ditutup dengan aluminium foil. Media tersebut disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian biarkan pada suhu ruangan ± 30 menit sampai media memadat pada kemiringan 30°C . Media agar miring untuk inokulasi bakteri (Lay dan Hastowo, 1992).

b. Media pertumbuhan

Nutrient agar (NA) sebanyak 2,3 gram dilarutkan dalam 100 mL aquades (23 g/1000 mL) menggunakan Erlenmeyer. Setelah itu, dihomogenkan dengan stirrer diatar penangas air sampai mendidih. Media yang sudah homogen 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.

c. Media Luria Bertani (LB)

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. Setelah itu, dihomogenkan dengan stirrer diatas penangas air sampai mendidih. Media yang sudah homogen ini disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian didinginkan sampai suhu $\pm 45-50^{\circ}\text{C}$. Media ini digunakan sebagai media pengujian kepekaan antibiotik.

C.Isolasi urin

Sampel urin sebanyak 1 mL dicampurkan dengan NaCl 0,9% sebanyak 9 mL hingga homogen didalam tabung reaksi, kemudian dimasukkan kedalam media Nutrien Agar pada cawan petri, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

D.Identifikasi Bakteri

a. Uji Morfologi

Uji morfologi dilakukan dengan pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram dilakukan dimana kaca objek dibersihkan dengan kapas yang telah diberi alkohol lalu diberi label. Biarkan bakteri pada nutrient agar miring di ambil dengan menggunakan jarum ose, kemudian di totol pada bagian tengah kaca objek sampai merata, Preparat selanjutnya difiksasi di atas lampu spritus dan diberikan larutan Cristal violet dan dibiarkan selama 60 detik, lalu di cuci dengan aquades lalu dikeringkan dengan kertas tisu, Kemudian diberikan larutan lugol dan di biarkan selama 60 detik, kemudian dibilas dengan alkohol, lalu dicuci ulang dengan aquades dan dikeringkan dengan kertas tisu (jangan digosok), Setelah itu diberikan larutan safranin selama 60 detik dan di cuci kembali dengan aquades dan dikeringkan dengan kertas tisu, Preparat

yang telah ditutup cover glass diberikan minyak imerasi lalu diperiksa dibawah mikroskop pada pembesaran 400 kali.

E. Uji Biokimia

Identifikasi bakteri secara uji biokimia menggunakan uji indol, uji katalase, uji H2S, uji fermentasi karbohidrat, uji lysine, uji sitrat, dan uji motilitas.

Uji Kepekaan Antibiotik

A. Pembuatan Standar Kekeruhan (Larutan Mc Farland 0,5)

Larutan H₂SO₄ 1% sebanyak 99,5 mL dicampurkan dengan larutan BaCl₂.2H₂O 1,175% sebanyak 0,5 mL dalam erlenmeyer. Kemudian dikocok sampai terbentuk larutan yang keruh. Kekeruhan ini dipakai sebagai standar kekeruhan suspensi bakteri uji (Victor,1980).

B. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri uji yang telah diinokulasi diambil dengan jarum ose steril lalu disuspensikan ke dalam 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 dan Stout, 1971).

C. Penanaman cakram antibiotik

Uji kepekaan antibiotik dilakukan dengan menggunakan cakram antibiotik, pengujian dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut:

a. Membuat media LB (Luria bertani agar) sebagai media pengujian antibiotik

- b. Suspense bakteri yang telah ditambahkan aquades sebanyak 200 μ l kedalam cawan petri
- c. Masukkan cakram antibiotik kedalam media pengujian yang telah disuspensikan bakteri
- d. Kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam
- e. Pengamatan dilakukan 24 jam masa inkubasi. Daerah bening merupakan petunjuk kepekaan bakteri terhadap antibiotik atau bahan antibiotik lainnya yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan lebar diameter zona hambat (Vandepitte, 2005).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel urin didapatkan dari tiga pasien penderita infeksi saluran kemih di RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado. Kemudian hasil dari isolasi urin didapatkan 7 isolat bakteri. Ketujuh isolate bakteri yang diperoleh dilakukan uji biokimia dan pewarnaan Gram untuk diidentifikasi dan hasil dari identifikasi tersebut didapatkan 3 bakteri *Escherichia coli*, 2 bakteri *Proteus mirabilis* dan 2 bakteri *Klebsiella* sp.

Pada pengujian kepekaan antibiotik dilakukan dengan menggunakan media LB (Luria Bertani Agar) yang kemudian media disuspensikan dengan bakteri dari masing-masing isolat yang kemudian tiga buah antibiotik yaitu amoksikilin, gentamisin dan seftriakson dimaksukkan kedalam media dan diinkubasi selama 24 jam. Berikut merupakan table hasil uji kepekaan bakteri terhadap antibiotik Amoksikilin, Gentamisin dan Seftriakson.

Tabel 1. Hasil Zona Hambat Uji Kepekaan

Jenis Bakteri	Uji Kepekaan Antibiotik					
	Amoksisilin		Gentamisin		Seftriakson	
	Zona Hambat	Kepekaan	Zona Hambat	Kepekaan	Zona Hambat	Kepekaan
<i>Escherichia coli</i>	13 mm	Resisten	18,6 mm	Sensitif	14 mm	Resisten
<i>Proteus mirabilis</i>	13 mm	Resisten	15 mm	Sensitif	12,3 mm	Resisten
<i>Escherichia coli</i>	13 mm	Resisten	18 mm	Sensitif	6,6 mm	Resisten
<i>Proteus mirabilis</i>	12,6 mm	Resisten	16,3 mm	Sensitif	10 mm	Resisten
<i>Klebsiella</i> sp.	14 mm	Intermediate	16,3 mm	Sensitif	10,6 mm	Resisten
<i>Klebsiella</i> sp.	14 mm	Intermediate	15,6 mm	Sensitif	10,6 mm	Resisten
<i>Escherichia coli</i>	5,6 mm	Resisten	16,6 mm	Sensitif	15 mm	Resisten

Pada hasil uji kepekaan antibiotik terhadap ketiga bakteri tersebut didapatkan bahwa antibiotik seftriakson telah resisten terhadap ketiga jenis bakteri yang diisolasi dari urin penderita infeksi saluran kemih sebesar 100%. Hasil ini lebih besar dari penelitian Endriani tahun 2009 dimana resistensi bakteri terhadap antibiotik seftriakson sebesar 62,5 % dan hasil dari Syafada tahun 2013 memiliki resistensi sebesar 55,5%. Menurut Setiabudy dan Gan tahun 2002, sefalosporin generasi ketiga (seperti seftriakson) aktif dan mempunyai spektrum yang luas terhadap *Enterobacteriaceae*. Terjadinya resistensi bakteri terhadap antibiotik ini dapat disebabkan oleh adanya enzim pengurai antibiotik pada mikroorganisme secara alami sehingga beberapa bakteri resisten terhadap seftriakson (Pratiwi, 2008).

Pada pengujian kepekaan bakteri terhadap antibiotik gentamisin menunjukkan sensitivitas sebesar 100%. Sensitivitas adalah antibiotik yang memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri bahkan mampu membunuh bakteri (Nelwan,

2002). Mekanisme kerjanya gentamisin adalah bakterisid. Proses translasi (RNA dan DNA) diganggu sehingga biosintesis protein dikacaukan. Untuk menembus dinding sel bakteri mencapai ribosom, aminoglikosida yang bermuatan kation positif akan berikatan secara pasif dengan membran luar dinding kuman gram negatif yang mengandung muatan negatif. Terjadinya reaksi kation antibiotik akibat adanya potensial listrik transmembran sehingga menimbulkan celah atau lubang pada membran luar dinding sel kuman selain mengakibatkan kebocoran dan keluarnya kandungan intraseluler kuman memungkinkan penetrasi antibiotik semakin dalam hingga menembus membran sitoplasma (Radigan dkk, 2009). Berdasarkan hasil yang didapatkan Gentamisin masih dapat digunakan sebagai terapi namun tetap memperhatikan keamanan terapinya.

Hasil uji kepekaan bakteri terhadap antibiotik amoksisilin menunjukkan resistensi sebesar 71,5%. Secara umum isolat bakteri telah banyak yang resisten

terhadap golongan penisilin. Sejak golongan penisilin digunakan, jenis bakteri yang tadinya sensitif semakin banyak yang menjadi resisten. Mekanisme yang terpenting dalam menyebabkan resistensi bakteri terhadap golongan penisilin adalah pembentukan enzim betalaktamase oleh bakteri-bakteri (Setiabudy dan Gan 2002). Ini berarti secara mikrobiologis obat-obat ini perlu pertimbangan yang matang jika akan dipakai pada terapi empirik ISK. Hasil ini kurang lebih sama dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Sjahrurachman dkk., di RSCM Jakarta pada tahun 2004, didapatkan bahwa bakteri-bakteri penyebab ISK memiliki resistensi terhadap salah satu golongan penisilin yaitu amoksisilin sebesar 71,4%. Pola resistensi ini juga dapat berubah sesuai dengan waktu dan tempat penelitian sehingga hasil yang didapatkan lebih tinggi dari hasil penelitian yang dilakukan Noorhamdani dkk., (1996) bahwa resistensi bakteri terhadap amoksisilin di RSUD Dr. Saiful Anwar Malang mencapai 70%. Sehingga dalam hal ini antibiotik amoksisilin tidak dapat digunakan sebagai terapi infeksi saluran kemih berdasarkan kultur *Escherichia coli* dan *Proteus mirabilis* dan untuk kultur *Klebsiella* sp. masih dapat digunakan sebagai terapi infeksi saluran kemih dengan menaikan dosis terapi namun tetap memperhatikan keamanan terapi.

Berdasarkan persentasi kepekaan bakteri dari isolat urin terhadap antibiotik amoksisilin, gentamisin dan seftriakson menunjukkan bahwa antibiotik seftriakson memiliki resistensi sebesar 100%,

antibiotik amoksisilin memiliki resistensi 71,5% dan intermedian 28,5%, sedangkan antibiotik gentamisin memiliki sensitifitas sebesar 100%. Hal ini menunjukkan bahwa antibiotik gentamisin masih dapat digunakan dalam terapi infeksi saluran kemih. Antibiotik amoksisilin dan seftriakson perlu diperhatikan dengan cermat karena telah intermediet dan resisten.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa bakteri yang teridentifikasi dari urin infeksi saluran kemih di RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado adalah bakteri *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp. dan *Proteus mirabilis*. Ketiga jenis bakteri tersebut mempunyai sensitifitas terhadap antibiotik gentamisin (100%), intermedian 28,5% dan resisten 71,5% terhadap amoksisilin serta resistensi tertinggi terhadap seftriakson (100%).

SARAN

1. Berdasarkan penelitian yang dilakukan perlu dipertimbangkan lagi dalam menggunakan antibiotik amoksisilin dan seftriakson terhadap penderita infeksi saluran kemih di RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan jumlah sampel yang lebih banyak dengan penggunaan antibiotik yang berbeda untuk mengetahui antibiotik yang tepat bagi penderita infeksi saluran kemih berdasarkan pola kepekaan bakteri terhadap antibiotik.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2015. *Angka Kejadian Infeksi Saluran Kemih di Kota Manado.* Dinkes Kota Manado.
- Coyle, E. A., Prince, R. A., 2005, *Urinary Tract Infection and Prostatitis*, in 7th Edition, The McGraw Hill Companies, Inc., USA.
- Lay, B.W., Hastowo, S.1992.*Mikrobiologi.* IPB, Bogor.
- Nelwan RHH. 2002. *Pemakaian antimikroba secara rasional di klinik.* Dalam: Noer S, editor. Buku ajar ilmu penyakit dalam.Balai penerbit FKUI, Jakarta.
- Noorhamdani, Roekistiningsih, Winarsih S, Islam S.Sumarno. 1996. *Infeksi saluran kemih pola kuman isolat hasil biakan urin dan pola resistensinya terhadap antibiotika di RSUD Dr. Saiful Anwar Malang tahun 1995.* Majalah Kedokteran Unibraw.Malang.
- Pratiwi, S.2008. *Mikrobiologi Farmasi.* Erlangga, Jakarta.
- Radigan EA, Gilchrist NA, Miller MA.2009.Management of aminoglycosides in the Intensive Care Medicine.*Journal of Intensive Care Medicine.*25:327-342
- Setiabudy, R., Gan, V. 2002. *Pengantar Antibakteri.* Di dalam:Farmakologi dan Terapi. Gaya Baru.Jakarta.
- Sjahrurachman, A., Mirawati, T., Ikaningsih., Warsa, U.C.2004. Etiologi dan resistensi bakteri penyebab infeksi saluran kemih di RSCM dan RS MMC Jakarta 2001-2003.Medika.9: 557-562.
- Syarif.A, Ascobat. P, Estuningtyas. A, Setiabudy. R, Setiawati. A, Muchtar. A. 2007. *Farmakologi dan terapi.*Edisi 5. Gaya Baru: Jakarta.
- Vendepitte, J. 2005.*Prosedur Laboratorium dasar untuk Bakteriologis Klinis.*Edisi 2.Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Victor, L. 1980. *Antibiotics in Laboratory Test.* The Williams and Wilkins Company,USA