

## IDENTIFIKASI DAN UJI SENSITIFITAS BAKTERI YANG DIISOLASI DARI SPUTUM PENDERITA PNEUMONIA DI RSUP PROF. DR. R. D. KANDOU MANADO TERHADAP ANTIBIOTIK ERITROMISIN, SEFTRIAKSON DAN SEFADROKSIL

Karundeng Raynaldi Joel<sup>1)</sup>, Fatimawali<sup>1)</sup>, Widya Astuty Lolo<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

### ABSTRACT

*Pneumonia is one of disease problem with a high mortality rate. This disease is an infectious disease caused by microorganisms, such as bacteria. The purposes of this study were to isolate, to identify and to test the sensitivity of bacteria that presents in the sputum of pneumonia patients against antibiotics Erythromycin, Ceftriaxone and Cefadroxil. Biochemical tests, physiological tests and the Gram stain was used to identify the bacteria obtained from the three sputum samples of patients with pneumonia. Antibiotic sensitivity testing of identified bacteria was performed by the agar diffusion method using antibiotic discs inoculated with Erythromycin, Ceftriaxone and Cefadroxil. The bacteria were obtained from the isolation were Erythrobacter sp., Enterococcus sp., Klabsiella pneumonia, Staphylococcus aureus, Streptococcus sp. Where these five isolated bacteria shown the highest sensitivity against antibiotic Cefadroxil (100%), intermediate against Erythromycin (16 %) and resistance to the Ceftriaxone (50 %).*

**Keywords:** Identification, Sensitivity Test, Pneumonia, Antibiotics, and Microorganism

### ABSTRAK

Pneumonia adalah masalah dengan angka kematian yang tinggi. Penyakit ini merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme, diantaranya adalah bakteri. Tujuan penelitian ini untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri yang terdapat dalam sputum penderita pneumonia dan menguji kepekaan bakteri hasil isolasi dan identifikasi dari sputum penderita pneumonia tersebut terhadap antibiotik Eritromisin, Seftriakson dan Sefadroksil. Bakteri diperoleh dari tiga sampel sputum penderita pneumonia dan diidentifikasi dengan uji biokimia, uji fisiologi dan pewarnaan Gram. Uji sensitivitas antibiotik terhadap bakteri hasil identifikasi dilakukan dengan metode difusi agar dengan menggunakan cakram antibiotik Eritromisin, Seftriakson dan Sefadroksil. Bakteri yang diperoleh dari hasil isolasi adalah bakteri *Erythrobacter sp.*, *Enterococcus sp.*, *Klabsiella pneumonia.*, *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus sp.* dimana antibiotik dengan sensitivitas terbesar pada Sefadroksil (100 %), intermediet pada Eritromisin (16%) dan resistensi terbesar pada Seftriakson (50 %).

**Kata kunci :** Identifikasi, Uji sensitivitas, Pneumonia, Antibiotik dan Mikroorganisme.

## **PENDAHULUAN**

Penyakit infeksi merupakan jenis penyakit yang paling banyak diderita oleh penduduk di negara berkembang, termasuk Indonesia. Salah satu penyebab penyakit infeksi adalah mikroorganisme bakteri (Radji, 2011). Penyakit yang diakibatkan oleh infeksi mikroorganisme merupakan salah satu penyakit yang selalu menjadi pusat perhatian para praktisi dan pemerhati kesehatan (Wattimena, 1990). Salah satu penyakit infeksi akibat bakteri adalah pneumonia.

Pneumonia adalah peradangan parenkim paru dimana asinus terisi dengan cairan dan sel radang, dengan atau tanpa disertai infiltrasi sel radang kedalam dinding alveoli dan rongga interstisium (Mukty dan Alsagaff, 2010). Penyakit ini sering menyerang anak balita, namun dapat juga ditemukan pada orang dewasa. Proses infeksi pneumonia adalah infeksi akut yang mengenai jaringan paru-paru (alveoli). Gejala pneumonia pada umumnya antara lain demam, sesak napas, napas dan nadi berdenyut lebih cepat, dahak berwarna kehijauan atau seperti karet (Misnadiarly, 2008). Bakteri penyebab pneumonia diantaranya *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Mycoplasma pneumoniae* dan *Legionella pneumophila*. (Fransisca, 2000). Pengobatan penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri dapat dilakukan dengan menggunakan antibiotik.

Penggunaan antibiotik menurut Hayes Peter C (1993) sebagai penatalaksanaan pneumonia biasanya digunakan golongan penisilin (Ampisilin), aminoglikosida (Gentamisin), sefalosporin (Sefiksim, Seftriakson) dan kombinasi dari

berbagai antibiotik. Penggunaan antibiotik eritromisin dapat digunakan sebagai alternatif penisilin yang dihubungkan pada spektrum antibiotiknya. Terapi eritromisin dapat diberikan dalam pengobatan pneumonia untuk kasus nonkomplikasi (Leveno, 2003).

Penggunaan antibiotik yang tepat harus menjadi landasan yang kuat dalam penggunaan terapi penyakit infeksi, termasuk perlu mendapat perhatian khusus mengenai kepekaan suatu antibiotik terhadap bakteri penyebab infeksi (Anonim, 2011). Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai uji kepekaan melalui kultur bakteri terhadap antibiotik yang digunakan dalam terapi pneumonia agar terapi dilakukan secara tepat.

## **METODOLOGI PENELITIAN**

### **Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu jarum ose, cawan petri (*Normax*), lampu Bunsen, tabung reaksi (*Pyrex*), rak tabung, pinset, pipet tetes, *Magnetic stirrer*, *Hot plate*, *Laminair air flow* (*Biotek*), autoklaf (*ALP*), Beker gelas (*Approx*), timbangan analitik (*Kern*), gelas ukur (*Pyrex*), kapas, mikropipet (*Ecoipette*), Erlenmeyer (*Approx*), inkubator (*Incucell*), batang pengaduk, mistar berskala, plastik *wrap* dan *aluminium foil*, alat fotografi

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini : sputum, cakram antibiotik Eritromisin 15 $\mu$ g (*Oxoid*), cakram antibiotik Seftriakson 30 $\mu$ g (*Oxoid*), cakram antibiotik Sefadrosil 30 $\mu$ g (*Oxoid*) aquades, kristal violet, alkohol, Larutan

NaCl, Safranin, Larutan lugol, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, reagen covac, Simon Citrat Agar (*Oxoid*), *Tripel sugar iron* (TSI) agar (*Oxoid*), Nutrient Broth (*Oxoid*), Lysine Agar (*Oxoid*), Tripton (*Oxoid*), Nutrient Agar (*Oxoid*), Agar *bacteriological* (*Oxoid*) dan *Yeast extract* (*Oxoid*).

### **Bentuk Penelitian**

Penelitian ini bersifat deskriptif eksploratif dan dilakukan dengan pendekatan studi prospektif. Pengambilan sampel dilakukan secara total sampling dari tiga pasien pneumonia yang menjalani rawat jalan di RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado dari bulan Mei - Juli 2016.

### **Preparasi Sampel**

Sampel sputum diambil pada pasien rawat jalan penderita pneumonia di RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado. Sebelum dilakukan pengambilan sampel sputum, penderita terlebih dahulu dijelaskan tentang pentingnya memperoleh sampel yang benar. Penderita akan dijelaskan bahwa sputum yang dikeluarkan berasal dari dalam paru-paru bukan air liur/saliva. Sebelum pengambilan sampel penderita disuruh berkumur dengan air untuk membersihkan sisa-sisa makanan yang mungkin masih tertinggal. Diminta kepada penderita agar memasukan sputum dalam pot sputum steril yang berisi larutan dan kemudian pot sputum ditutup dengan rapat dan diberi label identitas penderita. Setelah itu dibawa ke laboratorium untuk diidentifikasi lebih lanjut sesuai prosedur penelitian.

### **Sterilisasi Alat**

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini disterilkan terlebih dahulu. Alat-alat gelas disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121<sup>0</sup>C dalam 15 menit dengan tekanan 1 atm. Pinset, pipet dan jarum ose disterilisasi langsung dengan fiksasi.

### **Pembuatan Media**

#### **a. Pembuatan Media *Luria Bertani Agar Plate***

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 dimasukan kedalam Erlenmeyer dan dilarutkan bersama aquades sebanyak 200 ml kemudian dihomogenkan. Media yang sudah homogen ini disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121<sup>0</sup> C selama 15 menit tekanan 1 atm, kemudian dituangkan pada masing-masing cawan petri sebanyak 20 mL dan didinginkan sampai memadat. Media ini digunakan sebagai media untuk inokulasi bakteri dan media untuk pengujian kepekaan antibiotik.

#### **b. Pembuatan Media *Luria Bertani Agar Miring***

Media LB dibuat dengan menimbang tripton sebanyak 0,5 gram, NaCl sebanyak 0,5 gram, *yeast extract* sebanyak 0,25 gram dan *agar bacteriological* sebanyak 0.75 gram, kemudian dimasukan kedalam Erlenmeyer dan dilarutkan bersama aquades sebanyak 50 mL kemudian dihomogenkan. Media yang sudah homogen ini disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121<sup>0</sup> C selama 15 menit tekanan 1 atm. Selanjutnya media

dituangkan pada masing-masing tabung reaksi sebanyak 5 mL dan dimiringkan sampai memadat pada kemiringan 30°.

### **Inokulasi Bakteri Pada Media**

Sampel sputum di tambahkan NaCl 0,9 % sebanyak 5 ml dan dilakukan pengenceran bertingkat. Pengenceran bertingkat ini dilakukan dengan cara yaitu disediakan 4 tabung reaksi yang berisi 5 ml NaCl 0,9 %. Diambil sampel sputum sebanyak 1 ml dan dimasukkan dalam tabung reaksi pertama. Kemudian dari tabung reaksi yang pertama diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan kedalam tabung reaksi kedua dan seterusnya dilakukan sampai tabung reaksi yang keempat. Selanjutnya dipipet sebanyak 100 µL suspensi sputum untuk masing-masing pengenceran dan dituangkan ke atas media *Luria Bertani Agar Plate* yang sudah memadat. Selanjutnya dibungkus cawan petri tersebut dengan menggunakan plastik *Wrap*. Sputum yang mengandung bakteri yang telah ditanamkan pada media *Luria Bertani Agar Plate* selanjutnya diinkubasi dalam inkubator pada suhu 35 - 36° C selama 18 jam. Jika hanya terdapat sedikit koloni maka diinkubasi kembali selama 24 jam (Vandepitte, 2010).

### **Isolasi Bakteri**

Setiap koloni bakteri yang tumbuh pada media *Luria Bertani Agar Plate* diambil menggunakan jarum ose untuk dipindahkan ke media agar miring untuk mendapatkan isolat bakteri selanjutnya diinkubasi dalam inkubator pada suhu 35 - 36° C selama ± 18 – 24 jam (Vandepitte, 2010)

### **Identifikasi Bakteri**

#### **a. Uji Biokimia**

Identifikasi bakteri secara uji biokimia menggunakan uji katalase, uji H<sub>2</sub>S, uji *lysine*, uji fermentasi karbohidrat, uji sitrat.

#### **b. Pewarnaan Gram**

Kaca objek dibersihkan dengan kapas yang telah diberi alkohol lalu diberi label. Biakan bakteri pada agar miring di ambil dengan menggunakan jarum ose, kemudian di totol pada bagian tengah kaca objek sampai merata dan ditambahkan satu tetes NaCl 0,9%. Preparat selanjutnya difiksasi diatas lampu Bunsen. Sediaan yang sudah direkatkan diwarnai dengan Kristal violet selama 1 menit. Kistal violet dicuci pada air mengalir dan diganti dengan larutan lugol dibiarkan selama 1 menit. Larutan lugol dicuci pada air mengalir dan dicuci dengan alkohol 96% selama 1 menit. Selanjutnya sediaan dicuci dengan air dan diwarnai dengan safranin selama 1 menit. Sediaan dicuci pada air yang mengalir, dikeringkan dan diperiksa di mikroskop degan menambahkan minyak imerasi.

#### **c. Uji Fisiologi**

Uji fisiologi dilakukan dengan menggunakan uji motilitas

### **Uji kepekaan bakteri terhadap antibiotik**

#### **a. Pembuatan Larutan *Mc. Farland* 0,5**

Larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1% sebanyak 99,5 mL dicampurkan dengan larutan BaCl<sub>2</sub> 1,75% 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 Larutan Uji

Bakteri uji yang telah diinokulasi diambil dengan menggunakan 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* 0,5. Perlakuan yang sama dilakukan pada setiap jenis bakteri uji.

c. Penanaman Cakram

Dipipet suspensi bakteri uji sebanyak 200 µL dan dituangkan ke seluruh permukaan media *Luria Bertani Agar Plate* selanjutnya diratakan menggunakan *L-glass* dan dibiarkan selama 5 menit. Kemudian cakram antibiotik Eritromisin, Kotrimoksazol dan Sefadroksil ditempatkan secara terpisah dengan menggunakan pingset steril pada media *Luria Bertani Agar Plate* yang berisi bakteri. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup> C selama 18-24 jam. Dibuat tiga kali pengulangan pada cawan petri yang berbeda (Kumala, 2010).

d. Pengukuran dan Penetapan Zona Hambat

Setelah diinkubasi, diamati zona pertumbuhan bakteri di sekitar cakram antibiotik. Koloni bakteri yang sensitif terhadap antibiotik Eritromisin, Seftriakson dan Sefadroksil dilihat dengan adanya zona hambatan berupa daerah bening disekitar cakram antibiotik. Daerah hambatan antibiotik terhadap pertumbuhan bakteri diukur menggunakan mistar berskala dengan satuan milimeter. Zona hambatan dibandingkan berdasarkan pedoman CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil isolasi dan identifikasi secara uji morfologi, uji fisiologi, uji biokimia dan pewarnaan gram dari 3 Sampel sputum diperoleh 6 isolat bakteri. Untuk hasil penelitian mengenai identifikasi bakteri berdasarkan pengujian ditentukan dengan menggunakan buku *Bergey's Manual Determinative of Bacteriology* dan dapat dilihat hasil identifikasi pada Tabel berikut:

Tabel 1. Hasil identifikasi isolat bakteri dari sputum penderita pneumonia di RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado

Kode Isolat	Hasil Identifikasi Bakteri
A	<i>Erythrobacter sp.</i>
B	<i>Enterococcus sp.</i>
C	<i>Klasiella pneumonia</i>
D	<i>Enterococcus sp.</i>
E	<i>Staphylococcus aureus</i>
F	<i>Streptococcus sp.</i>

Dari Tabel 1. menunjukkan bahwa jenis bakteri yang teridentifikasi dari uji biokimia dan pewarnaan gram hasil isolasi dari sputum beragam, yaitu *Erythrobacter sp.* (A), *Enterococcus sp.* (B,D), *Klasiella Pneumoniae* (C), *Staphylococcus aureus* (E) dan *Streptococcus sp.* (F).

Uji Kepekaan Bakteri Terhadap Antibiotik

Sensitivitas bakteri terhadap antibiotik diperoleh melalui pengukuran diameter zona hambatan yang terbentuk setelah 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 Eritromisin, Seftriakson dan Sefadroksil.

Untuk distribusi frekuensi pola sensitivitas bakteri terhadap Eritromisin dapat dilihat pada Tabel berikut :

Tabel 2. Distribusi Frekuensi Pola Sensitivitas Terhadap Eritromisin

Bakteri	Eritromisin		
	S	I	R
<i>Erythrobacter sp.</i>	1	0	0
<i>Enterococcus sp.</i>	0	1	1
<i>Klasiella pneumonia</i>	1	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	0	0
<i>Streptococcus sp</i>	1	0	0
	4	1	1
<b>Total</b>	(66 (%)	(16 (%)	(16 (%)

Keterangan : S = Sensitif, I = Intermediet dan R = Resisten

Pada Tabel 2. menunjukkan bahwa antibiotik Eritromisin resisten sebesar 16 %, intermediet sebesar 16 % dan sensitif sebesar 66 % terhadap bakteri yang diisolasi dari sputum penderita pneumonia.

Untuk distribusi frekuensi pola sensitivitas bakteri terhadap Seftriakson dapat dilihat pada Tabel berikut:

Tabel 3. Distribusi Frekuensi Pola Sensitivitas Terhadap Seftriakson

Bakteri	Seftriakson		
	S	I	R
<i>Erythrobacter sp.</i>	0	0	1
<i>Enterococcus sp.</i>	0	1	1
<i>Klasiella pneumonia</i>	0	1	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	1
<i>Streptococcus sp</i>	0	1	0
	0	3	3
<b>Total</b>	(0 (%)	(50 (%)	(50 (%)

Keterangan : S = Sensitif, I = Intermediet dan R = Resisten

Pada Tabel 3. menunjukkan bahwa antibiotik Seftriakson resisten sebesar 50 %, intermediet sebesar 50 %, namun tidak menunjukkan sensitif terhadap semua isolat bakteri yang diperoleh dari sputum penderita Pneumonia.

Untuk distribusi frekuensi pola sensitivitas bakteri terhadap Sefadroksil dapat dilihat pada Tabel berikut:

Tabel 4. Distribusi Frekuensi Pola Sensitivitas Terhadap Sefadroksil

Bakteri	Sefadroksil		
	S	I	R
<i>Erythrobacter sp.</i>	1	0	0
<i>Enterococcus sp.</i>	2	0	0
<i>Klasiella pneumonia</i>	1	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	0	0
<i>Streptococcus sp</i>	1	0	0
<b>Total</b>	6 (100 (%)	0 (0 (%)	0 (0 (%)

Keterangan : S = Sensitif, I = Intermediet dan R = Resisten

Pada Tabel 4. menunjukkan bahwa antibiotik Sefadroksil memiliki angka sensitif sebesar 100 % untuk semua isolat bakteri dari sampel sputum penderita Pneumonia.

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Bakteri yang teridentifikasi dari isolasi tiga sampel sputum penderita pneumonia di RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado adalah bakteri *Erythrobacter sp.*, *Enterococcus sp.*, *Klasiella pneumoniae.*, *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus sp.*
2. Pada pengujian sensitifitas bakteri terhadap antibiotik, bakteri *Erythrobacter sp.* sensitif terhadap antibiotik Eritromisin dan antibiotik

Sefadroksil, dan resisten terhadap antibiotik Seftriakson. Bakteri *Enterococcus sp.* sensitif terhadap antibiotik Sefadroksil dan resisten terhadap antibiotik Eritromisin dan Seftriakson. Bakteri *Klasiella pneumonia* sensitif terhadap antibiotik Eritromisin dan Sefadroksil, dan intermediet terhadap seftriakson. Bakteri *Staphylococcus aureus* sensitif terhadap antibiotik Sefadroksil dan antibiotik Eritromisin, dan resisten terhadap antibiotik Seftriakson. Bakteri *Streptococcus sp.* sensitif terhadap antibiotik Sefadroksil dan antibiotik Eritromisin, dan intermediet terhadap antibiotik Seftriakson. Sehingga pilihan antibiotik yang tepat untuk kasus pneumonia adalah Sefadroksil.

#### SARAN

1. Dalam penggunaan terapi antibiotik diusulkan kepada Instansi terkait untuk dapat menjadikan sefadroksil sebagai salah satu pertimbangan dalam penatalaksanaan terapi antibiotik pada pasien penderita pneumonia dengan tetap didasarkan pada kultur bakteri dan uji kepekaan bakteri.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan jumlah sampel yang lebih banyak dengan menggunakan antibiotik yang berbeda untuk mengetahui antibiotik yang tepat dalam terapi penyakit pneumonia.

#### DAFTAR PUSTAKA

Anonim, 2011. Permenkes No:2406/MENKES/PER/XII/2011 Tentang Pedoman Penggunaan Antibiotik.

Anonim, 2012. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial

Susceptibility Testing. Seventeenth International Supplement.

Hayes, Peter C, Thomas W. Mackay., 1993. Buku Saku Diagnosis dan Terapi. Buku Kedokteran EGC. Jakarta

Holt. 1994. *Bergeys Manual of Determinative Bacteriology 9<sup>th</sup> Edition*. USA: Williams and Wilkins Baltimore.

Leveno, Kenneth J.. 2004. Obstetri Williams : Panduan Ringkas Ed.21.Buku Kedokteran EGC.Jakarta

Misnadiraly, 2008. Penyakit Infeksi Saluran Nafas Pneumonia Pada Anak, Orang Dewasa dan Usia Lanjut.Pustaka Obor Populer. Jakarta

Mukty Abdul, H., Alsagaff Hood, 2010. Dasar — dasar Ilmu Penyakit Paru, Surabaya : Erlangga.

Pratiwi, S.T., 2008. Mikrobiologi farmasi. Erlangga. Jakarta : 150–171

Radji, M., 2011. Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.

Sarapi, D. Fatimawali, dan Budiarmo. 2014. *Identifikasi Bakteri Resistensi Merkuri Dalam Urin, Feses dan Karang Gigi Pada Individu Di Daerah Pesisir Pantai Desa Pulisan Kecamatan Likupang Timur Kabupaten Minahasa Utara*. Jurnal e-Biomedik (eBM).2(2):476-480.

Siswandono, 2008. *Kimia Medisinal Edisi II*. Airlangga University Press. Surabaya

Syahrurachman, A, Staf Pengajar Fakultas Kedokteran., 1994. Mikrobiologi Kedokteran. Universitas Indonesia. Jakarta

Vandepitte. J., 2005. *Prosedur Laboratorium Dasar Untuk*

*Bakteriologis Klinis*. Edisi 2. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.

Wattimena, J. R, M. B Widiyanto, E. Y Sukandar., 1990. "Patofisiology", Pusat Antar Universitas Ilmu Hayati, Institut Teknologi Bandung, Bandung