

WIDYA BIOLOGI
TEKNIK DIAGNOSTIK KONVENSIAL DAN LANJUTAN UNTUK
INFEKSI BAKTERI DAN RESISTENSI ANTIBAKTERI DI
INDONESIA

Maharani Pertiwi K¹, Khairunnisa Kusuma Wulandari¹, Habiba Anggraeny Rodja.¹, Ucik Ghorizatul Urjiyah¹, Evi Fibriani¹, Feby Arlingga Putri^{1*}

¹Program Studi DV Analisis Kesehatan Universitas Nahdlatul Ulama Surabaya

*Email: febyarlingga080.nk18@student.unusa.ac.id

ABSTRAK

Infeksi bakteri patogen menjadi salah satu permasalahan kesehatan di Indonesia. Kondisi ini diperparah dengan munculnya strain bakteri yang resistan terhadap antibiotik. Upaya penegakan diagnosa infeksi bakteri terutama yang resisten antibiotik menjadi salah satu strategi pengendaliannya. Teknik diagnostik mikrobiologi yang cepat, mudah dan harga terjangkau diperlukan untuk mendeteksi keberadaan bakteri patogen, membedakan antara infeksi virus atau bakteri, mengidentifikasi resistensi antibiotik pada bakteri, dan untuk mengetahui agen anti mikroba mana yang harus digunakan dalam terapi. Pada umumnya, pemeriksaan mikrobiologi pada laboratorium medis dilakukan melalui teknik konvensional, yaitu kultur bakteri dalam media buatan, isolasi dan purifikasi isolat, pengamatan makroskopis, uji biokimia dan uji kepekaan antibiotik. Teknik diagnostik lanjutan pemeriksaan infeksi bakteri, yaitu secara molekuler melalui metode amplifikasi gen (Polymerase Chain Reaction, PCR). Metode ini dapat memberikan identifikasi patogen dan dapat mendeteksi keberadaan gen resistensi atau protein resistensi. Kombinasi teknik konvensional dan molekuler adalah pilihan terbaik untuk penegakan diagnosa infeksi bakteri dan identifikasi strain resistan antibakteri, serta penentuan tindakan pengendalian dan pencegahan yang tepat terhadap infeksi. Kajian pustaka ini menyajikan teknik diagnostik yang dapat diaplikasikan di laboratorium medis untuk mengidentifikasi infeksi bakteri, sehingga memberikan wacana dan mendorong pengembangan teknik pemeriksaan mikrobiologi yang lebih efektif dan efisien.

Kata Kunci: Diagnostik, infeksi, anti mikroba

ABSTRACT

Pathogenic bacterial infection is one of the health problems in Indonesia. This condition is exacerbated by the emergence of strains of bacteria that are resistant to antibiotics. Efforts to diagnose bacterial infections, especially those that are resistant to antibiotics, are one of the control strategies. Microbiological diagnostic techniques that are fast, easy and affordable are needed to detect the presence of pathogenic bacteria, distinguish between viral or bacterial infections, identify antibiotic resistance in bacteria, and to determine which antimicrobial agents should be used in therapy. In general, microbiological examinations in medical laboratories are carried out through conventional techniques, namely bacterial culture in artificial media, isolation and purification of isolates,

WIDYA BIOLOGI

macroscopic observations, biochemical tests and antibiotic sensitivity tests. Advanced diagnostic technique for examining bacterial infections, namely molecularly through the gene amplification method (Polymerase Chain Reaction, PCR). This method can provide identification of pathogens and can detect the presence of resistance genes or resistance proteins. The combination of conventional and molecular techniques is the best choice for diagnosing bacterial infections and identifying antibacterial resistant strains, as well as determining appropriate control and prevention measures against infection. This literature review presents diagnostic techniques that can be applied in a medical laboratory to identify bacterial infections, thus providing discourse and encouraging the development of more effective and efficient microbiological examination techniques.

Keywords: *Diagnostic, infection, anti microbes.*

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi dapat disebabkan oleh agen mikrobiologi yaitu bakteri. Kemampuan bakteri dalam menginvasi dan menimbulkan infeksi ini disebut sebagai patogen (Silvia, 2018). Bakteri berasal dari kata “*Bakterion*” yang berarti tongkat atau batang. Di masyarakat, bakteri dikenal dengan istilah kuman. Bakteri memiliki kemampuan bergerak dan berpindah tempat dengan bebas untuk menghindari penghancuran langsung oleh sistem imun inang, bersifat saprofitik, dan memiliki mekanisme untuk memasuki inangnya dan. Bakteri yang telah berhasil masuk ke dalam sel inang akan menimbulkan beberapa perubahan kimiawi bahkan mampu menghancurkan sel yang diinfeksi (Hartati dan Lestari, 2017). Bakteri yang menyebabkan infeksi saluran pernafasan antara lain *Streptococcus* grup A, *Haemophilus influenzae* tipe B, dan

Streptococcus pneumoniae, dan infeksi pada kulit umumnya dapat disebabkan oleh *Streptococcus* grup A atau *Staphylococcus aureus*, lalu saluran infeksi pada pencernaan sering juga disebabkan oleh infeksi *Campylobacter*, *Shigella*, *Campylobacter* dan *Escherichia coli*, dan infeksi saluran urinarius sering disebabkan pada bakteri *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* dan *Proteus mirabilis* (Arie dkk, 2019).

Terapi terhadap infeksi yang disebabkan oleh bakteri umumnya menggunakan antibiotik. Antibiotik berasal dari dua kata bahasa Yunani yaitu “*anti*” yaitu lawan dan “*bios*” yaitu hidup, dan bisa juga diartikan “melawan sesuatu yang hidup”. Antibiotik merupakan zat kimia yang berasal dari bakteri atau mikroorganisme lain dengan kemampuan mematikan atau menghambat pertumbuhan pada bakteri (Indriani, 2017). Berdasarkan data dari RSUD Bangil (Farida dkk., 2017)

WIDYA BIOLOGI

umumnya antibiotik yang digunakan untuk terapi infeksi bakteri adalah golongan sefalosporin, antara lain cefadroxil, ceftriaxone, cefuroxim, cefazolin, cefixim, ceftazidime, dan cefotaksim. Golongan antibiotik ini sering digunakan daripada golongan antibiotik lainnya, dan seringnya penggunaan antibiotik ceftriaxone bisa mempengaruhi penyakit infeksi seperti pada sepsis, dan juga infeksi penyakit dalam. Pada antibiotik ceftriaxone memiliki spectrum luas dan dianggap mampu mengatasi kondisi infeksi (Rachmawati *dkk*, 2020)

Dampak negatif yang terjadi akibat penggunaan antibiotik dengan tidak rasional, terlalu seringnya menggunakan antibiotik yang berlebihan, dan konsumsi dalam jangka waktu yang tidak ditentukan dapat menimbulkan resistensi bakteri terhadap antibiotik tersebut. Hal ini dapat menyebabkan terapi yang tidak akurat, dan juga bisa menyebabkan tingkat biaya kesehatan yang mahal (Pratiwi, 2017).

Upaya peningkatan terapi atau pengobatan pasien terinfeksi bakteri resistan antibiotik dapat dilakukan dengan pemeriksaan diagnostik dalam laboratorium medis. Pemeriksaan ini sangat penting dilakukan dalam menegakkan sebuah diagnosa apakah seseorang terinfeksi agen bakteri patogen atau tidak dan apakah infeksi

bakteri tersebut termasuk dalam strain yang resistan antibiotik atau tidak. Pada umumnya, laboratorium medis menggunakan teknik diagnostik konvensional seperti kultur dan mikroskopis untuk deteksi bakteri (Purnamasari, 2019).

Dalam perkembangannya terdapat teknik lain yang dapat diaplikasikan dalam uji diagnostik dalam laboratorium, yaitu metode molekuler. Metode molekuler merupakan aplikasi teknologi yang dapat mendiagnosis secara cepat dan tepat agen patogen yang menginfeksi tubuh. Salah satu teknologi ini adalah *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Kajian pustaka ini disusun untuk memberikan gambaran tentang teknik diagnostik konvensional dan lanjutan untuk pemeriksaan infeksi bakteri dan identifikasi bakteri resistan antibiotik. Perbandingan teknik diagnostik yang disajikan berdasarkan perkembangannya, sehingga dengan adanya perbandingan tersebut dapat menjadi sebuah gambaran untuk uji diagnostik bagi pasien secara efektif dan efisien.

METODE

Identifikasi, pengumpulan data dan informasi dilakukan dengan fokus pada teknik diagnostik konvensional dan lanjutan pada publikasi ilmiah dari tahun.

WIDYA BIOLOGI

2017 ke 2018 Kami mencari laporan studi klinis, epidemiologi dan laboratorium primer tentang perkembangan diagnostik dan efektivitasnya dalam penegakan diagnosa infeksi bakteri. Beberapa kata kunci yang digunakan untuk pencarian adalah: bakteri DAN teknik diagnostik. Teknik-teknik ini selanjutnya dibandingkan berdasarkan kemudahan dalam pengerjaan, tingkat sensitivitas dan kecepatan pemeriksaan.

PEMBAHASAN

Metode Uji Infeksi Konvensional Bakteri

Laboratorium medis berperan penting dalam penegakan diagnosis infeksi bakteri. Pemeriksaan infeksi bakteri umumnya dilakukan melalui metode konvensional, yaitu kultur pada media buatan, pemeriksaan mikroskopis, dan uji biokimia (Silvia, 2018). Kultur bakteri merupakan metode pembiakan sel dengan cara menanam bakteri pada media. Kultur bakteri ini biasanya dilakukan untuk mengidentifikasi jenis bakteri. Metode diagnostik ini dilakukan untuk menentukan penyebab penyakit infeksi dengan menumbuhkannya pada suatu media. Kultur bakteri dapat dilakukan pada media padat dan cair.

Langkah dalam kultur bakteri untuk diagnosis dimulai dari pengambilan spesimen. Spesimen yang diambil sebagai contoh adalah darah. Darah pada umumnya diambil untuk pemeriksaan infeksi *Streptococcus* sp dan *Staphylococcus aureus*. Spesimen urin diambil untuk pemeriksaan bakteri *Streptococcus* sp. Sputum diambil untuk pemeriksaan kultur dahak untuk mendeteksi penyebab infeksi saluran pernafasan, yang terutama infeksi paru-paru (pneumonia) dengan gejala antara lain sebagai berikut yaitu yang meliputi: batuk, demam dan menggigil, nyeri otot, lemas, nyeri dada, sesak nafas. Kultur dahak juga dapat dilakukan untuk memantau efektivitas pengobatan yang dijalani.

Media yang digunakan untuk kultur antara lain media MHA (Muller Hinton Agar), MCA (MacConkey Agar), NA (Nutrient Agar), EMB (Eosin Methylene Blue), SSA (*Salmonella shigella* Agar), TSIA (Triple Sugar Iron Agar), SIMMONS CITRAT, PHENOL RED, SIM (Sulfur Indol Motility), NITRAT UREA, MR (Methyl Red) dan VP (Voges Proskauer).

Media MHA berfungsi untuk pemeriksaan uji sensitivitas bakteri dengan menggunakan metode Kirby-Bauer pada bakteri aerob baik maupun aerob fakultatif. Media MCA berfungsi untuk mengisolasi

WIDYA BIOLOGI

batang gram negatif berdasarkan kemampuan bakteri memfermentasi laktosa atau tidak, terutama untuk famili Enterobacteriae dan genus *Pseudomonas* (Lay, 2019). Media NA berfungsi untuk menumbuhkan dan mengembangbiakkan bakteri *Pseudomans aeruginosa*. Media EMB untuk isolasi dan pertumbuhan bakteri enterik dan mikroorganisme coliform. Media SSA berfungsi untuk menghambat bakteri gram positif dan beberapa bakteri gram negaftif lainnya. Media untuk melihat kemampuan mikroorganisme dalam memfermentasikan gula. Media SIMMON SITRAT berfungsi untuk indikator warna. Media PHENOL RED berfungsi untuk menentukan sifat keasaman suatu larutan asam basa yang dinyatakan hasil pH. Media SIM adalah media differensial. Media ini digunakan untuk melakukan beberapa hal yaitu mengurai sulfur dan menghasilkan indole motilitas (gerak). Media NITRAT UREA berfungsi untuk mempercepat pertumbuhan fotosintesis. Media MR berfungsi untuk menentukan apakah glukosa dapat diubah menjadi produk seperti asam laktat, asam asetat dan asam format. VP digunakan untuk menentukan apakah glukosa dapat diubah menjadi asetil metil kardinol (Cappuccino & Sherman, 2016).

Tahap selanjutnya setelah kultur bakteri adalah purifikasi isolat. Purifikasi isolat merupakan proses pemindahan organisme dari habitat asli ke dalam habitat (media biakan) baru untuk dikembangkan, purifikasi merupakan pemurnian atau memisahkan koloni agar hanya didapatkan bakteri yang murni (Yusman, 2016).

Tahap ketiga adalah uji biokimia merupakan suatu cara atau perlakuan yang dilakukan untuk mengidentifikasi dan mendeterminasi suatu biakkan murni hasil isolasi melalui sifat-sifat fisiologinya dan pengamatan secara makroskopis adalah alat yang digunakan untuk menghasilkan bayangan benda dengan kelipatan yang besar, mikroskop dapat digunakan untuk mengamati benda yang sangat kecil dan benda yang tidak tampak oleh Indera penglihatan (Yusman, 2016).

Cara pertama melakukan pembuatan media analitik morfologi, pembuatan media dengan uji biokimia, yang terakhir uji fermentasi karbohidrat dengan metode PCR. Metode kultur mikroba dibagi menjadi kultur padat merupakan media yang digunakan untuk kultur atau pertumbuhan bakteri dalam bentuk padat, kultur diambil pada saat suhu badan meningkat bakteremia biasanya terjadi intermiten sehingga darah harus diambil 2-3 kali, dari tempat yang berbeda

WIDYA BIOLOGI

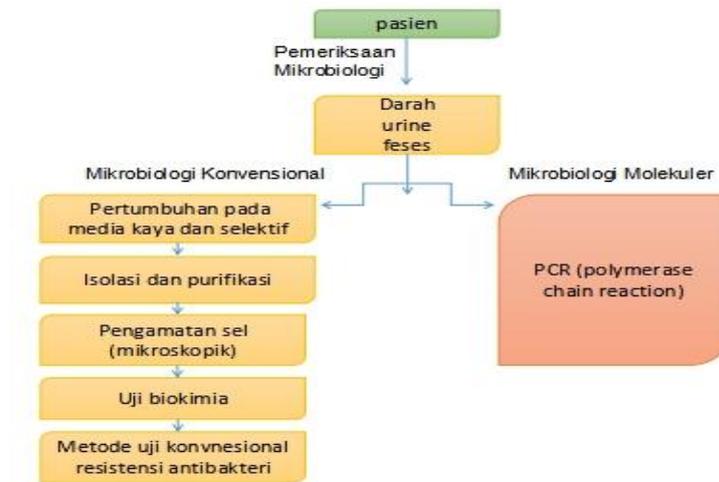
dalam waktu 24 jam sebelum pemberian antibiotik atau setelah 3 hari pemberian antibiotik dihentikan sebaiknya waktu pengambilan sampel kedua beda 60 menit dari sampel yang pertama. Kultur sel merupakan metode yang pengangkatan sel dari tumbuhan kemudian di kultur di lingkungan yang sesuai jaringan secara langsung dan dipilih secara enzimatik (Bellet, 2018). Dengan metode PCR. Sebagai contoh spesimen yang biasanya diambil yaitu spesimen darah digunakan untuk pemeriksaan infeksi bakteri jamur atau parasit, spesimen urin digunakan untuk pemeriksaan di saluran kemih dan gagal ginjal, spesimen *swab* (usap) tenggorokan mengambil dengan cara kerjanya yang dilakukan pertama-tama buka mulut tahan lidah ke bawah dengan spatula. Lihat pada tenggorokan pastikan terlebih dahulu apa ada radang dan eksudat. Lalu kapas *swab* secara perlahan diusapkan pada permukaan mulut. Usapkan kapas *swab* steril ini jangan sampai mengenai air liur. Letakkan sampel ke dalam tabung reaksi. Bisa juga dilakukan dengan cara membersihkan daerah permukaan tenggorokan kemudian dibiakkan dengan media agar metode PCR (Yusuf, 2010).

Dalam Pemeriksaan mikroskopis sputum pertama-tama sampel ditampung kewadah, diberi identitas, kemudian diletakkan di kaca objek atau objek glass (kaca preparat) kemudian sputum diperiksa di ruang lab khusus pemeriksaan dahak selanjutnya sampel di periksa di mikroskop sputum untuk mengetahui apakah ada infeksi bakteri dengan cairan lendir tebal terdapat gelembung, gumpalan, noda-noda darah berwarna kecokelatan. karakteristik sputum dapat meliputi Dahak berwarna kuning dan kehijauan, sputum yang bersifat kental (Munita JM, 2016).

Tes uji Biokimia pada spesimen *swab* tenggorokan dengan cara inokulasi koloni yang diduga pada medium CTBA (Medium Cystind Tellurite Blood Agar) ke medium agar darah. Kemudian kultur diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian untuk memastikan bahwa bakteri yang diperiksa adalah *Corynebacterium diphtheriae*, maka uji toksinogenitas perlu dilakukan. Uji ini diperlukan untuk mengetahui kemampuan bakteri menyebarkan toksin difteri yang merupakan faktor virulensi bakteri tersebut (Nyoman, 2016).

WIDYA BIOLOGI

Pemeriksaan Identifikasi Bakteri



Gambar 1. Alur pemeriksaan mikrobiologi

Pengamatan sel (mikroskopik)

Pengamatan sel (mikroskopik) dilakukan dengan mengamati hasil pewarnaan gram pengamatan secara mikroskopik mengamati jenis bakteri gram positif atau gram negative. Secara mikroskopik juga dilakukan pengamatan bentuk sel bakteri. Pengamatan mikroskopik dilakukan dengan morfologi koloni tunggal, berupa bentuk koloni, karena tepian, dan elevasi koloni bakteri (Pranoto, 2014).

Metode pengamatan sel, pada pengamatan mikroskop dengan adanya pewarnaan pada preparat maka dapat mempertajam dan memperjelas bagian-bagian sel atau jaringan yang diamati. Penggunaan bahan pewarnaan dan pengamatan jaringan menggunakan pewarnaan yang bersifat sintesis dan jumlahnya terbatas (Bisri & Wahyuni, 2018).

Metode mikroskopik menggunakan metode pewarnaan gram, hal ini bertujuan untuk melihat bakteri tersebut apakah memiliki gram positif atau negative, dapat dilihat dari reaksi yang ditunjukkan oleh dinding sel setelah diberi larutan tinta safranin atau kristal violet. Bakteri yang apabila menunjukkan reaksi yaitu tetap berwarna ungu dengan pewarnaan kristal violet, maka sedangkan bahwa memiliki gram positif, sedangkan apabila warna ungu yang tampak kemudian di cuci dengan alcohol hilang tetapi tetap berwarna merah muda karena menahan warna merah dari safranin maka bakteri tersebut tergolong dalam gram negative (Sukmawati dan Sari, 2019).

Pertumbuhan pada media kaya dan selektif

WIDYA BIOLOGI

Media kaya termasuk media selektif namun lebih berfungsi untuk memperbanyak mikroorganisme target sehingga saat dilakukan pengkulturan, mikroorganisme yang tidak diinginkan tidak dalam jumlah besar (Adam, 2018).

Media selektif berfungsi untuk menumbuhkan organisme target / yang diinginkan dan menekan pertumbuhan mikroorganisme yang tidak diinginkan (background flora). Umumnya media selektif menyeleksi mikroorganisme target berdasarkan kelompok, genus, spesies, misalnya EMB agar untuk menyeleksi *E. coli*, dan Baird Parker untuk isolasi *S. aureus* (Robert, 2017).

Metode media kaya, pengujian ini dilakukan menggunakan media cair selektif (MKTTn dan RVS) yang diperkaya dengan nutrisi yang cukup sehingga koloni bakteri dapat diisolasi, pada pengujian ini media MKTTn dan RVS yang digunakan adalah sebanyak 10 ml yang masing-masing telah disiapkan dalam tabung reaksi. Biakan bakteri pada media BPW tadi diambil sebanyak masing-masing 1 ml untuk dicampurkan ke dalam media MKTTn dan 0,1 ml untuk dicampurkan ke dalam media RVS kemudian diinkubasi pada suhu $41,5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam (Limbong D, 2017)

Metode media selektif, yaitu Eosin Methylene Blue Agar (EMBA) merupakan media selektif untuk menumbuhkan bakteri anggota genus *Escherichia*. Media EMBA mengandung laktosa, bila dalam biakan terdapat bakteri anggota genus *Escherichia* maka asam yang dihasilkan dari fermentasi laktosa akan menghasilkan warna koloni yang spesifik untuk bakteri anggota genus *Escherichia* yaitu koloni yang berwarna hijau dengan kilap logam sedangkan Coliform non fekal lain yang dapat tumbuh koloninya berwarna coklat menunjukkan adanya *Enterobacter aerogenes* ataupun koloni yang tidak berwarna (Andrian et al., 2018).

Isolasi dan purifikasi

Isolasi merupakan bakteri proses identifikasi berdasarkan Systematic Bacteriology melalui hasil uji biokimia, Sedangkan untuk purifikasi merupakan proses pemindahan organisme dari habitat asli ke dalam habitat baru untuk dikembangkan, purifikasi merupakan pemurnian atau memisahkan koloni agar hanya didapatkan bakteri yang murni (Yusman, 2016).

Metode isolasi sebelum melakukan isolasi bakteri dilakukan pengenceran yaitu proses melarutkan atau melepaskan mikroba dari substratnya ke dalam air

WIDYA BIOLOGI

sehingga lebih mudah penanganannya dengan tujuan mengurangi kepadatan bakteri. Pengenceran bertingkat dilakukan terhadap ke 5 sampel asal rizosfer kemudian setiap pengenceran dipindahkan sebanyak 0.1ml ke cawan petri dengan metode cawan segar menggunakan glass beads. Setelah bakteri di inokulasi ke media NA cawan petri kemudian di inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37 derajat celcius pada incubator.

Uji biokimia

Uji biokimia adalah pengujian larutan atau zat-zat kimia dari bahan-bahan dan proses-proses yang terjadi dalam tubuh makhluk hidup, sebagai upaya untuk memahami proses kehidupan dari sisi kimia (Lehninger, 2017).

Metode uji biokimia

Uji indol, satu ose biakan bakteri NA miring di inokulasi ke dalam MIO, lalu di inkubasikan selama 24 jam pada suhu 37 derajat celcius, ditambahkan 0,2-0,3ml pereaksi indol ke dalam masing-masing tabung, kocok dan diamkan selama beberapa menit. Warna merah cherry pada permukaan membentuk cincin menandakan reaksi indol positif, warna jingga menandakan reaksi indol negative (Sari & Apridamayanti, 2016).

Uji metil red, satu ose biakan bakteri NA di inokulasi ke dalam MR-VP lalu di inkubasikan selama 24 jam pada suhu 37 derajat celcius, ditambahkan 5 tetes metil red, di kocok dan diamkan selama beberapa menit. Warna kuning menunjukkan reaksi negative dan warna merah menunjukkan reaksi positif (Sari R & Apridamayanti, 2016).

Uji Voges Proskauer

Satu ose dari biakan NA miring diinokulasikan ke dalam media MR-VP, lalu diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C, ditambahkan 3 tetes larutan alfa naftol dan 2 tetes larutan KOH 40%, dikocok dan didiamkan selama beberapa menit. Warna merah muda sampai merah tua menunjukkan hasil positif, jika tidak terjadi perubahan warna maka menunjukkan hasil negatif (Sari R & Apridamayanti, 2016).

Uji Sitrat

Satu ose dari biakan NA miring diinokulasikan ke dalam media Simmons Citrat, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Warna biru menunjukkan hasil positif, warna hijau menunjukkan hasil negatif (Irianto, 2016).

Uji TSIA

WIDYA BIOLOGI

Isolat murni diinokulasi pada media TSIA dengan cara ditusuk pada bagian dasar dan streak pada bidang miring, kemudian diinkubasi dalam inkubator selama 24-48 jam. Perubahan warna pada media diamati setelah inkubasi, apabila media berubah warna menjadi merah menandakan telah terjadi reaksi alkali (K), jika warna media berubah menjadi kuning menandakan telah terjadi reaksi asam (A). Pembentukan gas diamati pada bagian dasar media, apabila terbentuk gas diberi dengan simbol (G). Kemudian diamati pembentukan H₂S pada bagian dasar dan miring, bila H₂S terbentuk akan berwarna hitam (Irianto, 2016).

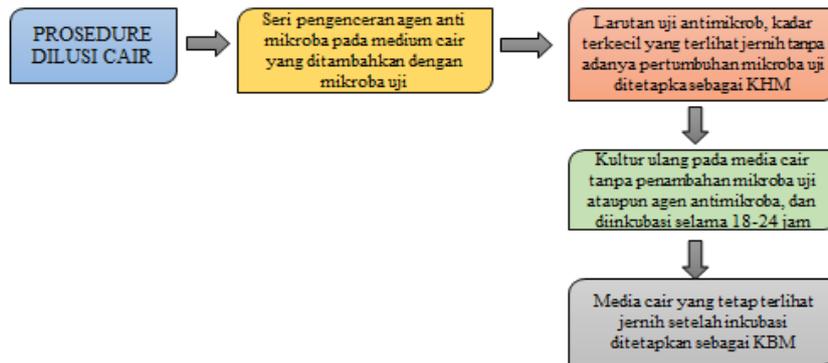
Metode Uji Konvensional Resistensi Antibakteri

Metode uji resistensi antibakteri diperlukan untuk mendeteksi isolat bakteri memiliki resistan atau kepekaan terhadap antibiotik. Hasil uji resistensi terhadap antibiotik menjadi pedoman klinis yang berguna sebagai pengobatan antibiotik yang berguna untuk setiap pasien dengan kondisi tertentu. Metode ini juga bisa dilakukan untuk mencegah adanya penyebaran bakteri yang resistensi pada suatu populasi (Mahon, 2016). Setiap

metode uji kepekaan terhadap antibiotik memiliki kelebihan dan kekurangan masing-masing. Metode tersebut antara lain metode pengenceran (metode dilusi), metode *disk* difusi, metode otomatis, E-test, uji mekanis spesifik (Mahon, 2016).

Metode pengenceran memiliki prinsip kerja dilusi yaitu melarutkan senyawa antibiotik pada media agar dengan berbagai konsentrasi dan ditanam bakteri uji. Selanjutnya kultur diinkubasi semalam dan diamati konsentrasi pengenceran terendah dari senyawa antibiotik yang menghambat pertumbuhan bakteri. Pengamatan dilakukan untuk melihat ada tidaknya transparansi zat cair yang berkurang pada tabung. Biakan yang terlihat jelas pada pengenceran terendah antibiotik disebut sebagai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Selanjutnya biakan tersebut ditanam pada media agar dan dilihat pertumbuhannya, maka konsentrasi terendah yang tidak terdapat pertumbuhan menunjukkan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Apabila KHM telah ditentukan, maka organisme disebut sebagai bakteri sensitif, intermediat, atau resistan berdasarkan referensi (de With, 2016).

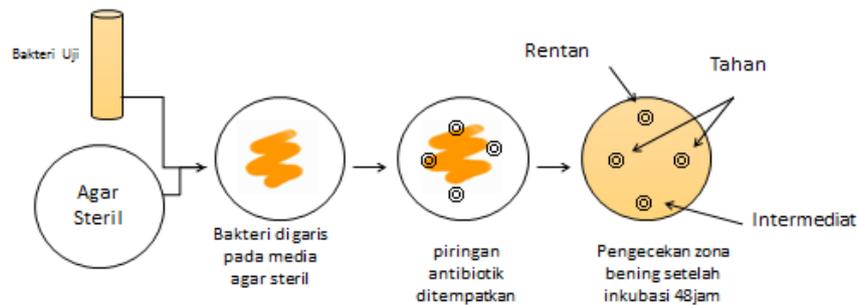
WIDYA BIOLOGI



Gambar 2. Menyajikan metode dilusi cair

Tes difusi cakram, juga dikenal sebagai tes Kirby Bauer. Tes ini telah banyak digunakan di laboratorium klinis sejak tahun 1966. Prinsip dari uji *disk* difusi adalah meletakkan cakram kertas yang telah diberi antibiotik supaya pengenceran pada kultur media yang ditanam secara merata ke dalam cawan Petri. Ketentuan uji kepekaan terhadap antibiotik adalah

mengukur diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram. Makin besar diameter zona hambat maka makin kecil nilai KHM suatu senyawa. Hasil pemeriksaan diinterpretasikan sebagai sensitif, intermediat, atau resistan terhadap suatu antibiotik sesuai dengan kriteria yang telah ditetapkan (Jawetz, 2017).



Gambar 3. Menyajikan metode disk difusi

Metode uji antibakteri selanjutnya adalah menggunakan mesin otomatis. Prinsip metode otomatis ini sama dengan metode dilusi, tetapi menggunakan alat otomatis. Alat otomatis memudahkan pengerjaan dan dapat mengeluarkan hasil sesuai standar yang digunakan alat. Alat uji sensitivitas otomatis yang tersedia saat ini

merupakan alat dengan pilihan otomatis yang berbeda. Peralatan komersial otomatis bisa berupa alat pembacaan KHM setelah inkubasi dengan prinsip turbidimetrik, prinsip reaksi biokimia, sistem indikator redox, dan sebagainya. Penggunaan instrumentasi dapat membakukan pembacaan titik akhir dan

WIDYA BIOLOGI

sering menghasilkan hasil uji sensitivitas dalam periode lebih singkat daripada pembacaan manual karena sistem deteksi

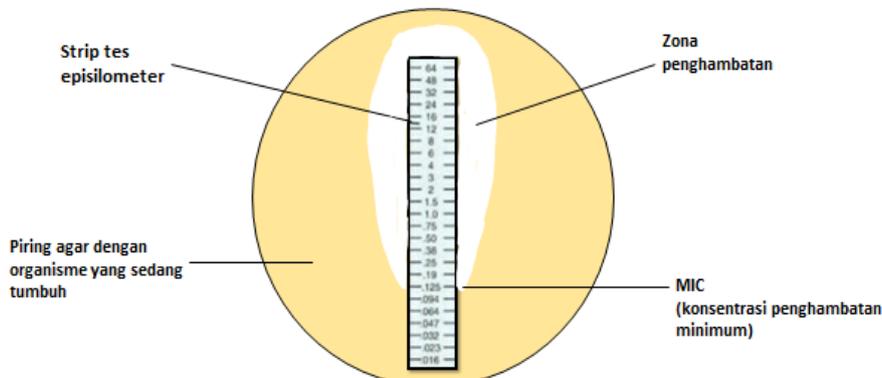
optik yang sensitif memungkinkan deteksi terhadap perubahan minimal dalam pertumbuhan bakteri (Brooks, 2017).



Gambar 4 menyajikan alur pengujian metode otomatis

Uji E-test (Uji Epsilometer) adalah metode sederhana, akurat dan dapat diandalkan untuk menentukan KHM dengan spektrum luas dari agen infeksi. Metode merupakan gabungan dilusi dan difusi. Prinsip uji E adalah pembentukan konsentrasi gradien antibiotik dalam media agar sebagai sarana untuk menentukan sensitivitas. Strip uji E ditempatkan pada

piring agar yang ditanami, kemudian ada pelepasan antibiotik dari permukaan plastik ke permukaan agar. Setelah inkubasi, pertumbuhan bakteri menjadi terlihat, penghambatan simetris sepanjang strip terlihat berbentuk elips. Nilai KHM ($\mu\text{g} / \text{ml}$) yaitu angka pada ujung elips yang memotong strip (Carroll, 2018). Gambar 5 menyajikan diagram uji E.



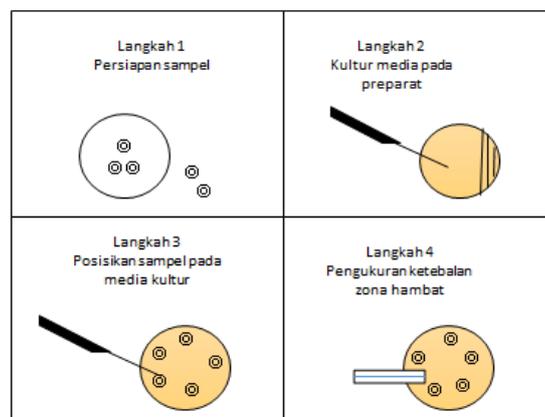
Gambar 5. Menyajikan metode epsilometer (E-test)

WIDYA BIOLOGI

Uji mekanis spesifik (uji deteksi beta laktamase dan uji kromogenik) merupakan uji deteksi bakteri resistan menggunakan metode enzimatik. Beta laktamase merupakan suatu enzim yang dapat mengaktifkan molekul beta laktam dengan cara merusak cincin beta laktam secara kimia. Produksi beta laktamase adalah mekanisme signifikan penyebab resistensi terhadap beberapa antibiotik beta laktam pada organisme tertentu, seperti *Pseudomonas aeruginosa*, *Neisseria meningitidis* dan *Hemophilus influenzae* dan beberapa *Bacteroides* spp. Uji beta laktamase sederhana dapat dilakukan di laboratorium klinis untuk identifikasi produksi enzim beta laktamase pada organisme ini, dan reaksi positif menunjukkan bahwa antibiotik beta laktam (terutama ampisilin, amoksisilin, dan penisilin) menjadi tidak efektif. Deteksi

beta laktamase dapat menggunakan beberapa cara antara lain uji disk cefinase, uji asidimetrik dan iodimetrik berdasarkan penisilin, dan lainnya (Barber, 2017).

Teknologi uji kromogenik didasarkan pada molekul tak berwarna (kromogen), terdiri dari substrat (target aktivitas enzimatik spesifik) dan kromofor. Ketika enzim organisme target membelah konjugat kromogenik yang tidak berwarna, kromofor dilepaskan. Kromofor yang tidak terkonjugasi akan menunjukkan warna khas dan kelarutan yang kurang sehingga membentuk endapan. Perubahan warna inilah yang akan diamati untuk mendeteksi bakteri patogen target. Deteksi bakteri resisten dengan uji kromogenik ini biasa dilakukan untuk uji MRSA (*Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*) (Barber, 2017).



Gambar 6. Menyajikan uji mekanisme spesifik

Metode Uji Lanjutan Infeksi Bakteri dan Resistensi Bakteri

WIDYA BIOLOGI

Metode lanjutan atau biasa disebut dengan diagnostik molekuler adalah salah satu inovasi terbaru di laboratorium mikrobiologi klinis dan cepat berkembang di banyak laboratorium klinis. Teknik biologi molekuler sekarang digunakan untuk membantu diagnosis penyakit infeksi dikarenakan sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi. Tes diagnostik molekuler juga merupakan alat deteksi cepat mikroorganisme tertentu dan sangat berguna untuk mikroorganisme yang sulit tumbuh pada media kultur (*fastidious*) atau yang mempunyai waktu tumbuh lama (*slow growth*). Uji diagnostik molekuler digunakan sebagai jawaban cepat kepada dokter klinisi untuk pilihan pengobatan sehingga menghemat waktu dalam kasus infeksi yang mengancam jiwa (Amann et al., 2016)

Metode deteksi bakteri resistan yaitu mendeteksi gen penyandi resistensi pada suatu mikroorganisme dengan PCR, real time PCR, maupun hibridisasi. PCR merupakan suatu metode enzimatik yang menghasilkan. Penentuan target gen resistensi menggunakan primer *forward* dan *reverse* yang spesifik. Contoh deteksi bakteri resistan adalah gen *mecA* pada bakteri MRSA (Amann, et al.2016)

Realtime PCR mirip dengan teknik PCR. Teknik ini untuk memperbanyak

fragmen DNA dalam jumlah besar secara enzimatik, tanpa menggunakan organisme. Polimerase merupakan enzim mengkatalisis sintesis molekul DNA dari nukleotida triposfat sedangkan *chain reaction* atau reaksi berantai adalah reaksi dimana produk reaksi menghasilkan reaksi selanjutnya. Pada PCR reaksi berantai menghasilkan produk dengan jumlah berantai yang berlipat ganda. Metode RT-PCR bisa digunakan sebagai kuantitatif PCR (qPCR) adalah teknik berbasis PCR yang mengamplifikasi sekuen (urutan basa nukleotida) DNA target sekaligus menguantifikasikan konsentrasi DNA pada reaksi bisa dihitung secara kuantitatif. Perbedaan rtPCR (*realtime* PCR) dan PCR (polymerase chain reaction) adalah untuk mendeteksi suatu proses PCR yang bisa menghasilkan fase awal reaksi dari rtPCR (Amann et al.2016). Sedangkan PCR hanya menggunakan gel elektroforesis untuk mendeteksi suatu bakteri, virus 17 Contohnya adalah mendeteksi gen *rpoB* pada pasien tuberkulosis yang resisten terhadap rifampisin dengan menggunakan teknologi *Gene Xpert* MTB/RIF (Amann et al., 2016).

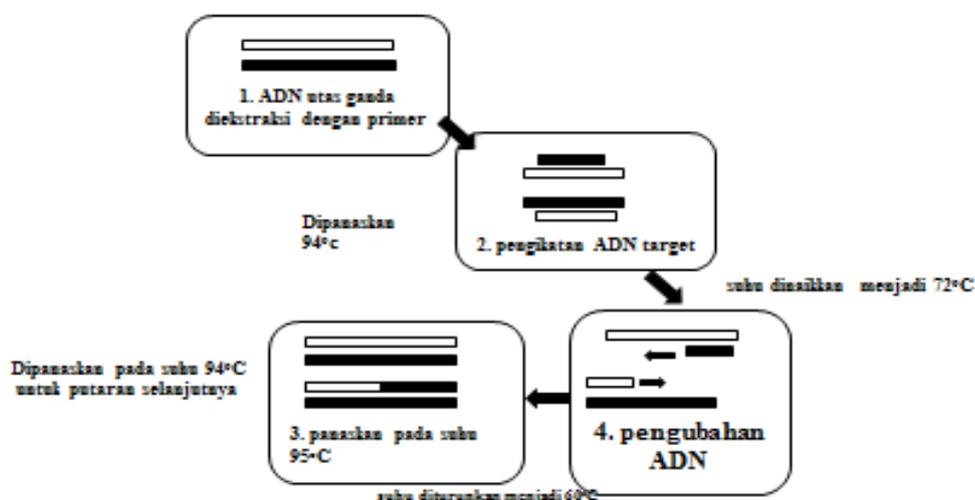
Hibridisasi adalah proses penggabungan dua pelengkap berantai DNA tunggal atau RNA molekul, untuk membentuk molekul berantai DNA

WIDYA BIOLOGI

tunggal melalui proses pemasangan basa. Molekul DNA atau RNA beruntai ganda bisa dipanaskan untuk memecahkan pasangan basa dan memisahkan dua untai pembentukan. Hibridisasi DNA untuk identifikasi molekul DNA yang spesifik dari DNA yang telah terdenaturasi (Perry JD, 2017).

PCR biasanya digunakan untuk mendiagnosis berbasis molekuler, PCR biasanya mendeteksi virus, bakteri, protozoa, dan cacing parasit. Selain itu PCR bisa membedakan spesies yaitu DNA. PCR juga memiliki Primer DNA yaitu DNA yang komplemen terhadap sekuens yang akan di amplifikasi dengan primer yang relatif sederhana dengan LAMP memiliki sepasang primer yang dikenal dengan *forward* dan *reverse*. PCR juga

memiliki kekurangan dengan kekurangan yang dimiliki PCR yaitu proses PCR harus diawali dengan persiapan sampel dengan harga yang cukup mahal. Pada proses PCR biasanya menggunakan mesin pengatur suhu atau biasa dikenal dengan *thermal cycler* dan PCR juga membutuhkan waktu yang lama. Hasil PCR ini tidak dapat dilihat dengan alat dokumentasi gel. Prosedur pemeriksaan parasit yang menggunakan metode PCR memiliki kekurangan. Pada pemeriksaan parasit dengan pemeriksaan PCR memiliki kesulitan dengan tidak dapat membedakan adanya parasit dalam tubuh (Nurwidayati, 2016). Gambar 7 menyajikan alur Metode uji lanjutan infeksi bakteri dan resistensi bakter menggunakan metode PCR.



Gambar 7. Menyajikan alur metode PCR (Polymerase Chain Reaction)

Keterangan:

1. ADN utas ganda diekstraksi dari sampel, kemudian dicampur dengan primer yang dilengkapi dengan penambahan enzim ADN polimerase. Primer tersebut hanya akan

WIDYA BIOLOGI

- mengikat segmen ADN yang spesifik. Aampel dipanaskan pada suhu 94oC untuk memecahkan ikatan yang lemah antara dua utas ADN.
2. pada saat suhu diturunkan menjadi 60°C, maka primer hanya akan mengikat ADN target saja. Enzim ADN polimerase kemudian mulai melipat gandakan untai ADN.
 3. pada suhu 72oC, primer akan mengubah ADN utas tunggal menjadi dua melokul ADN baru.
 4. Amplifikasi tahap pertama selesai, kemudian dilanjutkan dengan amplifikasi dilanjutkan dengan amplifikasi tahap kedua molekul ADN menjadi 4 utas ADN. Dengan bantuan enzim polimerase akan menjadikan 4 utas ADN menjadi empat utas ganda ADN. setelah 25 putaran, maka masing masing segmen target ADN akan diamplifikasi menjadi 33 juta kali. Akhirnya ADN dalam jumlah besar ini akan mudah untuk diidentifikasi dengan menggunakan elektroforesis.

SIMPULAN

Kajian pustaka yang kami susun menggambarkan teknik diagnostik konvensional yang umum dilakukan di laboratorium medis dan teknik lanjutan untuk infeksi bakteri serta resistensi antibakteri. Berbagai teknik memiliki kelebihan dan kekurangan, dimana teknik PCR memiliki keuntungan dalam diagnostic, yaitu waktu pengerjaan relatif lebih cepat, hasil uji lebih sensitif dan uji dapat diulang dengan hasil yang lebih stabil serta memiliki pengaruh faktor eksternal lebih sedikit.

DAFTAR PUSTAKA

- dan uji pakan terkontrol. Ilmu Unggas 89(1): 180-188.
- Read AF. 2016 Manajemen resistensi antibiotik. Kesehatan Masyarakat Evol Med 1: 147.
- Asasi K, Sharifiyazdi H. 2017. Evaluasi resistensi Enrofloxacin pada Escherichia coli yang diisolasi 26: 471-476.
- Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G. Buku Ajar Mikrobiologi Diagnostik. edisi ke-5. 2015. Saunders Elsevier. Missouri.
- Munita JM, Arias CA. Mekanisme Resistensi Antibiotik. Spektrum Mikrobiol. 2016 April; 4(2): doi:10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2016.
- Bellet C. 2018. Resistensi dan Dinamika Praktek Mikrobiologi. 63: 57-64.
- Imam Supardi. Mikrobiologi dalam Pengolah dan Keamanan Pangan. Bandung: Yayasan Adikarya IKAPI ;2018.
- Furtula V 2017. Obat-obatan veteriner dan resistensi antibiotik isolat Escherichia coli pada serasah unggas dari peternakan komersial
- Allerberger F, Amann S, dkk. Strategi untuk meningkatkan penggunaan antibiotik yang rasional di rumah sakit: pedoman oleh Masyarakat Jerman untuk Penyakit Menular. Infeksi. 2016; 44: 395–439. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzer TA. Mikrobiologi Medis Jawetz, Melnick, & Adelberg. edisi 26 2018. Perusahaan McGraw-Hill. AMERIKA SERIKAT.

WIDYA BIOLOGI

- Perry JD, Frediere AM. Penerapan media kromogenik dalam mikrobiologi klinis. Masyarakat untuk Mikrobiologi Terapan, *Jurnal Mikrobiologi Terapan* 103 (2017) 2046-2055.
- Barber M, Rozwadowska-Dowzenko M. Infeksi oleh stafilokokus resisten penisilin. *Lancet* 1948; 2:641-4.
- Cloete TE. Mekanisme resistensi bakteri terhadap senyawa antimikroba. *Biodeteriorasi & Biodegradasi Internasional*. Volume 51, Edisi 4, Juni 2017, Halaman 277-282.
- Eliopoulos GM, Cosgrove SE, Carmeli Y. Dampak resistensi antibakteri pada hasil k Adil, S.A dan Kundarto W. (2019). Evaluasi Penggunaan Antibiotik pada Pasien Geriatri Wanita Infeksi Saluran Kemih di Instalasi Rawat Inap RSUD Dr. Moewardi Surakarta Tahun 2017. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 4(01):01-15
- Asvinigita LRM, Sari IP, Kristina SA. (2019). Antibiotics Stewardship Practice among Community Pharmacists in Indonesia: A cross-sectional survey. *Int J Pharm Res*, 11(4) Biro Komunikasi dan Pelayanan Masyarakat Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2016). Mari Bersama Atasi Resistansi Antimikroba (AMR).
- Currie, B., Ur, E., & Ransom, T. (2008). *Clinical Practice Guidelines: A Global Perspective*. In *The Epidemiology of Diabetes Mellitus* (2nd ed., hal. 641). UK: Wiley Online Library.
- Farida, Y., Trisna, A., Wulandari, D.N., (2017). Studi Penggunaan Antibiotik Pada Pasien Pneumonia di Rumah Sakit Rujukan Daerah Surakarta. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 02, 44 – 52
- Ganiswara. (2012). *Dasar Farmakologi Terapi*. Jakarta: EGC.
- Gururaja MP. (2013). Cephalosporin Utilization Evaluation in a University Teaching Hospital: A Prospective Study. *J Drug Deliv Therapeut*, 3:83-7 Hakim. (2016). *Farmakokinetika*. Yogyakarta: Bursa Ilmu.
- Islam, S., Harnarayan, P., Cawich, S. O., & Budhoomam, S. (2016). Epidemiology of Diabetic Foot Infections in an Eastern Caribbean Population : A Prospective Study. *The Permanente Journal*, 17(2), 37-40.
- Jyothi K., Babu D. (2016). Drug Utilization Evaluation Of Cephalosporins In General Medicine Units Of Rural Tertiary Care Hospital. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 4(2), 88-91.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2016). *Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 2406 Tahun 2011*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2016). *Pedoman pencegahan dan Pengendalian Resistansi Antimikroba Di Rumah Sakit Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 8 Tahun 2015*. Jakarta:

WIDYA BIOLOGI

- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kesehatan Republik Indonesia. (2017). Pedoman Pencegahan Dan Pengendalian Infeksi Di Fasilitas Pelayanan Kesehatan Peraturan Menteri kesehatan Republik Indonesia Nomor 27 Tahun 2017. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Lestari, P. D., Utami, E. D., & Suryoputri, M. W. (2018). Evaluasi Penggunaan Antibiotik di Bangsal Penyakit Dalam RSUD Prof. Dr. Margono Soekarjo Purwokerto Periode Oktober-Desember 2017, 6(1), 20-28.
- Kesehatan dan ekonomi Clin Infect Dis, 36 (2016), hlm. 1433-1437.
- Widayati Nur , 2015 .Aplikasi Teknik Diagnosa Schistosomiasis Berbasis Molekuler, jurnalvektor penyakit Vol 9 No1 , 2016 29-35.
- Kurniawati Devi 2019. Polymerase Chain Reaction (PCR) Konvensional dan Real Time PCR mendeteksi Abtibakteri di indonesia.
- Saleh, K (2019). Pedoman Penggu RSUD Bangil. (2017). Pedoman Penggunaan Antibiotik RSUD Bangil Tahun 2017. RSUD Bangil Kabupaten Pasuruan.
- Saleh, K. (2019). Sistem Rujukan Terintegrasi. In Implementasi Rujukan Online dalam Program JKN. ICE BSD: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Shohrati M, Hosseini SMJ, Rahimian S, Afshar PP. (2016). Assessment of Reasonable Use of Ceftriaxone in Internal and Surgical wards of Tehran. Koswar Med J, 15;171-6
- Utami, S. P. (2018). Profil penggunaan antibiotik dan peta kuman RSUD Bangil periode julidesember 2016. Universitas Surabaya.
- Lay, BW. 2019. Analisis Mikroba di Laboratorium. Jakarta: Grafindo. ISBN 979-421-388-8.Hlm.110
- Cappuccino, J.G. dan N. Sherman. 2016. Microbiology A Laboratory Manual (7th Edition. Perason Education Inc. Publishing as Ela Turmala S, D. and Yusman Taufik, D., 2016. Pengaruh konsentrasi.
- Ela Turmala S, D. and Yusman Taufik, D., 2016. Pengaruh konsentrasi inokulum acetobacter aceti dan lama fermentasi terhadap karakteristik vinegar murbei (Morus alba)[Effect Of Concentration and Old Acetobacter aceti Inoculum Fermentation Characteristics Of Mulberry Vinegar (Morus alba)] (Doctoral dissertation, Fakultas Teknik Unpas).
- Blodgett, Robert. 2010. BAM Appendix 2: Most Probable Number from Serial Dilutions. Bacteriological Analytical Manual.
- Adams, Martin R. and Maurice O. Moss. 2008. Food Microbiology 3rd Edition. RSC Publishing, Cambridge.
- Pranoto, E., Fauzi, G., Hingdri. 2014. Isolation and Characterization of Endophyt Bacteria on Highland Productif and Young Tea Plant (Camellia Sinensis (L.) O. Kuntze). Biospecies,7 (1): 1-7.

WIDYA BIOLOGI

Sari R & Apridamayanti P, 2016, Cemaran Bakteri *Eschericia coli* Dalam Beberapa Makanan Laut yang Beredar di Pasar Tradisional Kota Pontianak, Artikel Jurnal Ilmiah Farmasi, 2 (2): 14-19

Irianto, K, 2016, Mikrobiologi, Yrama Widia, Bandung

Bisri, & Wahyuni. (2018). Ekstrak kelopak bunga rosella (*hibiscus sabdariffa* l.) sebagai pewarnaan alternatif alami preparat section tanaman cabe merah besar (*capsicum annum* l.). Prosiding Biology Education Conference, 11(1), 214-221.
