

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 IDO

Berdasarkan definisi *National Nosocomial Infection Surveillance* (NNIS) IDO adalah infeksi yang diakibatkan oleh adanya tindakan operatif yang dapat mengenai berbagai lapisan jaringan dalam jangka waktu 30 hari atau 1 tahun jika ada pemasangan implan.⁵³ Identifikasi IDO didasarkan dari interpretasi klinis dan pemeriksaan laboratorium.²⁶

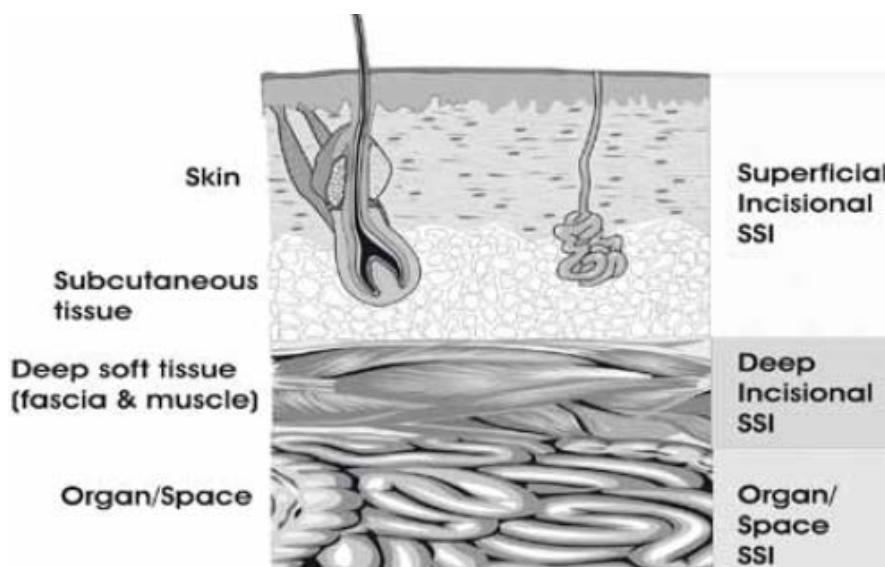
Dalam program pengendalian infeksi, prevalensi IDO penting karena digunakan sebagai indikator dari kualitas ahli bedah dan rumah sakit.⁵⁴⁻⁵⁸ Di Indonesia (2009), Departemen Kesehatan Republik Indonesia (Depkes RI) menentukan bahwa prevalensi infeksi nosokomial, termasuk IDO, menjadi salah satu tolak ukur dari akreditasi rumah sakit di Indonesia.⁵⁹

IDO merupakan salah satu penyakit infeksi nosokomial yang penting. Berdasarkan penelitian Magill dkk (2014), IDO menempati urutan pertama dari total infeksi nosokomial di rumah sakit, yaitu sebesar 21,8%.⁶⁰ Penelitian oleh Haryanti (2013), Daniati (2009) dan Duerink dkk (2005) prevalensi IDO juga merupakan infeksi nosokomial yang terbanyak di Indonesia yaitu berkisar 16,7%-23,6%.^{17,18,61}

Tingginya prevalensi IDO membuat IDO menjadi masalah penting di dunia kesehatan terutama di negara berkembang. Penelitian Allegranzi (2011) didapatkan prevalensi IDO pada negara berkembang yaitu berkisar 3-11% dari total tindakan operatif.⁶ Data tersebut menunjukkan prevalensi IDO pada negara

berkembang lebih besar dibandingkan pada negara maju yaitu berkisar 1-5% dari total tindakan.⁷⁻¹⁶ Berdasarkan penelitian Haryanti (2013) dan Duerink dkk (2005) prevalensi IDO di Indonesia berkisar 5,1 - 8% dari total tindakan operatif.^{17,18}

Berdasarkan letaknya IDO diklasifikasikan menjadi 2 kelompok besar, IDO insisional dan IDO organ atau ruang.⁶² IDO insisional diklasifikasikan menjadi 2, IDO insisional superfisial dan IDO insisional dalam (jaringan lunak yang lebih dalam seperti fascia dan otot). Ilustrasi klasifikasi IDO sesuai Gambar 1.¹



Gambar 1. Ilustrasi klasifikasi IDO berdasarkan letak¹

Prevalensi IDO berbeda beda berdasarkan letaknya. Penelitian oleh Fiorio (2006) didapatkan IDO terbanyak adalah IDO insisional superfisial yaitu sebesar (62,3%) diikuti oleh IDO organ atau ruang (22,7%) dan paling sedikit adalah IDO insisional dalam (14,3%).¹⁴ Penelitian oleh Prospero di Itali, IDO yang terbanyak adalah IDO insisional superfisial (35,7%) diikuti dengan IDO organ atau ruang (17,9%) dan yang terakhir IDO insisional dalam (14,3%), 9% IDO tidak diketahui lokasinya.⁶³ Penelitian oleh Haryanti (2013) di RSCM Indonesia yaitu yang

terbanyak adalah IDO insisional superfisial (70%) diikuti dengan IDO insisional dalam (15%) dan IDO organ atau ruang (15%).¹⁸ Penelitian oleh Duerink dkk (2005) prevalensi pada rumah sakit RSUP dr Kariadi dan RSUP dr Soetomo menunjukkan IDO insisional superfisial merupakan terbanyak (47%), diikuti oleh IDO organ (30%) kemudian IDO insisional dalam (23% di rumah sakit B).¹⁷

Klasifikasi berdasarkan kelas kontaminasi pada luka operasi juga dapat digunakan untuk melaporkan IDO.⁶⁴ Klasifikasi luka yang digunakan *National Healthcare Safety Network* (NSHN) disesuaikan dari *American College of Surgeons*. Luka diklasifikasikan menjadi 4 kelas yaitu luka bersih, bersih terkontaminasi, terkontaminasi, dan luka kotor atau terinfeksi.²⁶

Prevalensi IDO berbeda beda berdasarkan kelas kontaminasi. Penelitian Allegranzi (2011) pada negara berkembang didapatkan IDO terbanyak pada operasi luka kotor yaitu sebesar 39,2% diikuti oleh luka terkontaminasi (14,3%) dan luka bersih terkontaminasi (13,7%), serta paling sedikit pada operasi luka bersih yaitu sebesar 7,6% dari total tindakan operatif.⁶ Urutan yang berbeda ditunjukkan di India oleh Jain (2013) yaitu terbanyak sebesar 70,4% pada luka kotor diikuti 18,6% pada luka bersih dan 18,6% luka bersih terkontaminasi, dan paling sedikit pada luka terkontaminasi (14,6%).⁶⁵

IDO merupakan masalah yang serius dan mahal di bidang kesehatan oleh karena dampak buruk yang diberikan. Peningkatan morbiditas dan mortalitas serta perpanjangan *Length of Stay* (LOS) sering dikaitkan dengan IDO.⁶⁶⁻⁶⁸ Pada penelitian oleh Haryanti (2013) didapatkan bahwa penderita IDO yang mengalami sepsis sebesar 46% dan 2% diantaranya meninggal karena sepsis.¹⁸ Penelitian

Suchitra dan Lakshmidewi (2009) menunjukkan peningkatan prevalensi kematian sebesar 9% pada IDO.³

Beberapa penelitian didapatkan IDO meningkatkan LOS sebanyak 9-14 hari dan memperpanjang LOS pada *Intensive Care Unit* (ICU) sebanyak 7 hari.^{2-4,63} Penelitian oleh Urban (2006) biaya yang dikeluarkan dalam manajemen IDO setiap kasusnya berkisar 400 dolar untuk IDO superfisial ringan hingga mencapai 300 ribu dolar untuk IDO organ yang berat.⁵ Penelitian di India oleh Suchitra dan Lakshmidewi (2009) total biaya yang dikeluarkan pada pasien IDO lebih besar 13000 rupee (472 dolar) dibandingkan dengan pasien tanpa IDO.³

2.2 Faktor risiko IDO

IDO dipengaruhi oleh banyak faktor baik yang berasal dari pasien (karakteristik pasien) maupun dari karakteristik operatif.¹ Karakteristik operatif antara lain LOS praoperatif (OR 2,8 CI 95%),⁶⁹ durasi operatif (OR berkisar 1,21-3,2 CI 95%),^{63,69-71} operasi cito (OR berkisar 1,99-4,72 CI 95%),^{2,18} pencukuran rambut praoperatif (OR 2,24 CI 95%),⁷⁰ luka kotor dan terkontaminasi (OR 13,61 CI 95%),⁷² skor ASA (OR berkisar 4,06-10 CI 95%),⁷⁰⁻⁷² persiapan kulit praoperatif (OR 13,9 CI 95%),⁷¹ dan waktu pemberian antibiotik profilaksis (OR 3,4 CI 95%).⁷³

Karakteristik pasien antara lain usia (OR 1,6 CI 95%),⁷⁴ jenis kelamin (OR 2,12 CI 95%),⁷⁵ obesitas (OR 1,02 CI 95%),⁷⁵ riwayat penyakit infeksi sistemik (OR 2,1 CI 95%),⁷⁰ diabetes melitus (OR berkisar 1,25 – 2,5 CI 95%),⁷⁰ penyakit

pramorbid (OR 6,1 CI 95%),⁷¹ dan riwayat penggunaan immunosupresan (OR 1,3 CI 95%),⁷⁵ dan kolonisasi bakteri potensial patogen (OR 3,1 CI 95%).⁷⁶

Kejadian IDO banyak dikaitkan dengan adanya kolonisasi bakteri potensial patogen pada kulit.²⁷⁻²⁹ Umumnya bakteri potensial patogen yang menyebabkan sebagian besar IDO berasal dari flora endogen dari kulit pasien, membran mukosa dan *hollow viscera*. Ketika kulit diinsisi, jaringan yang terbuka akan berisiko terkontaminasi.³⁰⁻³² Tindakan operatif melibatkan luka atau sayatan yang menjadi jalur bagi bakteri untuk mempenetrasi kulit dan masuk ke jaringan lain serta aliran darah sehingga dapat terjadi suatu penyakit.³⁰⁻³²

Secara kuantitatif, risiko IDO meningkat secara signifikan jika daerah operatif terkontaminasi lebih dari 10^5 mikroorganisme per gram jaringan.²⁶ Pentingnya kolonisasi pada kulit terhadap IDO didukung oleh penelitian oleh Swenson (2014) yang menunjukkan bahwa dekolonisasi dengan pemberian 2% Chlorhexidin dan 70% isopropyl alcohol pada kulit dapat menurunkan kejadian IDO sebesar 5% dan 8%.²⁹

Kulit berbeda dengan organ lain dalam tubuh. Pada kulit banyak terpapar kondisi ekstrim, kontaminasi bakteri dan berbagai macam zat kimia dari lingkungan luar tubuh. Dengan kondisi tersebut, pada kulit dapat ditemukan bakteri yang mengkolonisasi kulit baik secara sementara atau menetap meskipun telah dilakukan persiapan praoperatif pada kulit.⁷⁷

Bakteri pada kulit yang umumnya berperan pada IDO adalah bakteri *coccus* gram positif (*Staphylococcus species*), tetapi kadang bakteri enterik (terutama golongan *Enterobacteriaceae*) juga berperan jika insisi yang dilakukan

pada daerah dekat dengan perineum atau selangkangan.²⁶ Bakteri terutama gram positif dapat ditemukan sebagai bakteri *resident*, *transient* atau *temporary resident* pada kulit.⁴¹ Pada umumnya bakteri gram negatif tidak ditemukan sebagai flora pada kulit kecuali pada keadaan khusus yang memungkinkan timbul kolonisasi yang bersifat sementara.⁷⁸

2.3 Faktor risiko kolonisasi bakteri patogen potensial pada kulit

Sebagai mana dijelaskan pada sub bab 2.2, kolonisasi bakteri patogen potensial merupakan faktor risiko IDO. Kolonisasi bakteri patogen potensial pada kulit dipengaruhi banyak faktor yang berasal dari faktor endogen dan faktor eksogen.³³ Faktor endogen antara lain usia,⁷⁹ jenis kelamin,³⁴⁻³⁶ daerah kolonisasi */site*,^{78,80} diabetes mellitus,³⁷ status gizi,^{38,39}. Faktor eksogen antara lain pekerjaan,⁸¹ penggunaan antibiotik.⁴¹⁻⁴⁴ iklim dan lokasi geografik,^{82,83} merokok,³⁷ dan higien.⁸⁴

Perbedaan letak pada permukaan kulit mempengaruhi distribusi bakteri yang mengkolonisasi.⁸⁰ Pada daerah pinggang ke atas umumnya ditemukan bakteri gram positif seperti *S. aureus* yang banyak pada muka dan tangan.⁸⁵ Daerah pinggang ke bawah dapat ditemukan baik bakteri gram positif maupun gram negatif, terutama spesies bakteri Enterik (*Enterobacteriaceae* dan *Enterococcus species*) yang berasal dari daerah anorektal, turun dan mengkolonisasi kulit sekitarnya (*fecal veneer*).⁸⁶

Berdasarkan penelitian Grice (2014), lesi dan infeksi pada kulit dan jaringan lunak berhubungan dengan perubahan kolonisasi bakteri di kulit. Beberapa penyakit kulit yang dapat mempengaruhi kolonisasi bakteri antara lain

akne vulgaris, akne rosacea, dermatitis atopik, dan psoriasis vulgaris.⁸⁷ Penelitian oleh Gong dkk (2006) pada pasien dengan eksim dan dermatitis atopik, kolonisasi *S. aureus* lebih banyak ditemukan pada kulit daerah lesi dibanding dengan kulit tanpa lesi.⁸⁸ Penelitian oleh Higaki (1999) kolonisasi *S. aureus* lebih banyak ditemukan pada pasien dengan dermatitis atopik dibanding dengan orang sehat.⁸⁹

Penelitian oleh Acton dkk (2008) menunjukkan bahwa kolonisasi *S. aureus* pada nasal merupakan faktor disposisi terhadap kolonisasi pada kulit sekitar anus.⁹⁰ Penelitian pada ibu hamil oleh Beigi (2007), didapatkan 82% kesesuaian antara kolonisasi *S. aureus* pada nasal dan vagina.⁹¹ Penelitian oleh Acton dkk serta Beigi dan Hanrahan tersebut memungkinkan faktor risiko yang mempengaruhi kolonisasi bakteri pada daerah lain juga dapat mempengaruhi kolonisasi pada kulit.^{27,92}

Usia memiliki pengaruh yang besar terhadap keadaan kulit, demikian pula dengan bakteri yang mengkolonisasi. Penelitian oleh Leyden dkk (1975), secara kuantitatif bakteri residen aerob dan anaerob pada wajah menunjukkan pola karakteristik yang berhubungan dengan usia. Peningkatan kolonisasi bakteri akan mengalami peningkatan sejak pubertas. Jumlah kolonisasi tertinggi didapatkan pada dewasa muda dan konstan hingga usia tua yang kemudian jumlahnya menurun.⁹³

2.3.1 Jenis kelamin

Jenis kelamin memiliki peranan yang besar terhadap keadaan kulit. Secara fisiologis dan anatomis, terdapat perbedaan pada kulit pria dengan wanita perbedaan tersebut antara lain pada kelenjar keringat, sebum, dan produksi

hormon. Perbedaan pada kondisi kulit tersebut dapat mempengaruhi perbedaan kolonisasi antara pria dengan wanita.³⁴⁻³⁶ Penelitian oleh Baruffet dkk (2014) yaitu risiko kolonisasi MRSA di hidung dan kulit pada laki laki meningkat hingga 5 kali.⁴⁵ Jenis kelamin laki laki sebagai faktor risiko kolonisasi juga ditunjukkan oleh penelitian oleh Herwaldt dkk (2004) pada nasal yaitu *odds ratio* pada laki laki dibanding perempuan sebesar 1,3.⁹⁴

2.3.2 Status gizi

Kondisi gizi seseorang sangat berperan pada kesehatan orang tersebut. Kurang gizi dan obesitas sering dikaitkan dengan adanya penyakit infeksi, yang mana pada penelitian Zervou dkk (2014) menunjukkan bahwa kolonisasi bakteri merupakan faktor risiko dari penyakit infeksi.⁹⁵ Indeks massa tubuh (IMT) merupakan salah satu indikator penting untuk menentukan status gizi seseorang. IMT menggunakan data pengukuran berat badan dan tinggi badan. Rumus IMT sebagai berikut:

$$\text{IMT} = \frac{\text{berat badan (kg)}}{(\text{tinggi badan (m)})^2}$$

WHO mengklasifikasikan IMT menjadi 3 kelas, yaitu *underweight* (<18,5 kg/m²), normal (18,5-24,9 kg/m²) dan *overweight* (> 25 kg/m²).⁹⁶ Di Indonesia, kategori IMT berdasarkan Departemen Kesehatan Republik Indonesia (Depkes RI) sesuai Tabel 2.⁹⁷

Tabel 2. Klasifikasi IMT.⁹⁷

	Kategori	IMT
Kurus	Kekurangan berat badan tingkat berat	< 17,0
	Kekurangan berat badan tingkat ringan	17,0 – 18,4
Normal		18,5 – 25,0
Gemuk	Kelebihan berat badan tingkat ringan	25,1 – 27,0
	Kelebihan berat badan tingkat berat	> 27,0

Penelitian oleh Olsen (2013) menunjukkan setiap peningkatan IMT sebesar 2,5 kg/m² berkaitan dengan peningkatan rasio kolonisasi sebesar 7%, selain itu perempuan dengan obesitas 2,6 kali lebih berisiko untuk kolonisasi *S. aureus*.³⁹

2.3.3 Diabetes melitus.

Gula darah merupakan indikator yang penting dalam terjadinya kolonisasi. Gula darah yang tinggi terutama pada penderita diabetes dapat mendukung pertumbuhan bakteri terutama bakteri yang menggunakan glukosa sebagai sumber energi. Terjadi peningkatan risiko yang signifikan pada pasien dengan adanya penyakit yang mendasari seperti diabetes, hal ini ditunjukkan oleh penelitian oleh Lipsky (1987) bahwa penderita NIDDM lebih berisiko 3kali lipat untuk memiliki kolonisasi pada kulit dan rongga hidung.³⁷

2.3.4 Riwayat penggunaan antibiotik.

Antibiotik adalah obat yang dapat menghambat pertumbuhan (bakteriostatik) atau membunuh bakteri (bakterisidal) dan digunakan sebagai

terapi dari penyakit infeksi. Antibiotik diklasifikasikan berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu antibiotik yang menghambat metabolisme (sulfonamid, trimetoprim), menghambat pembentukan dinding sel (beta laktam, vankomisin), menghambat sintesis protein (tetrasiklin, aminoglikosid, makrolid, klindamisin, kloramfenikol), dan menghambat sintesis asam nukleat (kuinolon dan rifampisin).⁹⁸ Lama antibiotik berkerja bervariasi berdasarkan waktu paruhnya. Antibiotik dengan waktu paruh yang panjang seperti golongan tetrasiklin (11-12 jam) memerlukan waktu sekitar 3 hari agar efeknya menghilang dari tubuh.^{98,99}

Pentingnya penelitian mengenai antibiotik sebagai faktor risiko kolonisasi dapat digunakan sebagai acuan pedoman penggunaan antibiotik, apakah penggunaan antibiotik perlu dilakukan untuk mengurangi kolonisasi atau tidak. Penggunaan antibiotik yang seringkali tidak tepat akan menyebabkan pengobatan menjadi kurang efektif bahkan dapat membahayakan pasien karena resistensi yang ditimbulkan.¹⁰⁰ Penelitian oleh Hadi (2009) di RSUP dr Kariadi dan RSUD dr Soetomo, Indonesia, 84% pasien yang dirawat di rumah sakit mendapat terapi antibiotik. Penulisan resep antibiotik tersebut 53% sebagai terapi, 15% sebagai profilaksis dan 32% tidak diketahui indikasinya.¹⁰¹

2.4 Bakteri potensial patogen penyebab IDO

Bakteri potensial patogen penyebab IDO yang penting antara lain *S. aureus* dan bakteri batang gram negatif. *S. aureus* dan bakteri gram negatif terutama *P. aeruginosa* dan famili *Enterobacteriaceae* merupakan bakteri patogen yang sering ditemukan pada IDO. Penelitian oleh Chen (2012) didapatkan data

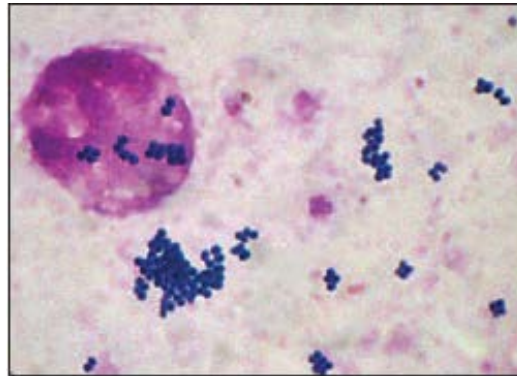
bahwa risiko mortalitas lebih tinggi pada pasien IDO dengan *Staphylococcus aureus* (OR 3,7) dan bakteri batang gram negatif (OR 3,0).²

Penelitian di beberapa negara berkembang oleh Allegranzi dkk (2011), *S. aureus* merupakan bakteri terbanyak pada IDO yaitu sebesar 20%. Pada penelitian tersebut, bakteri batang gram negatif yang menyebabkan IDO terbanyak adalah famili *Enterobacteriaceae* yaitu 44% dari IDO dan *Pseudomonas sp* (17%).⁶ Berdasarkan penelitian oleh Zafar dkk (2012), Trinh dkk (2009) dan Weinstein dkk (2005), bakteri gram negatif yang sering ditemukan pada IDO adalah *Pseudomonas aeruginosa* (12,2-22,6%) dan famili *Enterobacteriaceae* yaitu *Eschericia coli* (14,3-29,7%) dan *Enterobacter sp.* (12,2-15,5%).¹⁰²⁻¹⁰⁴ Berdasarkan data yang berasal dari RSUP dr Kariadi (2012) bakteri potensial patogen yang berperan penting dalam terjadinya IDO antara lain *S. aureus*, *E. coli*, *Enterobacter sp.*, *P. aeruginosa.*, dan *Klebsiella sp.*²⁵

2.4.1 *S. aureus*

S. aureus merupakan bakteri gram positif berbentuk coccus. Pada pemeriksaan mikroskop *S. aureus* tersusun bergerombol menyerupai buah anggur, tetapi kadang juga ditemukan dalam bentuk susunan lain seperti, *single coccus*, berpasangan, tetrad, dan rantai pendek. *S. aureus* tidak memiliki flagel, tidak motil, dan tidak membentuk spora.^{30,32} *S. aureus* merupakan bakteri *fakultatif anaerob*. Koloni *S. aureus* dapat tumbuh pada media *blood agar* dengan inkubasi 18 jam dengan suhu 37°C. Koloni tampak berwarna putih keabuan hingga berwarna kuning keemasan. Pada *blood agar*, koloni *S. aureus* dapat menunjukkan

aktifitas beta hemolisis.³² Morfologi *S. aureus* pada pengecatan gram sesuai pada Gambar 2.



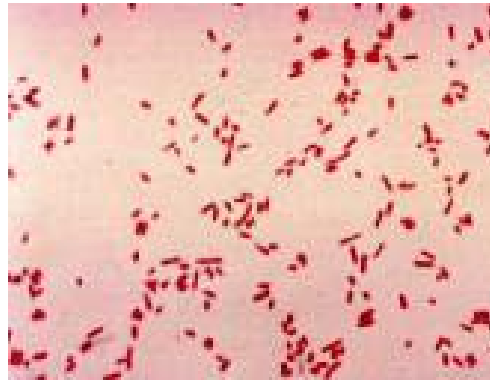
Gambar 2. *S. aureus* pada pengecatan gram.³¹

S aureus memiliki enzim katalase yang dapat mengurai hidrogen peroksida menjadi oksigen dan air. Enzim katalase tersebut dapat digunakan untuk membedakan *Staphylococcus species* dengan *Streptococcus species*. Enzim lain yang dimiliki *S aureus* adalah enzim koagulase yang dapat menggumpalkan plasma. Enzim koagulase dapat membedakan *S. aureus* dengan *Staphylococcus sp* lainnya.

2.4.2 *E. coli*

E. coli merupakan bakteri gram berbentuk batang gram negatif golongan *Enterobacteriaceae* yang memiliki fimbria atau fili.^{31,32} Pada kultur, kolonisasi *E. coli* terlihat membentuk lingkaran, cembung, permukaan halus, dan berbatas tegas.³¹ Beberapa strain *E. coli* dapat menunjukkan aktifitas beta hemolisis pada *blood agar*. Kultur dengan media MacConkey menghasilkan pigmen berwarna merah muda oleh karena adanya proses fermentasi laktosa.¹⁰⁵ Kemampuan untuk memfermentasikan laktosa tersebut merupakan sifat khas *E. coli* untuk

membedakan dengan bakteri *Enterobacteriaceae* lainnya.³⁰ Morfologi *E. coli* pada pengecatan gram sesuai Gambar 3.



Gambar 3. *E. coli* pada pengecatan gram.³¹

E. coli memiliki kemampuan untuk memfermentasi mannitol, memecah triptofan menjadi indol dan bersifat motil. Kemampuan tersebut dapat digunakan untuk membedakan *E. coli* dengan bakteri *Enterobacteriaceae* lainnya.^{31,32}

E. coli merupakan bakteri gram negatif yang berperan penting pada terjadinya infeksi nosokomial. Umumnya *E. coli* dapat ditemukan sebagai flora normal pada usus besar manusia, tapi juga dapat menjadi bakteri patogen baik di dalam maupun diluar saluran gastrointestinal.¹⁰⁶⁻¹¹²

2.4.3 *Enterobacter sp*

Enterobacter sp. merupakan bakteri golongan *Enterobacteriaceae* yang berbentuk batang gram negatif, tidak membentuk spora, dan bersifat fakultatif anaerob. *Enterobacter sp* memiliki flagela yang memungkinkan bakteri untuk motil. *Enterobacter sp.* memiliki kapsul yang kecil.¹¹³ Morfologi *Enterobacter* sesuai pada Gambar 4.

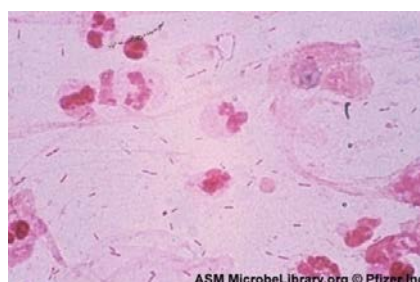


Gambar 4. *Enterobacter sp* pada pengecatan gram.¹¹⁴

Enterobacter sp dalam 24 jam dengan suhu 37°C dapat tumbuh pada media MacConkey menghasilkan koloni berwarna merah muda yang menunjukkan bakteri ini dapat memfermentasi laktosa.¹¹⁵ *Enterobacter sp* membentuk koloni yang tidak bersifat mukoid sehingga dapat dibedakan dengan koloni *Klebsiella species* yang bersifat mukoid.¹¹⁶

2.4.4 *P. aeruginosa*

P. aeruginosa merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang langsing dan bersifat motil karena memiliki flagela. *P. aeruginosa* menunjukkan hasil yang positif pada reaksi oksidase dan katalase.³⁰ Morfologi *P. aeruginosa* sesuai pada Gambar 5.



Gambar 5. *P. aeruginosa* pada pengecatan gram.¹¹⁴

Koloni *P. aeruginosa* memiliki pinggiran yang tidak rata, terlihat mengkilat dan menimbulkan bau seperti buah buahan. Pada *blood agar* tampak aktifitas beta hemolisis. Reaksi yang bersifat oksidase positif. Kombinasi fluorescen berwarna kuning dan *pyocyanin* yang dihasilkan *P. aeruginosa* menghasilkan fluoresensi warna kehijauan yang terang pada koloni. Fluoresensi pada koloni bersifat spesifik untuk bakteri ini sehingga membedakan *P. aeruginosa* dengan bakteri lainnya.³⁰

2.4.5 *Klebsiella sp.*

Klebsiella sp. merupakan bakteri golongan *Enterobacteriaceae* yang berbentuk batang gram negatif, non motil, dan memiliki kapsul berbasis polisakarida.³⁰ Bentuk *Klebsiella sp.* cenderung lebih bulat dan tebal dibanding dengan anggota *Enterobacteriaceae* lainnya. Bentuk khas dari *Klebsiella* antara lain batang lurus dengan ujung membulat atau menipis. Morfologi *Klebsiella sp.* sesuai dengan Gambar 6.



Gambar 6. *Klebsiella sp* pada pengecatan gram.³¹

Klebsiella sp tumbuh optimal pada suhu 35-37°C dan pH 7,2. *Klebsiella sp* merupakan bakteri fakultatif anaerob. Sebagian besar strain *Klebsiella sp.* dapat hidup dengan sitrat dan glukosa sebagai sumber karbon dan ammonia sebagai sumber nitrogen.¹¹⁷

Klebsiella sp. dapat ditemukan pada hidung, mulut dan saluran gastrointestinal sebagai flora normal, tetapi dapat juga bersifat patogen oportunistik.¹¹⁷ *Klebsiella sp.* dapat menyebabkan berbagai macam penyakit seperti pneumonia, infeksi saluran kemih, sepsis, meningitis, diare, dan infeksi jaringan lunak.¹¹⁸ Infeksi yang disebabkan *Klebsiella sp.* pada lebih tinggi prevalensinya pada usia sangat muda, usia sangat tua, dan orang-orang dengan penyakit kronis seperti kanker.¹¹⁹ Kontaminasi dari peralatan invasif medis dilibatkan pada sebagian besar infeksi oleh *Klebsiella sp.*¹¹⁷

2.4.6 Identifikasi bakteri patogen penyebab IDO

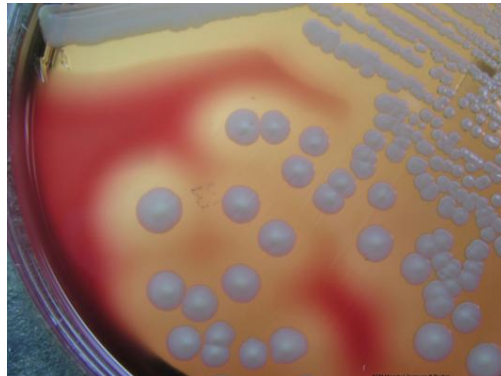
1. Isolasi primer

a. *Blood agar* (BA)

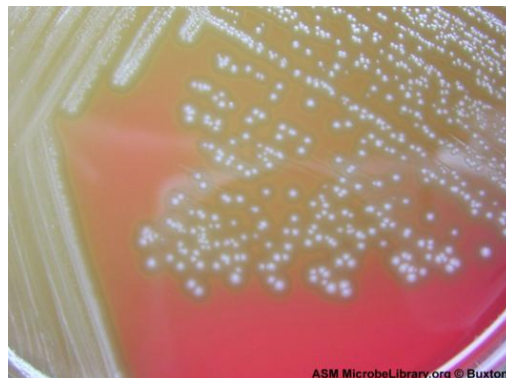
BA merupakan salah satu media isolasi standar yang digunakan dalam isolasi primer. Sebagai media *enrichment*, BA mengandung nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan bakteri terutama bakteri *fastidious*. Di samping nutrisi, BA juga mengandung darah mamalia (biasanya darah domba) sebesar 5%. BA dapat digunakan sebagai media differensial untuk membedakan bakteri berdasarkan kemampuan hemolisisnya.¹²⁰

Beberapa bakteri dapat memproduksi enzim hemolisin yang berbeda-beda jenisnya. Bakteri dengan hemolisin beta dapat menghancurkan eritrosit dan hemoglobin secara sempurna, sehingga koloni pada BA tampak daerah yang jernih disekitar koloni (beta hemolisis). Bakteri dengan hemolisin alfa menghancurkan eritrosit dan hemoglobin secara tidak sempurna menyisakan biliverdin, sehingga tampak warna kehijauan pada daerah sekitar koloni (alfa hemolisis). Bakteri yang

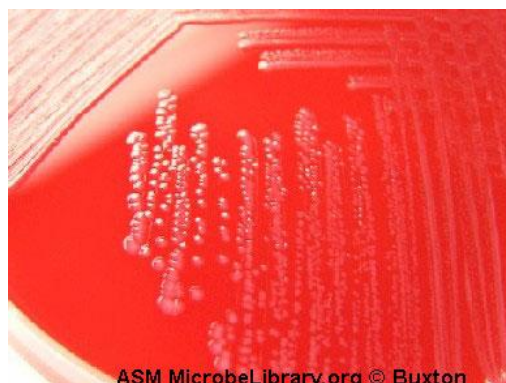
tidak memiliki hemolisin tidak merusak sel darah merah, sehingga pada daerah sekitar koloni tidak berubah warna (gamma hemolisis).¹²⁰ Berikut koloni bakteri dengan beta hemolisis sesuai pada Gambar 7, alfa hemolisis sesuai pada Gambar 8, dan gamma hemolisis sesuai Gambar 9.



Gambar 7. Beta hemolisis pada koloni *S. aureus*.¹²¹



Gambar 8. Alfa hemolisis pada *Streptococcus species* grup Viridans.¹²²



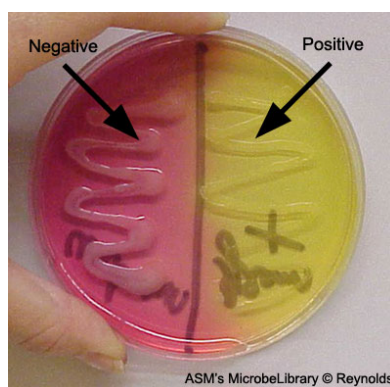
Gambar 9. Gamma hemolisis pada koloni *Enterococcus faecalis*.¹²³

b. *Mannitol Salt Agar (MSA)*

MSA termasuk dalam media selektif dan differensial yang digunakan dalam isolasi genus *Stapylococcus*. Media ini mengandung natrium klorida (NaCl) 7,5%. Konsentrasi garam yang tinggi tersebut menghambat sebagian besar gram positif dan gram negatif selain genus *Staphylococcus*.¹²⁴

MSA dapat digunakan untuk membedakan bakteri berdasarkan kemampuannya memfermentasi mannitol. MSA mengandung mannitol dan menggunakan *phenol red* sebagai indikator pH. Mannitol yang terfermentasi oleh bakteri akan menghasilkan asam yang akan mengubah warna indikator pH menjadi kuning. Bakteri yang tumbuh tetapi tidak memfermentasi mannitol akan menunjukkan warna merah atau merah muda karena adanya perombakan pepton.¹²⁴

Hasil pertumbuhan koloni pada MSA sesuai dengan Gambar 10.



Gambar 10. MSA menunjukkan hasil positif dan negatif.¹²⁵

c. *Mac Conkey Agar (MAC)*

MAC termasuk dalam media selektif dan diferensial. Media ini digunakan untuk isolasi dan diferensiasi bakteri gram negatif non *fastidius*, terutama untuk famili *Enterobacteriaceae* dan genus *Pseudomonas*. MAC mengandung kristal

violet dan garam empedu yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif yang *fastidious*.¹²⁶

MAC dapat digunakan untuk membedakan bakteri berdasarkan kemampuannya memfermentasi laktosa. MAC mengandung laktosa dan menggunakan *neutral red* sebagai indikator pH. Laktosa yang terfermentasi oleh bakteri akan menghasilkan asam yang akan mengubah warna indikator pH menjadi merah atau merah muda. Bakteri yang memfermentasi laktosa dengan kuat akan memproduksi asam yang cukup untuk presipitasi garam empedu, sehingga tampak *halo* berwarna merah muda pada daerah sekitar koloni. Bakteri yang memfermentasi laktosa dengan lemah koloni tetap berwarna merah muda tapi tidak tampak *halo*. Bakteri yang tumbuh tetapi tidak memfermentasi laktosa tampak kurang berwarna dan daerah sekitarnya tetap transparan.¹²⁶ Koloni *E. coli* yang memfermentasi laktosa secara kuat sesuai Gambar 11.



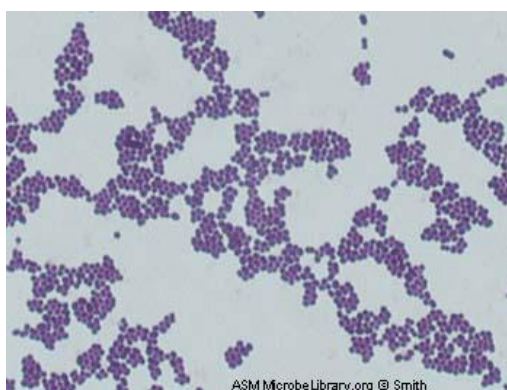
Gambar 11. Koloni *E. coli* pada MAC memfermentasi laktosa.¹²⁷

2. Pengecatan gram

Pengecatan gram termasuk dalam pengecatan kompleks yang bersifat differensial. Pengecatan ini dapat digunakan untuk membedakan bakteri berdasarkan susunan dinding sel bakteri. Reagen utama yang digunakan dalam

pengecatan ini antara lain kristal violet sebagai bahan cat I, lugol sebagai *mordant*, alkohol absolut sebagai peluntur, dan safranin atau air fukhsin sebagai bahan cat II.¹²⁸

Interpretasi pada pengecatan gram pada bakteri gram positif berwarna ungu karena tidak terjadi pelunturan cat I pada dinding sel oleh alkohol absolut setelah pemberian lugol sebagai *mordant* dan cat II tidak bisa masuk ke dalam dinding sel. Pada bakteri gram negatif akan tampak berwarna warna merah, pemberian mordant tidak berpengaruh pada dinding sel sehingga pengecatan cat 1 luntur setelah diberi alkohol absolut, dan pengecatan air fukhsin akan mengecat dinding sel tersebut.^{128,129} Hasil pengecatan gram positif sesuai dengan Gambar 12, dan hasil pengecatan gram negatif sesuai dengan gambar 13.



Gambar 12. Bakteri coccus gram positif.¹³⁰

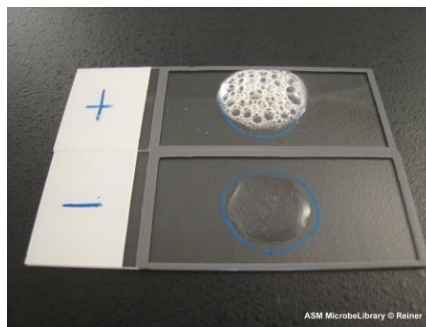


Gambar 13. Bakteri batang gram negatif.¹³⁰

3. Uji biokimia

3.1. Uji katalase

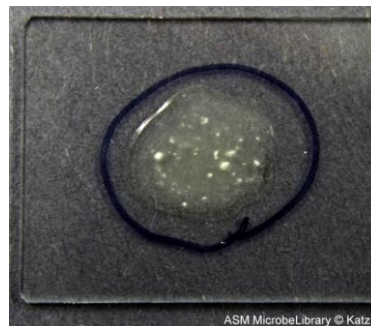
Uji katalase digunakan untuk mendeteksi enzim katalase yang diproduksi oleh bakteri. Enzim katalase memecah H_2O_2 menjadi air dan oksigen. Oksigen yang terbentuk akan tampak sebagai gelembung. Hasil positif ditunjukkan jika terbentuk gelembung.¹³¹ Hasil uji katalase sesuai pada Gambar 14.



Gambar 14. Hasil uji katalase.¹³²

3.2. Uji koagulase

Tes koagulase dapat membedakan *S. aureus* dengan *Staphylococcus sp.* lain. Tes ini ditujukan untuk mengetahui adanya enzim koagulase yang dapat menggumpalkan plasma. Jika terbentuk gumpalan pada plasma dalam waktu 1-4 jam menunjukkan hasil tes positif.^{133,134} Hasil uji koagulase positif sesuai Gambar 15.

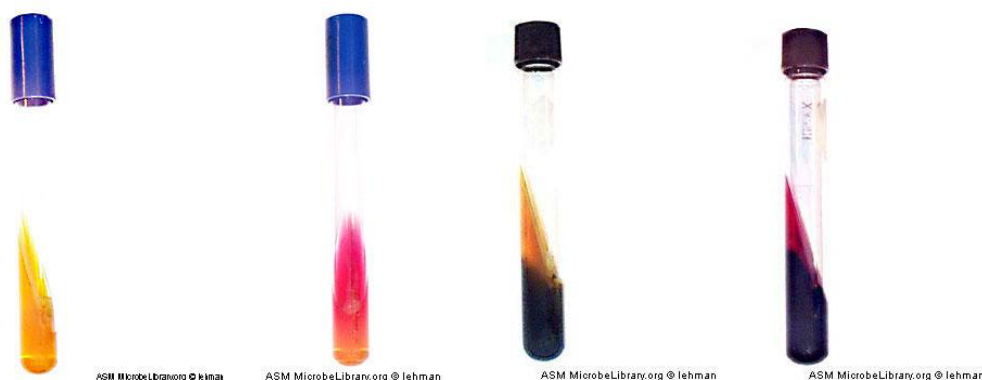


Gambar 15. Hasil uji koagulase positif.¹³³

3.3. Uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA)

TSIA termasuk dalam media diferensial yang membedakan bakteri berdasarkan fermentasi karbohidrat dan produksi H₂S. Fermentasi karbohidrat oleh bakteri dapat dilakukan secara aerob maupun nonaerob. TSIA merupakan media diferensial yang mengandung laktosa, sukrosa, glukosa, ferosulfat, dan *phenol red* (indikator pH). Media ini digunakan membedakan bakteri berdasarkan kemampuan untuk mereduksi sulfur dan fermentasi gula. Media ini terdiri dari 2 bagian yaitu slant dan butt.¹³⁵

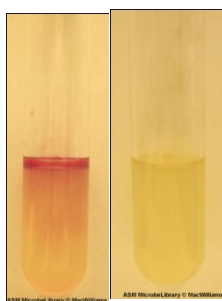
Organisme yang memfermentasi glukosa akan mengubah baik *slant* dan *butt* menjadi asam(kuning), tetapi protein pada permukaan agar akan terdegradasi sehingga slant akan menjadi alkali (merah). Organisme yang memfermentasi laktosa dan atau sukrosa seluruh media berwarna kuning. Organisme yang mereduksi sulfur tampak warna hitam karena hidrogen sulfida produksi bakteri bereaksi dengan besi membentuk ferosulfida. Reduksi sulfur memerlukan lingkungan asam sehingga jika tampak hitam berarti terjadi fermentasi. Jika terdapat gas oleh karena proses fermentasi maka akan terlihat retakan pada media atau slant terangkat dari dasar tabung.¹³⁵ Hasil uji TSIA sesuai pada Gambar 16.



Gambar 16. Hasil uji TSIA.¹³⁶⁻¹³⁸

3.4. Uji indol

Uji indol digunakan untuk mengidentifikasi bakteri berdasarkan kemampuan untuk memecah asam amino triptofan dan memproduksi indol. Indol yang dihasilkan akan bereaksi dengan aldehyd pada keadaan asam sehingga menghasilkan warna merah. Hasil positif ditunjukkan jika tampak lapisan cincin berwarna merah. Uji indol dapat membedakan *E. coli* dengan famili *Enterobacteriaceae* lainnya.¹³⁹ Hasil uji indol sesuai pada Gambar 17.



Gambar 17. Hasil uji indol.¹³⁹

3.5. Uji Metil Red (MR)

Uji MR digunakan untuk menguji bakteri yang menghasilkan dan mempertahankan keasaman hasil dari fermentasi glukosa. Indikator pH *methyl red* menunjukkan warna merah pada pH kurang dari sama dengan 4,4. Hasil uji MR positif jika terbentuk warna merah pada media. Hasil uji MR sesuai pada Gambar 18.¹⁴⁰



Gambar 18. Hasil uji MR.¹⁴⁰

3.6. Uji voges proskauer

Uji voges proskauer mengidentifikasi bakteri yang memfermentasi gula melalui jalur butanediol dengan hasil perantara asetoin yang dapat direduksi menjadi butilen glikol. Hasil positif uji vogesproskauer jika tampak warna merah.¹⁴⁰ Hasil uji voges proskauer sesuai pada Gambar 19.



Gambar 19. Hasil uji voges proskauer.¹⁴⁰

3.7. Uji sitrat

Uji sitrat digunakan untuk mengidentifikasi bakteri yang menggunakan sitrat sebagai sumber energi. Hasil produksi penggunaan sodium sitrat dan garam amonium akan menghasilkan pH yang alkali sehingga dapat merubah warna media dari hijau menjadi biru (*bromthymol blue* sebagai pH indikator). Warna biru menunjukkan hasil yang positif.¹⁴¹ Hasil uji sitrat sesuai pada Gambar 20.



Gambar 20. Hasil uji sitrat.¹⁴¹

3.8. Uji motilitas

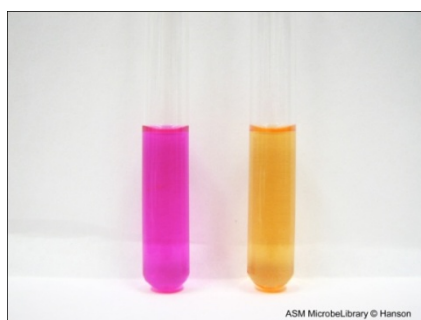
Uji motilitas digunakan untuk mengetahui kemampuan motilitas bakteri. Bakteri diinokulasikan ke medium dengan menggunakan jarum/ kawat. Bakteri yang motil akan berdifusi keluar dari garis inokulasi menimbulkan gambaran keruh disekitar garis inokulasi. Bakteri nonmotil terlihat tumbuh hanya sepanjang garis inokulasi. Hasil yang positif menunjukkan adanya kekeruhan yang memanjang dari garis inokulasi.¹⁴² Hasil uji motilitas sesuai pada Gambar 21.



Gambar 21. Hasil uji motilitas.¹⁴²

3.9. Uji urease

Uji urease digunakan untuk mengidentifikasi bakteri yang menghidrolisis urea dan menghasilkan ammonia. Ammonia akan membentuk suasana alkali dan merubah warna indikator (*phenol red*). Hasil positif jika terbentuk warna merah.¹⁴³ Hasil uji urease sesuai pada Gambar 22.



Gambar 22. Hasil uji urease.¹⁴³