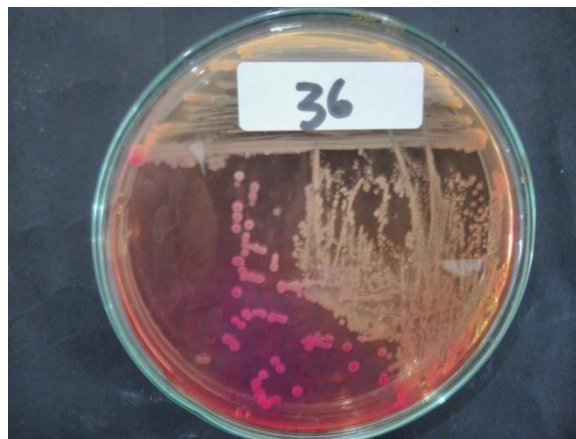


BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Isolasi Bakteri *Klebsiella sp.*

Berdasarkan hasil isolasi bakteri *Klebsiella sp.* dari spesimen sputum pasien pneumonia di RSUD Dr. Moewardi Surakarta dari 40 pasien penyakit pneumonia, yang di isolasi pada media *Mac Conkey agar*. Bakteri *Klebsiella sp.* dapat memproduksi lisin dekarboksilase dan hampir semua *Klebsiella sp.* dapat memfermentasikan laktosa. *Mac Conkey agar* termasuk media selektif dan diferensial. *Mac Conkey agar* sangat berguna untuk isolasi bakteri gram negatif khususnya bakteri enterik. Adanya kandungan garam empedu dan kristal violet akan menghalangi pertumbuhan Gram positif dan bakteri non- enterik. *Mac Conkey agar* mengandung laktosa dan mengandung *neutral red* yang merupakan indikator pH sehingga media *Mac Conkey agar* dapat digunakan untuk mengisolasi bakteri batang Gram negatif berdasarkan kemampuan bakteri memfermentasikan laktosa atau tidak, terutama untuk famili *Enterobacteriaceae* dan genus *Pseudomonas* (BDC, 2015). Hasil isolasi *Klebsiella sp.* pada media *Mac Conkey* terdapat bentuk dan warna yang berbeda- beda karena pada media *Mac Conkey* tidak hanya *Klebsiella sp.* yang dapat tumbuh, seperti yang dapat dilihat pada gambar 9.



Gambar 9. Koloni yang diduga bakteri *Klebsiella sp.* pada pertumbuhan media *Mac Conkey*

Hasil isolasi koloni bakteri *Klebsiella sp.* dari 40 sputum pasien pneumonia di RSUD Dr. Moewardi Surakarta, yang ditanam pada media *Mac Conkey agar* diduga positif *Klebsiella sp.* sejumlah 29. Hasil isolasi bakteri yang tidak bisa tumbuh koloni sampel no 24, 26, dan 28 pada media *Mac Conkey* merupakan bakteri yang tidak dapat memfermentasikan laktosa. Mikroorganisme yang terdapat dalam sputum penyebab pneumonia yaitu, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* (Alfaziri 2017) dengan melihat koloni pada pertumbuhan media *Mac Conkey agar* dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil isolasi bakteri *Klebsiella sp.* dari sputum pasien pneumonia

| No. Sampel | Bentuk koloni | Keterangan |
|------------|---|------------------------------|
| 1 | Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir | Diduga <i>Klebsiella sp.</i> |
| 2 | Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir | Diduga <i>Klebsiella sp.</i> |
| 3 | Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir | Diduga <i>Klebsiella sp.</i> |
| 4 | Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir | Diduga <i>Klebsiella sp.</i> |
| 5 | Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir | Diduga <i>Klebsiella sp.</i> |
| 6 | Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir | Diduga <i>Klebsiella sp.</i> |
| 7 | Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir | Diduga <i>Klebsiella sp.</i> |
| 8 | Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir | Diduga <i>Klebsiella sp.</i> |
| 9 | Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir | Diduga <i>Klebsiella sp.</i> |
| 10 | Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir | Diduga <i>Klebsiella sp.</i> |
| 11 | Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir | Diduga <i>Klebsiella sp.</i> |
| 12 | Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir | Diduga <i>Klebsiella sp.</i> |
| 13 | Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir | Diduga <i>Klebsiella sp.</i> |
| 14 | Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir | Diduga <i>Klebsiella sp.</i> |
| 15 | Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir | Diduga <i>Klebsiella sp.</i> |
| 16 | Koloni berwarna merah muda, tidak berlendir | Bukan <i>Klebsiella sp.</i> |
| 17 | Koloni berwarna putih, tidak berlendir | Bukan <i>Klebsiella sp.</i> |
| 18 | Koloni berwarna putih, tidak berlendir | Bukan <i>Klebsiella sp.</i> |
| 19 | Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir | Diduga <i>Klebsiella sp.</i> |
| 20 | Koloni berwarna putih, tidak berlendir | Bukan <i>Klebsiella sp.</i> |
| 21 | Koloni berwarna putih, tidak berlendir | Bukan <i>Klebsiella sp.</i> |
| 22 | Koloni berwarna putih, tidak berlendir | Bukan <i>Klebsiella sp.</i> |

| | | |
|----|---|------------------------------|
| 23 | Koloni berwarna putih, tidak berlendir | Bukan <i>Klebsiella sp.</i> |
| 24 | Tidak tumbuh koloni | Bukan <i>Klebsiella sp.</i> |
| 25 | Koloni berwarna putih, tidak berlendir | Bukan <i>Klebsiella sp.</i> |
| 26 | Tidak tumbuh koloni | Bukan <i>Klebsiella sp.</i> |
| 27 | Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir | Diduga <i>Klebsiella sp.</i> |
| 28 | Tidak tumbuh koloni | Bukan <i>Klebsiella sp.</i> |
| 29 | Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir | Diduga <i>Klebsiella sp.</i> |
| 30 | Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir | Diduga <i>Klebsiella sp.</i> |
| 31 | Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir | Diduga <i>Klebsiella sp.</i> |
| 32 | Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir | Diduga <i>Klebsiella sp.</i> |
| 33 | Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir | Diduga <i>Klebsiella sp.</i> |
| 34 | Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir | Diduga <i>Klebsiella sp.</i> |
| 35 | Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir | Diduga <i>Klebsiella sp.</i> |
| 36 | Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir | Diduga <i>Klebsiella sp.</i> |
| 37 | Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir | Diduga <i>Klebsiella sp.</i> |
| 38 | Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir | Diduga <i>Klebsiella sp.</i> |
| 39 | Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir | Diduga <i>Klebsiella sp.</i> |
| 40 | Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir | Diduga <i>Klebsiella sp.</i> |

B. Hasil identifikasi bakteri *Klebsiella sp.*

Berdasarkan hasil isolasi tabel 3, sampel sputum pasien penyakit pneumonia di RSUD Dr. Moewardi Surakarta dalam media *Mac Conkey agar* yang diduga dari 40 sampel sputum, positif *Klebsiella sp.* sejumlah 29 yang ditunjukkan dengan adanya koloni berwarna merah muda berlendir dan mukoid. Dilanjutkan penegasan identifikasi pewarnaan Gram, pengecatan kapsul, uji biokimia SIM, KIA, LIA, dan Citrat. Didapatkan dari 29 diduga positif *Klebsiella sp.* menjadi 26 positif *Klebsiella sp.* penelitian ini menunjukkan bakteri *Klebsiella sp.* paling banyak ditemukan pada spesimen sputum pasien pneumonia dan masih menjadi salah satu penyebab kematian tertinggi, memiliki *Case Fatality Rate* tertinggi serta berperan besar dalam morbiditas maupun mortalitas di negara berkembang (Misnadiarly, 2008). *Klebsiella sp.* bakteri patogen respiratori yang berkolonisasi di nasofaring, dapat menyerang orang dengan

sistem kekebalan tubuh yang buruk meliputi factor– faktor patogenisitas adhesins, siderophores, polisakarida kapsuler (cpls), lipopolisakarida permukaan sel (LPS). Virulensi utamanya adalah kapsul polisakarida . *Klebsiella sp.* tidak mampu bergerak karena tidak memiliki flagel tetapi mampu memfermentasikan karbohidrat membentuk asam dan gas. Hasil identifikasi dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil identifikasi bakteri *Klebsiella sp.* hasil isolat sputum pasien pneumonia

| No Sampel | Pewarnaan Gram | Pewarnaan Kapsul | Uji SIM | Uji KIA | Uji LIA | Uji Citrat | Kesimpulan |
|-----------|-----------------------------|-----------------------------|---------|-------------------|-------------------|------------|-----------------------|
| 1 | Bentuk basil berwarna merah | Kapsul transparan, sel ungu | --- | A/A ^{G+} | K/K ^{S-} | Biru | <i>Klebsiella sp.</i> |
| 2 | Bentuk basil berwarna merah | Kapsul transparan, Sel ungu | --- | A/A ^{G+} | K/K ^{S-} | Biru | <i>Klebsiella sp.</i> |
| 3 | Bentuk basil berwarna merah | Kapsul transparan, sel ungu | --- | A/A ^{G+} | K/K ^{S-} | Biru | <i>Klebsiella sp.</i> |
| 4 | Bentuk basil berwarna merah | Kapsul transparan, sel ungu | --- | A/A ^{G+} | K/K ^{S-} | Biru | <i>Klebsiella sp.</i> |
| 5 | Bentuk basil berwarna merah | Kapsul transparan, sel ungu | --- | A/A ^{G+} | K/K ^{S-} | Biru | <i>Klebsiella sp.</i> |
| 6 | Bentuk basil berwarna merah | Kapsul transparan, sel ungu | --- | A/A ^{G+} | K/K ^{S-} | Biru | <i>Klebsiella sp.</i> |
| 7 | Bentuk basil berwarna merah | Kapsul transparan, sel ungu | --- | A/A ^{G+} | K/K ^{S-} | Biru | <i>Klebsiella sp.</i> |
| 8 | Bentuk basil berwarna merah | Kapsul transparan, sel ungu | --- | A/A ^{G+} | K/K ^{S-} | Biru | <i>Klebsiella sp.</i> |
| 9 | Bentuk basil berwarna merah | Kapsul transparan, sel ungu | --- | A/A ^{G+} | K/K ^{S-} | Biru | <i>Klebsiella sp.</i> |
| 10 | Bentuk basil berwarna merah | Kapsul transparan, sel ungu | --- | A/A ^{G+} | K/K ^{S-} | Biru | <i>Klebsiella sp.</i> |
| 11 | Bentuk basil berwarna merah | Kapsul transparan, sel ungu | --- | A/A ^{G+} | K/K ^{S-} | Biru | <i>Klebsiella sp.</i> |
| 12 | Bentuk basil berwarna merah | Kapsul transparan, sel ungu | --- | A/A ^{G+} | K/K ^{S-} | Biru | <i>Klebsiella sp.</i> |
| 13 | Bentuk basil berwarna merah | Kapsul transparan, sel ungu | --- | A/A ^{G+} | K/K ^{S-} | Biru | <i>Klebsiella sp.</i> |

| | | | | | | | |
|----|----------------------------------|-----------------------------|-----|-------------------|-------------------|-------|-----------------------------|
| 14 | Bentuk basil berwarna merah | Kapsul transparan, sel ungu | --- | A/A ^{G+} | K/K ^{S-} | Biru | <i>Klebsiella sp.</i> |
| 15 | Bentuk basil berwarna merah | Kapsul transparan, sel ungu | --- | A/A ^{G+} | K/K ^{S-} | Biru | <i>Klebsiella sp.</i> |
| 16 | Bentuk basil berwarna merah | Tidak ada kapsul | --- | K/K ^{G-} | K/K ^{S-} | Biru | Bukan <i>Klebsiella sp.</i> |
| 17 | Bentuk basil berwarna merah | Tidak ada kapsul | --- | K/K ^{G-} | K/K ^{S-} | Biru | Bukan <i>Klebsiella sp.</i> |
| 18 | Bentuk basil berwarna merah | Tidak ada kapsul | --- | K/K ^{G-} | K/K ^{S-} | Biru | Bukan <i>Klebsiella sp.</i> |
| 19 | Bentuk basil berwarna merah | Kapsul transparan, sel ungu | --- | A/A ^{G-} | K/K ^{S-} | Biru | <i>Klebsiella sp.</i> |
| 20 | Bentuk basil berwarna merah | Tidak ada kapsul | --- | K/K ^{G-} | K/K ^{S-} | Biru | Bukan <i>Klebsiella sp.</i> |
| 21 | Bentuk basil berwarna merah | Tidak ada kapsul | --- | K/K ^{G-} | K/K ^{S-} | Biru | Bukan <i>Klebsiella sp.</i> |
| 22 | Bentuk basil berwarna merah | Tidak ada kapsul | --- | K/K ^{G-} | K/K ^{S-} | Biru | Bukan <i>Klebsiella sp.</i> |
| 23 | Bentuk basil berwarna merah | Tidak ada kapsul | --- | K/K ^{G-} | K/K ^{S-} | Biru | Bukan <i>Klebsiella sp.</i> |
| 24 | Tidak dilanjutkan identifikasi** | | | | | | |
| 25 | Bentuk basil berwarna merah | Tidak ada kapsul | --- | K/K ^{G-} | K/K ^{S-} | Biru | Bukan <i>Klebsiella sp.</i> |
| 26 | Tidak dilanjutkan identifikasi** | | | | | | |
| 27 | Bentuk basil berwarna merah | Kapsul transparan, sel ungu | --- | K/A ^{G-} | K/K ^{S-} | Biru | Bukan <i>Klebsiella sp.</i> |
| 28 | Tidak dilanjutkan identifikasi** | | | | | | |
| 29 | Bentuk basil berwarna merah | Kapsul transparan, sel ungu | --- | K/A ^{G-} | K/K ^{S-} | Hijau | Bukan <i>Klebsiella sp.</i> |
| 30 | Bentuk basil berwarna merah | Kapsul transparan, sel ungu | --- | K/A ^{G-} | K/K ^{S-} | Hijau | Bukan <i>Klebsiella sp.</i> |
| 31 | Bentuk basil berwarna merah | Kapsul transparan, sel ungu | --- | A/A ^{G+} | K/K ^{S-} | Biru | <i>Klebsiella sp.</i> |
| 32 | Bentuk basil berwarna merah | Kapsul transparan, sel ungu | --- | A/A ^{G+} | K/K ^{S-} | Biru | <i>Klebsiella sp.</i> |
| 33 | Bentuk basil berwarna merah | Kapsul transparan, sel ungu | --- | A/A ^{G+} | K/K ^{S-} | Biru | <i>Klebsiella sp.</i> |
| 34 | Bentuk basil berwarna merah | Kapsul transparan, sel ungu | --- | A/A ^{G+} | K/K ^{S-} | Biru | <i>Klebsiella sp.</i> |
| 35 | Bentuk basil berwarna merah | Kapsul transparan, sel ungu | --- | A/A ^{G-} | K/K ^{S-} | Biru | <i>Klebsiella sp.</i> |

| | | | | | | | |
|----|-----------------------------|-----------------------------|-----|-------------------|-------------------|------|-----------------------|
| 36 | Bentuk basil berwarna merah | Kapsul transparan, sel ungu | --- | A/A ^{G+} | K/K ^{S-} | Biru | <i>Klebsiella sp.</i> |
| 37 | Bentuk basil berwarna merah | Kapsul transparan, sel ungu | --- | A/A ^{G+} | K/K ^{S-} | Biru | <i>Klebsiella sp.</i> |
| 38 | Bentuk basil berwarna merah | Kapsul transparan, sel ungu | --- | A/A ^{G+} | K/K ^{S-} | Biru | <i>Klebsiella sp.</i> |
| 39 | Bentuk basil berwarna merah | Kapsul transparan, sel ungu | --- | A/A ^{G+} | K/K ^{S-} | Biru | <i>Klebsiella sp.</i> |
| 40 | Bentuk basil berwarna merah | Kapsul transparan, sel ungu | --- | A/A ^{G+} | K/K ^{S-} | Biru | <i>Klebsiella sp.</i> |

Keterangan :

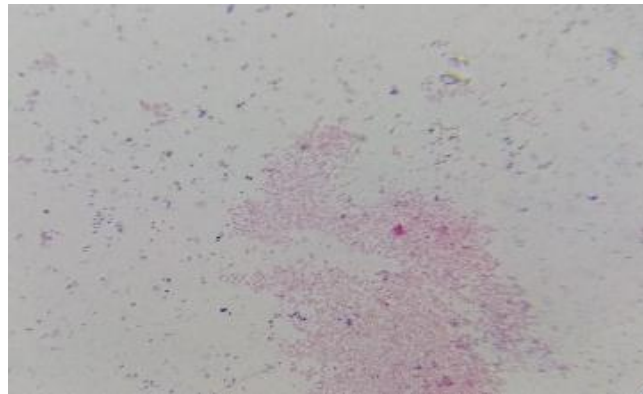
SIM : Sulfida Indol Agar
KIA : Kligler's Iron Agar
LIA : Lysine Iron Agar
****** : Tidak tumbuh koloni

K : Alkali (merah atau ungu)
A : Acid (kuning)
G : Gas
S : Sulfida
(-) : reaksi negatif
(+) : reaksi positif

Kesulitan yang terjadi dalam mengisolasi dan identifikasi *Klebsiella sp.* dari sputum pasien pneumonia adalah sputum yang dikumpulkan telah tercemar dengan bakteri lain yang menyebabkan kontaminasi bakteri lain, pot sputum tidak steril, sampel sputum terkena sinar matahari langsung dalam waktu yang lama, sputum tidak disimpan pada tempat yang dingin (4⁰ C - 8⁰ C) . Cara pengendalian agar sputum tetap dalam keadaan segar yaitu di taruh dalam wadah yang memiliki suhu sekitar 4⁰ C - 8⁰ C. Sputum pasien pneumonia terdapat juga bakteri *Staphylococcus aureus.*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Streptococcus sp.*

Hasil pewarnaan Gram bakteri *Klebsiella sp.* dari isolat sputum pasien pneumonia adalah bakteri berwarna merah, berbentuk batang pendek terlihat pada mikroskop pada perbesaran 100x. Pada tahap pewarnaan Gram, kompleks kristal violet- iodine yang bersifat insoluble akan terbentuk setelah penambahan alkohol, kompleks kristal ini akan terekstraksi pada bakteri Gram- negatif namun tidak pada Gram- positif. Hal ini terjadi karena Gram positif hanya terdiri dari satu lapisan tebal yang tersusun dari satu jenis molekul saja, sehingga ketika di dehidrasi dengan alkohol pori dinding sel akan menutup dan menjaga kompleks kristal violet- iodine tetap di dalam sel. Dinding sel Gram positif 90%

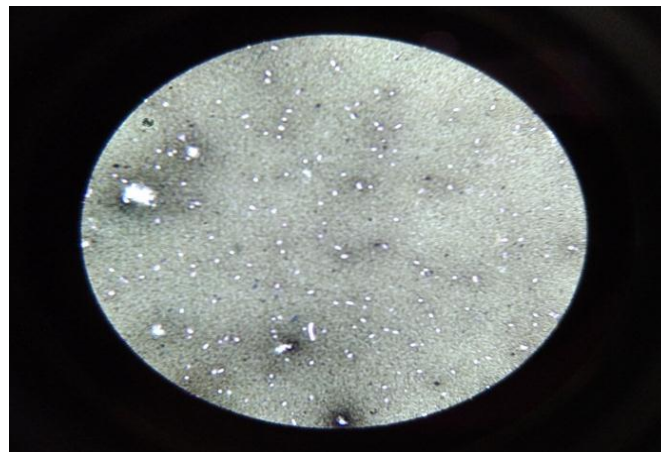
merupakan peptidoglikan. Sementara itu untuk Gram- negatif, alkohol dengan mudah memasuki membran luar yang didominasi lipid dan mengekstraksi kompleks kristal. Setelah dekolorisasi dengan alkohol, bakteri Gram negatif akan terlihat bening. karena nya perlu dilakukan pewarnaan kembali dengan safranin. Dinding sel bakteri Gram- negatif yang tersusun atas peptidoglikan sisanya merupakan polisakarida, lipid, dan protein yang menyusun membran luar. membran luar bakteri Gram negatif disebut sebagai lapisan lipopolisakarida (LPS).



Gambar 10. Hasil identifikasi pewarnaan Gram sampel no. 36 dari isolat sputum pasien pneumonia di RSUD Dr. Moewardi perbesaran 100x

Hasil pewarnaan kapsul bakteri *Klebsiella sp.* terlihat sebagai bulatan-bulatan terang dengan latar belakang berwarna gelap, sedangkan badan kuman berwarna merah. Kapsul bakteri mudah ditembus oleh zat warna, tetapi sukar mengikat zat warna. Kapsul bakteri tidak terwarnai dengan cara- cara biasa, pada pewarnaan Gram hanya kadang- kadang terlihat sebagai “halo” di sekitar bakteri. Oleh karena itu, pewarnaan khusus dilakukan untuk melihat kapsul antara lain pewarnaan negatif. Pewarnaan kapsul dapat dilakukan dengan teknik Gins-Burri yaitu suatu kombinasi pewarnaan negatif dengan pewarnaan sederhana , misalnya karbol fukhsin.

Tinta cina merupakan larutan yang mempunyai kromofor yang bermuatan negatif (memiliki anion) sedangkan muatan yang berada di sekeliling bakteri (kapsul) juga bermuatan negatif (memiliki anion), sehingga terjadi tolak-menolak antara kedua ion tersebut. Terbentuknya warna transparan dikarenakan sel bakteri tidak mampu menyerap warna. Sementara itu kristal violet merupakan larutan yang mempunyai kromofor atau butir pembawa warna yang bermuatan positif (kation) sedangkan kapsul bermuatan negatif (memiliki anion) sehingga terjadi adanya tarik menarik antara kedua ion tersebut. Hal ini menyebabkan bakteri berwarna ungu.



Gambar 11. Hasil uji pengecatan kapsul bakteri *Klebsiella sp.* Sampel no. 36 dari isolat sputum pasien pneumonia di RSUD Dr. Moewardi surakarta

Hasil uji biokimia pada bakteri *Klebsiella sp.* dapat ditunjukkan secara spesifik melalui medium seperti SIM, KIA, LIA, dan Sitrat. Bakteri *Klebsiella sp.* ditanam pada media SIM dengan cara ditusuk dengan hasil disimbolkan - - -, dimana uji sulfida negatif media tidak berwarna hitam. Uji indol negatif tidak memberikan warna merah setelah ditetaskan reagen Erlich A dan Erlich B. Dasar pemeriksaan tes indol adalah triptofan diuraikan dengan melepaskan gugus indol yang meninggalkan lapisan (cincin) berwarna merah dengan reagen Kovac. Uji Motilitas negatif ditandai hanya tumbuh pada garis inokulum. Media SIM digunakan untuk membedakan basil enterik berdasarkan pembentukan sulfida, pembentukan indol, dan motilitas bakteri (BDC 2014).

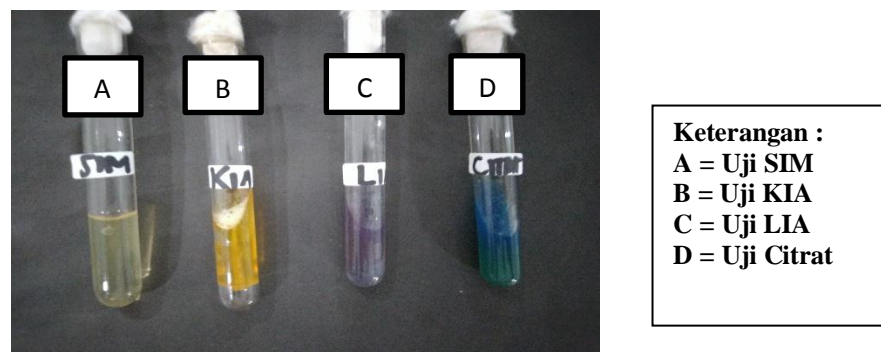
Hasil uji biokimia pada media KIA terhadap *Klebsiella sp.* disimbolkan dengan A/AG⁽⁺⁾ yang dimana bahwa bakteri *Klebsiella sp.* dapat memfermentasikan karbohidrat glukosa dan laktosa yang ditandai dengan perubahan warna media dari warna merah (warna asli) menjadi warna kuning dan dapat memproduksi gas. KIA merupakan media diferensial yang digunakan untuk identifikasi bakteri khususnya basil- enterik dengan menggunakan prinsip fermentasi karbohidrat dan produksi H₂S. Gas dari hasil fermentasi karbohidrat juga dapat dideteksi pada medium ini. Karbohidrat difermentasi dengan atau tanpa produksi gas, pH akan turun yang kemudian mengakibatkan medium akan berubah warna dari merah menjadi kuning. Organisme yang tidak memfermentasikan karbohidrat memproduksi alkalisasi karena pengeluaran amin dari degenerasi asam amino.

Reaksi pada KIA oleh *Klebsiella sp.* yaitu asam/asam, dapat terdeteksi gas, dan tidak dihasilkan H₂S bakteri ini dengan cepat memetabolisme glukosa, menghasilkan asam pada bagian *slant* (agar miring) dan asam pada bagian *butt* (agar pangkal) dalam beberapa jam. Pada bagian *slant*, piruvat kemudian dimetabolisme menjadi CO₂, H₂O, dan energi. Setelah inkubasi lebih lanjut, glukosa dikonsumsi, dan kemudian bakteri menggunakan laktosa dan/ atau sukrosa menyebabkan *slant* menjadi asam. Produksi gas (CO₂ dan O₂) terlihat sebagai celah dalam medium, gelembung, atau bagian *slant* didorong keluar dari tabung.

Hasil uji biokimia media LIA terhadap *Klebsiella sp.* disimbolkan dengan K/KS⁽⁻⁾, menggunakan metode tusuk dan gores. Warna ungu pada bagian lereng ditulis K, warna ungu pada bagian dasar ditulis K, dan tidak dapat memproduksi H₂S (sulfida) ditulis S-. Dekstrosa yang terdapat pada LIA berfungsi sebagai sumber fermentasi karbohidrat. Lysin adalah substrat yang digunakan dalam mendeteksi enzim, lysin dekarboksilase dan deaminase. Basil enterik yang menghasilkan lysin dekarboksilase menghasilkan warna alkali (warna ungu).

Hasil uji biokimia Sitrat terhadap *Klebsiella sp.* positif (+) berwarna biru dari warna hijau (warna asli) menandakan bahwa *Klebsiella sp.* dapat memproduksi sitrat. Media sitrat dilakukan untuk mengetahui kemampuan

organisme menggunakan sitrat sebagai sumber dasar karbon untuk pertumbuhan dan garam ammonium sebagai sumber nitrogen. Dasar pemeriksaan adalah pertumbuhan pada medium sitrat menghasilkan keadaan alkalis dan indikatornya berubah dari hijau menjadi biru. Hampir semua *Klebsiella sp.* memberikan reaksi positif terhadap penggunaan sitrat.



Gambar 12. Hasil uji biokimia *Klebsiella sp.* Sampel no. 31 dari isolat sputum pasien pneumonia di RSUD Dr. Moewardi Surakarta

C. Hasil uji pola sensitivitas

Uji sensitivitas adalah mengukur kemampuan suatu zat antimikroba dalam melawan bakteri secara *in vitro*, pengujian tersebut dapat dilakukan dengan metode dilusi dan difusi cakram modifikasi Kirby- Bauer. Hasil uji sensitivitas metode difusi menggunakan cakram disk antibiotik, efek yang diekspresikan adalah terbentuknya zona hambat atau zona bening. Pertumbuhan mikroorganisme uji dibandingkan diameternya dengan standar zona hambatan berdasarkan pedoman CLSI 2017 (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) untuk melihat tingkat sensitivitasnya. Pola sensitivitas antibiotik digolongkan menjadi *resistant*, *intermediate*, *moderately susceptible*, dan *susceptible*. Dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Zona diameter interpretif standard(mm)

| Antimicrobial Agents | Disc Content | Diameter zona hambat (mm) | | | |
|----------------------|--------------|---------------------------|------------------|-----------------------------|-----------------|
| | | Resistant (R) | Intermediate (I) | Moderately Susceptible (MS) | Susceptible (S) |

| | | | | | |
|----------------|------|-----|-------|---|-----|
| Siprofloksasin | 5µg | ≤15 | 16-20 | - | ≥21 |
| Azitromicin | 15µg | ≤12 | - | - | ≥13 |
| Imipenem | 10µg | ≤19 | 20-22 | - | ≥23 |
| Gentamisin | 10µg | ≤12 | 13-14 | - | ≥15 |

Sumber : CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) 2017

Hasil uji pola sensitivitas antibiotik siprofloksasin, azitromisin, imipenem, dan gentamisin terhadap bakteri *Klebsiella sp.* dari isolat sputum pasien pneumonia di RSUD Dr. Moewardi surakarta dan tingkat sensitivitas dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil uji sensitivitas antibiotik Siprofloksasin, Azitromicin, gentamisin, dan imipenem terhadap bakteri *Klebsiella sp.*

| No. sampel | Diameter zona hambat (mm) | | | | | | | | | | | |
|------------|---------------------------|-------|-----|-------------|-------|-----|-------------|-------|-----|-------------|-------|-----|
| | Sip | | | Azm | | | Imp | | | Gm | | |
| | Rata - rata | SD | P S | Rata - rata | SD | P S | Rata - rata | SD | P S | Rata - rata | SD | P S |
| 1 | 23,5 | ± 0,6 | S | 17,9 | ± 0,7 | S | 23,8 | ± 0,1 | S | 16,1 | ± 0,9 | S |
| 2 | 21,7 | ± 0,3 | S | 16,8 | ± 0,3 | S | 23,2 | ± 0,6 | S | 15,9 | ± 1,0 | S |
| 3 | 21,5 | ± 0,6 | S | 16,0 | ± 0,9 | S | 23,8 | ± 0,4 | S | 15,6 | ± 1,8 | S |
| 4 | 23,1 | ± 0,3 | S | 11,5 | ± 0,5 | R | 23,9 | ± 0,9 | S | 16,3 | ± 0,5 | S |
| 5 | 21,2 | ± 0,3 | S | 11,5 | ± 0,6 | R | 23,4 | ± 0,5 | S | 17,1 | ± 1,0 | S |
| 6 | 22,2 | ± 0,5 | S | 12,3 | ± 0,6 | R | 24,5 | ± 0,5 | S | 13,8 | ± 0,6 | I |
| 7 | 16,7 | ± 1,2 | I | 12,0 | ± 0,4 | R | 23,8 | ± 0,7 | S | 14,2 | ± 0,5 | I |
| 8 | 22,2 | ± 0,3 | S | 11,6 | ± 0,9 | R | 17,7 | ± 0,6 | R | 15,5 | ± 0,8 | S |
| 9 | 21,4 | ± 0,2 | S | 14,6 | ± 1,0 | S | 23,7 | ± 0,8 | S | 14,4 | ± 0,3 | I |
| 10 | 17,8 | ± 0,8 | I | 11,1 | ± 0,2 | R | 23,6 | ± 0,6 | S | 14,5 | ± 0,4 | I |
| 11 | 21,3 | ± 0,2 | S | 11,7 | ± 0,6 | R | 24,1 | ± 0,2 | S | 17,0 | ± 0,2 | S |
| 12 | 21,4 | ± 1,1 | S | 12,0 | ± 0,1 | R | 17,3 | ± 0,3 | R | 14,3 | ± 0,6 | I |
| 13 | 21,4 | ± 0,8 | S | 12,0 | ± 0,1 | R | 23,5 | ± 0,5 | S | 16,6 | ± 0,5 | S |
| 14 | 21,5 | ± 0,2 | S | 14,7 | ± 0,5 | S | 17,8 | ± 0,6 | R | 14,3 | ± 0,6 | I |
| 15 | 21,2 | ± 0,7 | S | 11,6 | ± 0,6 | R | 22,7 | ± 0,6 | I | 14,6 | ± 0,6 | I |
| 19 | 22,6 | ± 0,3 | S | 14,0 | ± 0,1 | S | 23,1 | ± 0,2 | S | 17,1 | ± 0,1 | S |
| 31 | 22,4 | ± 0,7 | S | 11,2 | ± 0,2 | R | 19,1 | ± 0,2 | R | 14,0 | ± 0,1 | I |
| 32 | 21,8 | ± 0,7 | S | 12,2 | ± 0,3 | R | 24,0 | ± 0,1 | S | 14,0 | ± 0,3 | I |
| 33 | 22,7 | ± 0,4 | S | 12,4 | ± 0,6 | R | 23,5 | ± 1,0 | S | 15,6 | ± 0,6 | S |

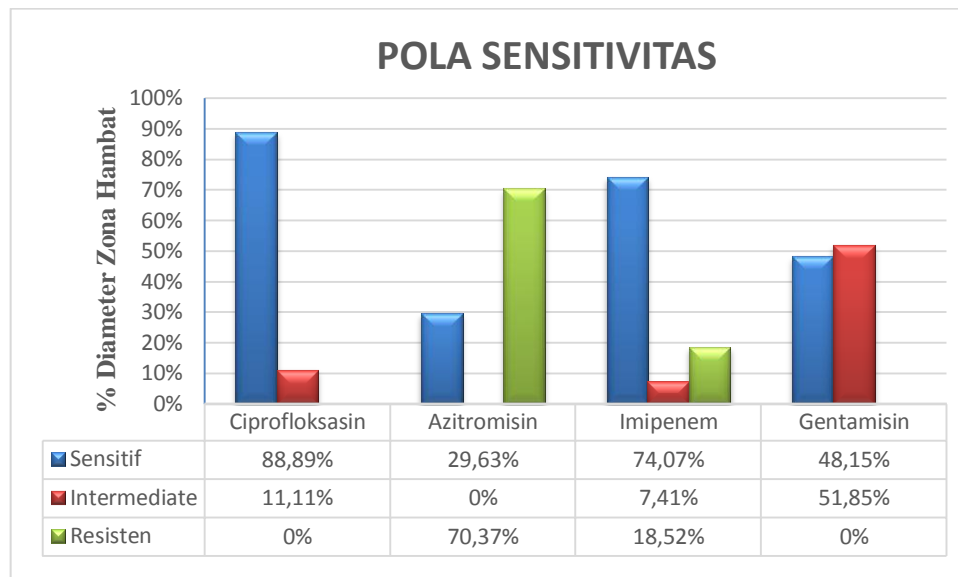
| | | | | | | | | | | | | |
|------------------------------------|------|-------|---|------|-------|---|------|-------|---|------|-------|---|
| 34 | 20,1 | ± 0,1 | I | 12,5 | ± 0,5 | R | 20,5 | ± 1,3 | I | 14,1 | ± 0,1 | I |
| 35 | 21,8 | ± 0,8 | S | 11,6 | ± 0,8 | R | 24,4 | ± 0,5 | S | 14,7 | ± 0,5 | I |
| 36 | 23,2 | ± 0,3 | S | 14,6 | ± 0,6 | S | 23,7 | ± 0,3 | S | 13,8 | ± 0,7 | I |
| 37 | 22,8 | ± 0,3 | S | 12,4 | ± 0,7 | R | 24,6 | ± 0,5 | S | 15,7 | ± 0,8 | S |
| 38 | 22,1 | ± 0,3 | S | 12,3 | ± 0,6 | R | 19,0 | ± 1,1 | R | 13,9 | ± 0,9 | I |
| 39 | 21,3 | ± 0,4 | S | 12,4 | ± 0,5 | R | 24,0 | ± 0,1 | S | 14,2 | ± 0,3 | I |
| 40 | 21,7 | ± 0,3 | S | 12,6 | ± 0,6 | R | 24,1 | ± 0,8 | S | 15,8 | ± 0,9 | S |
| <i>Klebsiella</i> ATCC 10031 | 21,2 | ± 0,3 | S | 14,6 | ± 0,6 | S | 23,6 | ± 0,4 | S | 16,4 | ± 0,4 | S |

Keterangan :

| | | | |
|------------|--------------------------|-----------|----------------------------|
| Sip | : Sipprofloksasin | SD | : Standar deviasi |
| Azm | : Azitromisin | PS | : Pola sensitivitas |
| Imp | : Imipenem | S | : Sensitif |
| Gm | : Gentamisin | R | : Resisten |
| | | I | : Intermediate |

Pola sensitivitas antibiotik sipprofloksasin, azitromisin, imipenem, dan gentamisin terhadap bakteri *Klebsiella sp.* dari sputum pasien pneumonia di RSUD Dr. Moewardi dan *Klebsiella pneumonia* ATCC 10031 dibandingkan tingkat sensitivitasnya berdasarkan pedoman CLSI 2017 untuk melihat perbedaan zona hambat yang terbentuk antara *Klebsiella sp.* dari sputum pasien pneumonia dengan *Klebsiella pneumonia* ATCC 10031. Tabel 6 menunjukkan bahwa rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk bervariasi dari keempat antibiotik sipprofloksasin, azitromisin, imipenem, dan gentamisin terhadap *Klebsiella sp.* dan *Klebsiella pneumonia* ATCC 10031. Dari data di atas dapat menunjukkan bahwa bakteri *Klebsiella sp.* dari sputum pasien pneumonia di RSUD Dr. Moewardi sudah memiliki perbedaan tingkat sensitivitas, dilihat dari perubahan resistensi bakteri *Klebsiella sp.* terhadap antibiotik sipprofloksasin, azitromisin, gentamisin, dan imipenem. Perubahan resistensi ini disebabkan karena pemakaian antibiotik di masyarakat luas tidak tepat dan pola penggunaan antibiotik di rumah sakit biasanya belum berdasarkan pada pola kuman dan sensitivitas dari antibiotik. Uji sensitivitas sangat diperlukan untuk mengendalikan tingkat pola resistensi

antibiotik yang digunakan dalam pengobatan di rumah sakit. Pola sensitivitas dapat dilihat pada gambar 13.



Gambar 13. Pola sensitivitas antibiotik siprofloksasin, azitromisin, gentamisin, dan imipenem terhadap *Klebsiella sp.*

Tabel 7. Prosentase pola sensitivitas antibiotik siprofloksasin, azitromisin, gentamisin, dan imipenem terhadap *Klebsiella sp.*

| Pola sensitivitas <i>Klebsiella sp.</i> terhadap antibiotik | | | | |
|---|----------------|-------------|----------|------------|
| | Siprofloksasin | Azitromisin | Imipenem | Gentamisin |
| Sensitif | 88,89% | 29,63% | 74,07% | 48,15% |
| Intermediate | 11,11% | 0% | 7,41% | 51,85% |
| Resisten | 0% | 70,37% | 18,52% | 0% |

Gambar 13. Menunjukkan bahwa siprofloksasin memiliki tingkat sensitivitas paling tinggi 88,89%, intermediate 11,11% azitromisin sensitif 29,63%, resisten 70,37% imipenem sensitif 74,07 %, intermediate 7,41 %, resisten 18,52% gentamisin sensitif 48,15%, intermediate 51,85%. Bahwa penggunaan siprofloksasin pada infeksi nosokomial akibat pneumonia di RSUD Dr. Moewardi Surakarta terhadap *Klebsiella sp.* masih sensitif. Karena itu penggunaan antibiotik siprofloksasin dikalangan masyarakat masih menjadi pilihan terapi utama (*first choice*) dalam pengobatan infeksi pneumonia dan

mengacu pada *guide line* terapi dan formularium yang digunakan di RSUD Dr. Moewardi surakarta. Menurut penelitian (Kusuma 2013) tingkat sensitivitas *Klebsiella sp.* terhadap siprofloksasin adalah 80%, penelitian (Alfarizi 2017) pola sensitivitas *Klebsiella sp.* penyebab pneumonia terhadap siprofloksasin 96%, menurut (Kardana 2011) siprofloksasin sensitif terhadap *Klebsiella sp.* 92,9%. Siprofloksasin merupakan antibiotik golongan fluorokuinolon generasi kedua memiliki aktivitas yang sangat baik terhadap bakteri Gram negatif yaitu *Klebsiella sp.* Mekanisme kerja siprofloksasin dengan menghambat enzim topoisomerase II (DNA *gyrase*) dan topoisomerase IV, yang diperlukan oleh bakteri dalam proses replikasi, transkripsi, perbaikan, dan rekombinasi DNA. Aktivitas inhibisi DNA *gyrase* dapat mencegah relaksasi DNA *supercoiled* positif yang diperlukan bakteri selama transkripsi dan replikasi secara normal, sementara aktivitas inhibisi topoisomerase IV dapat mengganggu pemisahan kromosom DNA pasca replikasi dalam sel- sel anak selama pembelahan sel (Katzung 2007).

Klebsiella sp. merupakan salah satu bakteri yang masuk kedalam kelompok *Extended spectrum β - lactamase* (ESBL) yang memiliki karakteristik yang mampu menghidrolisis penicillin, cephalosporin generasi I, II, III, aztreonem. *Klebsiella sp.* memiliki 2 struktur antigen yang membentuk kapsul yang besar, yaitu antigen K yang menutupi antigen O sehingga menyebabkan bakteri terlindung dari sistem kekebalan (antibodi) dari inangnya. Kapsul *Klebsiella sp.* dapat menjadi proteksi dari zat kimia yang masuk kedalam sel bakteri. Hasil penelitian yang sudah dilakukan saat ini azitromisin resisten terhadap bakteri *Klebsiella sp.* 70,37% dapat dikatakan bahwa penggunaan terapi antibiotik azitromisin masih belum efektif dalam pengobatan infeksi bakteri *Klebsiella sp.* penyebab pneumonia. Menurut penelitian (Sulistiyowati 2017) dilaporkan bahwa azitromisin telah mengalami resistensi terhadap *Klebsiella sp.* sebesar 85,7%. Mekanisme resistensi antibiotik azitromisin karena kegagalan antibiotik untuk berpenetrasi kedalam sel, afinitas obat rendah terhadap ribosom bakteri atau paling sering inaktivasi obat oleh enzim yang diperoleh dari transfer konjugatif plasmid yang resisten.

Pola sensitivitas antibiotik imipenem terhadap *Klebsiella sp.* masih dalam rentang sensitif 74,07% , masih efektif dalam pengobatan infeksi *Klebsiella sp.* penyebab pneumonia di masyarakat luas. Menurut penelitian (Nurmala *et al.*,2013) di RSUD dr. Soedarso pontianak prosentase tingkat sensitivitas imipenem terhadap *Klebsiella sp.* 78,1%. Mekanisme imipenem seperti antibiotik β - lactam lainnya terikat pada PBP (*Penicillin- binding- protein*) mengganggu sintesis dinding sel bakteri dan menyebabkan kematian pada mikroorganisme. Antibiotik gentamisin sensitif 48,15% dapat dikatakan bahwa gentamisin masih bisa digunakan dalam pengobatan infeksi *Klebsiella sp.* penyebab pneumonia di kalangan masyarakat. Gentamisin merupakan antibiotik golongan aminoglikosida, yang dapat masuk kedalam sel melalui porin pada membran luar bakteri Gram negatif. Setelah berada dalam sel, aminoglikosida terikat pada polisom dan mengganggu sintesis protein dengan cara menyebabkan salah pembacaan dan terminasi dini pada translasi mRNA. Protein menyimpang yang dihasilkan dapat menyisip kedalam membran sel, mengubah permeabilitas membran sehingga menstimulasi transport aminoglikosida (Goodman & Gilman 2011).

Penyebab utama resistensi antibiotik adalah penggunaan yang meluas dan irasional. Lebih dari separuh pasien dalam perawatan rumah sakit menerima antibiotik sebagai pengobatan ataupun profilaksis. Terdapat beberapa faktor yang mendukung terjadinya resistensi, antara lain penggunaan yang kurang tepat, faktor pasien, persepsian, penggunaan monoterapi, perilaku hidup sehat, penggunaan di rumah sakit, kurangnya penelitian dan kurangnya pengawasan (Utami 2011). Pemakaian antibiotik yang tidak teratur dan dosis yang kurang tepat akan memberikan derajat resistensi yang semakin meningkat terhadap berbagai antibiotik. Hal ini menyebabkan masalah, diantaranya meluasnya resistensi, timbulnya kejadian super infeksi yang sulit diobati, meningkatkan beban ekonomi pelayanan kesehatan, efek samping yang lebih toksik dan kematian.