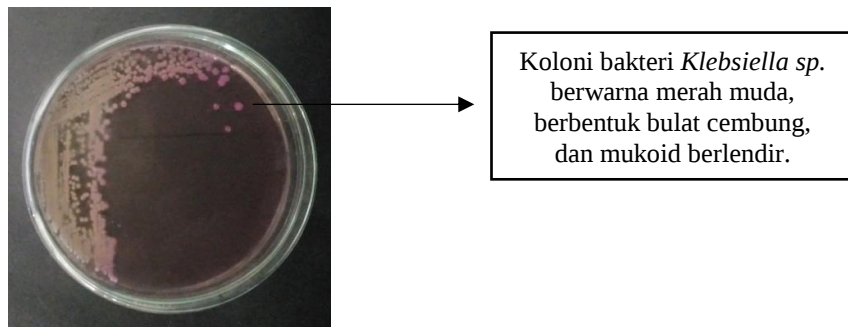


BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Isolasi Bakteri *Klebsiella sp.*

Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah sputum pasien terduga pneumonia di RSUD Dr. Moewardi yang terdapat bakteri *Klebsiella sp.* Bakteri ini diidentifikasi dengan pemeriksaan koloni pada media *MacConkey Agar* (MCA). Media MCA merupakan media selektif dan diferensial. Media MCA selektif untuk *Klebsiella sp.* karena garam empedu dan kristal violet pada bahan pembuatannya mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif. Media MCA diferensial untuk *Klebsiella sp.* karena mengandung substrat laktosa dan indikator pH *neutral red* yang berubah menjadi merah muda ketika laktosa dalam medium difermentasi (Goldman 2008; Brooks *et al.* 2013). Pemeriksaan koloni yang diduga bakteri *Klebsiella sp.* pada media MCA ditandai dengan koloni berwarna merah muda, berbentuk bulat cembung, dan mukoid berlendir. Hasil isolasi bakteri yang tidak mampu memfermentasikan laktosa pada media MCA biasanya menghasilkan koloni tidak berwarna (Cappuccino & Sherman 2013) karena bakteri yang tumbuh tidak hanya *Klebsiella sp.* Koloni diduga bakteri *Klebsiella sp.* pada media MCA dapat dilihat pada gambar 7.



Gambar 7. Koloni yang diduga bakteri *Klebsiella sp.* pada media *MacConkey Agar*

Hasil isolasi dari sampel sputum pada MCA yang menunjukkan koloni terduga bakteri *Klebsiella sp.* berjumlah 30 dari total 41 sampel. Konfirmasi untuk menyatakan bahwa koloni yang tumbuh tersebut benar koloni *Klebsiella sp.* dilakukan dengan mengambil koloni yang mengarah pada ciri-ciri bakteri *Klebsiella sp.* di media MCA guna dilakukan identifikasi meliputi pengamatan

mikroskopis dengan pewarnaan dan uji biokimia. Pemeriksaan koloni *Klebsiella* sp. pada media MCA dapat dilihat pada tabel 2 dan lampiran 2.

Tabel 2. Hasil isolasi bakteri *Klebsiella* sp. dari sputum pasien terduga pneumonia

No. Sampel	Bentuk Koloni	Keterangan
1	Koloni berwarna putih, tidak berlendir	Bukan <i>Klebsiella</i> sp.
2	Tidak tumbuh koloni	Bukan <i>Klebsiella</i> sp.
3	Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir	Diduga <i>Klebsiella</i> sp.
4	Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir	Diduga <i>Klebsiella</i> sp.
5	Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir	Diduga <i>Klebsiella</i> sp.
6	Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir	Diduga <i>Klebsiella</i> sp.
7	Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir	Diduga <i>Klebsiella</i> sp.
8	Tidak tumbuh koloni	Bukan <i>Klebsiella</i> sp.
9	Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir	Diduga <i>Klebsiella</i> sp.
10	Koloni berwarna putih, tidak berlendir	Bukan <i>Klebsiella</i> sp.
11	Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir	Diduga <i>Klebsiella</i> sp.
12	Koloni berwarna putih, tidak berlendir	Bukan <i>Klebsiella</i> sp.
13	Koloni berwarna putih, tidak berlendir	Bukan <i>Klebsiella</i> sp.
14	Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir	Diduga <i>Klebsiella</i> sp.
15	Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir	Diduga <i>Klebsiella</i> sp.
16	Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir	Diduga <i>Klebsiella</i> sp.
17	Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir	Diduga <i>Klebsiella</i> sp.
18	Koloni berwarna putih, tidak berlendir	Bukan <i>Klebsiella</i> sp.
19	Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir	Diduga <i>Klebsiella</i> sp.
20	Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir	Diduga <i>Klebsiella</i> sp.
21	Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir	Diduga <i>Klebsiella</i> sp.
22	Koloni berwarna putih, tidak berlendir	Bukan <i>Klebsiella</i> sp.
23	Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir	Diduga <i>Klebsiella</i> sp.
24	Koloni berwarna putih, tidak berlendir	Bukan <i>Klebsiella</i> sp.
25	Koloni berwarna putih, tidak berlendir	Bukan <i>Klebsiella</i> sp.
26	Koloni berwarna putih, tidak berlendir	Bukan <i>Klebsiella</i> sp.
27	Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir	Diduga <i>Klebsiella</i> sp.
28	Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir	Diduga <i>Klebsiella</i> sp.
29	Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir	Diduga <i>Klebsiella</i> sp.
30	Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir	Diduga <i>Klebsiella</i> sp.
31	Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir	Diduga <i>Klebsiella</i> sp.
32	Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir	Diduga <i>Klebsiella</i> sp.
33	Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir	Diduga <i>Klebsiella</i> sp.
34	Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir	Diduga <i>Klebsiella</i> sp.
35	Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir	Diduga <i>Klebsiella</i> sp.
36	Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir	Diduga <i>Klebsiella</i> sp.
37	Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir	Diduga <i>Klebsiella</i> sp.
38	Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir	Diduga <i>Klebsiella</i> sp.
39	Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir	Diduga <i>Klebsiella</i> sp.
40	Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir	Diduga <i>Klebsiella</i> sp.
41	Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir	Diduga <i>Klebsiella</i> sp.
K+	Koloni berwarna merah muda dan mukoid berlendir	<i>Klebsiella</i> sp.

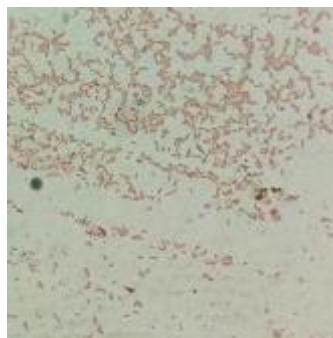
Pneumonia tidak hanya disebabkan oleh bakteri *Klebsiella* sp. saja, banyak juga bakteri lain yang berperan sebagai penyebab penyakit tersebut seperti *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* (Chisholm-Burns et al. 2016),

Staphylococcus aureus, *Acinetobacter baumannii*, *Mycoplasma pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli* (PDPI 2014). Sputum pasien terduga pneumonia dengan jumlah total 41 sampel dari hasil pemeriksaan koloni menunjukkan 11 diantaranya tidak terdapat adanya bakteri *Klebsiella sp.* dimungkinkan karena mengandung bakteri lain yang menjadi penyebab pneumonia.

B. Hasil Identifikasi *Klebsiella sp.*

Pemeriksaan koloni bakteri *Klebsiella sp.* dari sampel sputum pasien terduga pneumonia di RSUD Dr. Moewardi pada media MCA menunjukkan 30 dari 41 sampel sputum positif mengandung bakteri *Klebsiella sp.* Hasil isolasi sampel sputum pada media MCA yang diduga terdapat pertumbuhan koloni bakteri *Klebsiella sp.* kemudian dilanjutkan dengan identifikasi bakteri meliputi pengamatan mikroskopis dengan pewarnaan dan uji biokimia.

Pewarnaan Gram untuk identifikasi bakteri *Klebsiella sp.* menunjukkan bahwa bakteri ini termasuk dalam Gram negatif berbentuk batang berwarna merah. Hasil pewarnaan Gram yang diambil dari koloni bakteri *Klebsiella sp.* pada media MCA melalui pengamatan dengan mikroskop perbesaran 1000x dapat dilihat pada gambar 8.



Gambar 8. Hasil uji pewarnaan Gram bakteri *Klebsiella sp.* dari sputum pasien terduga pneumonia di RSUD Dr. Moewardi

Teknik pewarnaan Gram didasarkan atas perbedaan struktur dinding sel bakteri Gram positif dan Gram negatif. Bakteri Gram negatif memiliki dinding sel yang mengandung tiga komponen yang terletak di luar lapisan peptidoglikan, yaitu lipoprotein, membran luar, dan lipopolisakarida (Brooks *et al.* 2012).

Pewarnaan Gram menggunakan 4 pereaksi yang berbeda yaitu pewarna primer (kristal violet), peluntur (iodin Gram), senyawa pemucat (alkohol-aseton), dan pewarna tandingan (safranin). Pewarnaan Gram dimulai dengan pemberian zat warna dasar, kristal violet. Larutan iodin diberikan selanjutnya, afinitas sel terhadap pewarna meningkat dengan cara berikatan dengan kristal violet sehingga membentuk suatu kompleks kristal violet-iodin yang tidak larut. Seluruh bakteri akan terwarnai ungu pada tahap ini dalam proses pewarnaan. Sel kemudian diberikan alkohol yang ditambahkan dengan aseton, sel Gram negatif akan hilang warnanya oleh alkohol-aseton. Hal ini dikarenakan alkohol-aseton meningkatkan porositas dinding sel dengan melarutkan lipid lapisan luar dan kompleks kristal violet-iodin keluar dari sel sehingga menyebabkan sel menjadi tidak berwarna. Zat warna safranin diberikan sehingga sel-sel Gram negatif yang tidak berwarna akan menyerap zat pewarna dan tampak menjadi merah (Brooks *et al.* 2012; Cappuccino & Sherman 2013).

Kapsul merupakan lapisan luar bergelatin yang disekresikan oleh sel dan yang mengelilingi serta menempel pada dinding sel. Kapsul tidak banyak dijumpai pada semua organisme. Sel-sel yang memiliki kapsul tebal biasanya bersifat virulen, sama halnya dengan *Klebsiella sp.* Kapsul ini dapat menyebabkan penyakit karena struktur kapsul melindungi bakteri dari aktivitas fagositik normal sel-sel inang. Kapsul yang dimiliki bakteri dapat diamati dengan menggunakan pewarnaan kapsul.

Pewarnaan kapsul metode Burry Gins untuk identifikasi bakteri *Klebsiella sp.* menunjukkan bahwa bakteri ini memiliki kapsul transparan dan sel berwarna ungu. Hasil pewarnaan kapsul yang diambil dari koloni bakteri *Klebsiella sp.* pada media MCA melalui pengamatan dengan mikroskop perbesaran 1000x dapat dilihat pada gambar 9.



Gambar 9. Hasil uji pewarnaan kapsul bakteri *Klebsiella sp.* dari sputum pasien terduga pneumonia di RSUD Dr. Moewardi

Pewarnaan kapsul menggunakan tinta cina memperlihatkan kapsul transparan dengan latar belakang gelap. Tinta cina termasuk zat warna asam, dengan kromogennya yang bermuatan negatif, tidak akan berpenetrasi ke dalam sel karena adanya muatan negatif pada permukaan bakteri sehingga dapat digunakan untuk mewarnai latar belakang dengan warna kontras. Hal tersebut menyebabkan kapsul bakteri terlihat transparan dengan latar belakang gelap di bawah pengamatan mikroskop. Kristal violet yang ditambahkan pada pewarnaan kapsul digunakan untuk memperjelas pengamatan sel bakteri di dalam kapsul.

Penerapan pewarnaan kapsul memiliki keuntungan yaitu fiksasi dengan pemanasan tidak dibutuhkan sehingga ukuran dan bentuk alami sel bakteri dapat terlihat. Preparat harus ditangani dengan hati-hati karena fiksasi panas tidak dilakukan selama proses pewarnaan, dengan kata lain organisme-organisme tersebut tidak mati. Bahan kapsul bersifat larut air dan dapat dilepaskan atau dihilangkan dengan pembilasan berlebih. Apusan tidak boleh dipanaskan karena penyusutan sel yang dihasilkan akan membentuk suatu zona jernih di sekitar organisme (artefak) yang dapat terlihat seperti kapsul (Cappuccino & Sherman 2013).

Identifikasi genus suatu biakan bakteri yang belum diketahui dilakukan dengan uji biokimia menggunakan media SIM, KIA, LIA, dan Sitrat. Hasil pengujian biokimia yang diambil dari koloni bakteri *Klebsiella sp.* pada media MCA dapat dilihat pada gambar 10.



Keterangan :
 S : Uji SIM
 K : Uji KIA
 L : Uji LIA
 C : Uji Citrat

Gambar 10. Hasil uji biokimia bakteri *Klebsiella sp.* dari sputum pasien pneumonia di RSUD Dr. Moewardi

Hasil uji biokimia bakteri *Klebsiella sp.* pada media SIM disimbolkan dengan - - -, artinya uji sulfida negatif yaitu media tidak berwarna hitam, uji indol negatif yaitu tidak terbentuk lereng warna merah setelah ditambah dengan reagen Erlich, dan uji motilitas negatif yaitu tidak terjadi pertumbuhan bakteri yang menyebar pada media. Media SIM digunakan untuk membedakan mikroorganisme enterik berdasarkan pada pembentukan sulfida, pembentukan indol, dan motilitas bakteri. Sodium tiosulfat dan ferro amonium sulfat adalah indikator dari pembentukan H_2S . Bakteri *Klebsiella sp.* tidak mampu mereduksi sodium tiosulfat sehingga tidak menyebabkan perubahan warna menjadi hitam. Bakteri *Klebsiella sp.* tidak memiliki enzim triptofanase sehingga tidak mampu menghasilkan indol dari triptofan. Bakteri ini tidak membentuk warna merah setelah penambahan reagen Erlich yang berisi benzaldehid. Bakteri *Klebsiella sp.* tidak memiliki flagel sehingga tidak mampu bergerak. Deteksi motilitas bakteri ini pada media yang bersifat semipadat tidak menunjukkan pertumbuhan yang menyebar keluar dari garis tusukan sentral sehingga dapat disimpulkan bahwa organisme uji tidak dapat melakukan pergerakan yang meluas (Goldman 2008; Brooks *et al.* 2013).

Uji biokimia bakteri *Klebsiella sp.* pada media KIA didapatkan hasil A/AG $S^{(-)}$, yaitu bagian lereng dan dasar akan berwarna kuning dituliskan dengan simbol A/A, hal ini menunjukkan bahwa bakteri ini mampu memfermentasikan karbohidrat; media terangkat ke atas dituliskan dengan simbol G; dan sulfida negatif yang ditandai dengan tidak terbentuknya warna hitam pada media dituliskan dengan simbol $S^{(-)}$. Media KIA mengandung 2 macam karbohidrat yang memungkinkan diferensiasi spesies basil enterik. Bakteri *Klebsiella sp.* mampu

membentuk asam selama fermentasi glukosa dan laktosa sehingga menyebabkan perubahan warna indikator *phenol red* menjadi kuning. Hal ini membuat media tampak berwarna kuning pada bagian dasar dan lereng. Produksi gas oleh bakteri *Klebsiella sp.* terdeteksi sebagai gelembung tunggal atau dengan membelah atau perpindahan dari agar-agar (Goldman 2008; Brooks *et al.* 2013). Bakteri *Klebsiella sp.* tidak mampu mereduksi sodium tiosulfat sehingga tidak menyebabkan perubahan warna menjadi hitam (Harti 2015).

Hasil uji biokimia bakteri *Klebsiella sp.* pada media LIA disimbolkan dengan K/K S⁽⁻⁾, yaitu lereng akan berwarna ungu ditulis K, dasar berwarna ungu ditulis K, dan tidak terbentuknya warna hitam pada media ditulis S⁽⁻⁾. Kandungan glukosa pada media LIA berfungsi sebagai sumber fermentasi karbohidrat. Lysin adalah substrat yang digunakan dalam mendeteksi enzim, yaitu lisin dekarboksilase dan deaminase. Basil enterik yang menghasilkan lisin dekarboksilase sehingga indikator *bromocresol purple* menimbulkan reaksi alkali (warna ungu) atau reaksi netral pada dasar media (Goldman 2008; Brooks *et al.* 2013). Bakteri *Klebsiella sp.* tidak mampu melakukan deaminasi lisin tetapi mampu melakukan dekarboksilasi lisin. Bakteri ini mampu melakukan dekarboksilasi lisin karena menghasilkan senyawa yang bersifat basa sehingga adanya indikator *bromocresol purple* pH 5,2-6,8 akan berwarna ungu. Bakteri *Klebsiella sp.* tidak mampu mereduksi sodium tiosulfat dalam media sehingga bakteri ini tidak dapat membentuk H₂S. Ketidakmampuan ini menyebabkan tidak terjadinya reaksi antara ion sulfida dan ion logam berat besi sehingga tidak menyebabkan perubahan warna hitam (Harti 2015).

Uji biokimia bakteri *Klebsiella sp.* dengan media sitrat ditunjukkan dengan perubahan warna indikator *bromothymol blue* dalam media menjadi biru, artinya bakteri ini dapat menggunakan sodium sitrat sebagai sumber karbon tunggal untuk metabolisme. Hasil (+) ini disebabkan penggunaan sitrat oleh bakteri menghasilkan suasana basa dan mengubah warna indikator menjadi biru (Brooks *et al.* 2013).

Hasil identifikasi bakteri *Klebsiella sp.* yang meliputi pengamatan mikroskopis dengan pewarnaan dan uji biokimia dapat dilihat pada tabel 3, lampiran 3, lampiran 4, dan lampiran 5. Pengamatan mikroskopis untuk bakteri ini

menggunakan pewarnaan Gram dan kapsul. Pengujian biokimia yang dilakukan menggunakan uji KIA, SIM, LIA, dan Citrat.

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

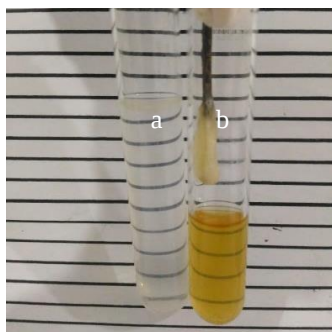
No. Sampel	Pewarnaan Gram	Pewarnaan Kapsul	Uji KIA	Uji SIM	Uji LIA	Uji Citrat	Kesimpulan
1	Tidak dilanjutkan uji identifikasi**						
2	Tidak dilanjutkan uji identifikasi*						
3	Batang, Gram (-)	Transparan, sel ungu	A/AG S ⁽⁻⁾	- - -	K/K S ⁽⁻⁾	+	<i>Klebsiella sp.</i>
4	Batang, Gram (-)	Transparan, sel ungu	A/AG S ⁽⁻⁾	- - -	K/K S ⁽⁻⁾	+	<i>Klebsiella sp.</i>
5	Batang, Gram (-)	Transparan, sel ungu	A/AG S ⁽⁻⁾	- - -	K/K S ⁽⁻⁾	+	<i>Klebsiella sp.</i>
6	Batang, Gram (-)	Transparan, sel ungu	A/AG S ⁽⁻⁾	- - -	K/K S ⁽⁻⁾	+	<i>Klebsiella sp.</i>
7	Batang, Gram (-)	Transparan, sel ungu	A/AG S ⁽⁻⁾	- - -	K/K S ⁽⁻⁾	+	<i>Klebsiella sp.</i>
8	Tidak dilanjutkan uji identifikasi*						
9	Batang, Gram (-)	Transparan, sel ungu	A/AG S ⁽⁻⁾	- - -	K/K S ⁽⁻⁾	+	<i>Klebsiella sp.</i>
10	Tidak dilanjutkan uji identifikasi**						
11	Batang, Gram (-)	Transparan, sel ungu	A/AG S ⁽⁻⁾	- - -	K/K S ⁽⁻⁾	+	<i>Klebsiella sp.</i>
12	Tidak dilanjutkan uji identifikasi**						
13	Tidak dilanjutkan uji identifikasi**						
14	Batang, Gram (-)	Transparan, sel ungu	A/AG S ⁽⁻⁾	- - -	K/K S ⁽⁻⁾	+	<i>Klebsiella sp.</i>
15	Batang, Gram (-)	Transparan, sel ungu	A/AG S ⁽⁻⁾	- - -	K/K S ⁽⁻⁾	+	<i>Klebsiella sp.</i>
16	Batang, Gram (-)	Transparan, sel ungu	A/AG S ⁽⁻⁾	- - -	K/K S ⁽⁻⁾	+	<i>Klebsiella sp.</i>
17	Batang, Gram (-)	Transparan, sel ungu	A/AG S ⁽⁻⁾	- - -	K/K S ⁽⁻⁾	+	<i>Klebsiella sp.</i>
18	Tidak dilanjutkan uji identifikasi**						
19	Batang, Gram (-)	Transparan, sel ungu	A/AG S ⁽⁻⁾	- - -	K/K S ⁽⁻⁾	+	<i>Klebsiella sp.</i>
20	Batang, Gram (-)	Transparan, sel ungu	A/AG S ⁽⁻⁾	- - -	K/K S ⁽⁻⁾	+	<i>Klebsiella sp.</i>
21	Batang, Gram (-)	Transparan, sel ungu	A/AG S ⁽⁻⁾	- - -	K/K S ⁽⁻⁾	+	<i>Klebsiella sp.</i>
22	Tidak dilanjutkan uji identifikasi**						
23	Batang, Gram (-)	Transparan, sel ungu	A/AG S ⁽⁻⁾	- - -	K/K S ⁽⁻⁾	+	<i>Klebsiella sp.</i>
24	Tidak dilanjutkan uji identifikasi**						
25	Tidak dilanjutkan uji identifikasi**						
26	Tidak dilanjutkan uji identifikasi**						
27	Batang, Gram (-)	Transparan, sel ungu	A/AG S ⁽⁻⁾	- - -	K/K S ⁽⁻⁾	+	<i>Klebsiella sp.</i>
28	Batang, Gram (-)	Transparan, sel ungu	A/AG S ⁽⁻⁾	- - -	K/K S ⁽⁻⁾	+	<i>Klebsiella sp.</i>
29	Batang, Gram (-)	Transparan, sel ungu	A/AG S ⁽⁻⁾	- - -	K/K S ⁽⁻⁾	+	<i>Klebsiella sp.</i>
30	Batang, Gram (-)	Transparan, sel ungu	A/AG S ⁽⁻⁾	- - -	K/K S ⁽⁻⁾	+	<i>Klebsiella sp.</i>
31	Batang, Gram (-)	Transparan, sel ungu	A/AG S ⁽⁻⁾	- - -	K/K S ⁽⁻⁾	+	<i>Klebsiella sp.</i>
32	Batang, Gram (-)	Transparan, sel ungu	A/AG S ⁽⁻⁾	- - -	K/K S ⁽⁻⁾	+	<i>Klebsiella sp.</i>
33	Batang, Gram (-)	Transparan, sel ungu	A/AG S ⁽⁻⁾	- - -	K/K S ⁽⁻⁾	+	<i>Klebsiella sp.</i>
34	Batang, Gram (-)	Transparan, sel ungu	A/AG S ⁽⁻⁾	- - -	K/K S ⁽⁻⁾	+	<i>Klebsiella sp.</i>
35	Batang, Gram (-)	Transparan, sel ungu	A/AG S ⁽⁻⁾	- - -	K/K S ⁽⁻⁾	+	<i>Klebsiella sp.</i>
36	Batang, Gram (-)	Transparan, sel ungu	A/AG S ⁽⁻⁾	- - -	K/K S ⁽⁻⁾	+	<i>Klebsiella sp.</i>
37	Batang, Gram (-)	Transparan, sel ungu	A/AG S ⁽⁻⁾	- - -	K/K S ⁽⁻⁾	+	<i>Klebsiella sp.</i>
38	Batang, Gram (-)	Transparan, sel ungu	A/AG S ⁽⁻⁾	- - -	K/K S ⁽⁻⁾	+	<i>Klebsiella sp.</i>
39	Batang, Gram (-)	Transparan, sel ungu	A/AG S ⁽⁻⁾	- - -	K/K S ⁽⁻⁾	+	<i>Klebsiella sp.</i>
40	Batang, Gram (-)	Transparan, sel ungu	A/AG S ⁽⁻⁾	- - -	K/K S ⁽⁻⁾	+	<i>Klebsiella sp.</i>
41	Batang, Gram (-)	Transparan, sel ungu	A/AG S ⁽⁻⁾	- - -	K/K S ⁽⁻⁾	+	<i>Klebsiella sp.</i>
K+	Batang, Gram (-)	Transparan, sel ungu	A/AG S ⁽⁻⁾	- - -	K/K S ⁽⁻⁾	+	<i>Klebsiella sp.</i>

Keterangan :

KIA	: <i>Klinger's Iron Agar</i>	(-)	: Negatif
LIA	: <i>Lysine Iron Agar</i>	G	: Gas
SIM	: <i>Sulfida Indol Motility</i>	S	: Sulfida (hitam)
A di KIA	: Asam (kuning)	*	: Tidak tumbuh koloni
K di LIA	: Alkali (ungu)	**	: Koloni tidak sesuai
(+) di Citrat	: Biru		

C. Hasil Pengujian Sensitivitas

Pengujian sensitivitas dilakukan pada koloni yang positif teridentifikasi bakteri *Klebsiella sp.* dengan metode difusi Kirby-Bauer. Sensitivitas bakteri *Klebsiella sp.* terhadap antibiotik amoksisilin-klavulanat, meropenem, seftriakson, dan siprofloksasin ditandai dengan terbentuknya daerah jernih di sekitar cakram yang mengandung zat antibakteri mengindikasikan sebagai zona hambatan. Prosedur pengujian sensitivitas dimulai dengan pembuatan suspensi bakteri. Kekasaran yang diperoleh dalam pembuatan suspensi bakteri menggunakan media BHI disamakan dengan standar Mc Farland 0,5 agar jumlah bakteri sama dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/ml. Hasil penyetaraan suspensi bakteri dengan standar Mc Farland 0,5 dapat dilihat pada gambar 11 dan lampiran 6.



Keterangan :

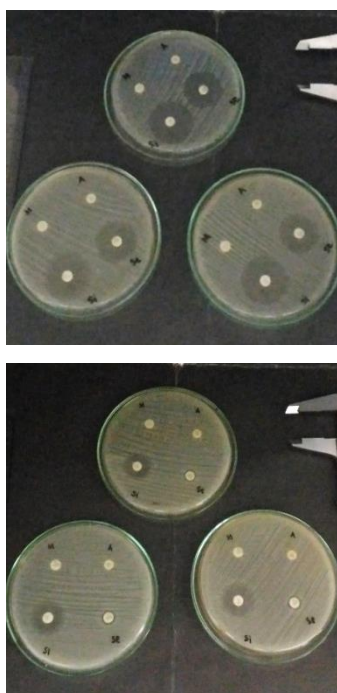
- a : Standar Mc Farland 0,5
- b : Suspensi bakteri yang sudah disetarakan

Gambar 11. Hasil suspensi bakteri *Klebsiella sp.* dari sputum pasien pneumonia di RSUD Dr. Moewardi yang disetarakan dengan standar Mc Farland 0,5

Uji sensitivitas bakteri *Klebsiella sp.* terhadap antibiotik amoksisilin-klavulanat, meropenem, seftriakson, dan siprofloksasin berdasarkan tabel interpretasi zona hambatan Kirby-Bauer perlu dilakukan untuk melihat adanya perbedaan antara diameter hambat yang dihasilkan antara bakteri *Klebsiella sp.* dari sampel sputum pasien pneumonia di RSUD Dr. Moewardi dan bakteri *Klebsiella sp.* ATCC 10031.

Hasil pengamatan sensitivitas bakteri terhadap antibiotik didapatkan dengan cara mengukur diameter daya hambat yang terbentuk pada media MHA dalam

satuan milimeter dan dibandingkan terhadap tabel interpretasi zona hambatan Kirby-Bauer, dimana pengujian ini dilakukan 3x replikasi percobaan. Interpretasi zona hambatan Kirby-Bauer bakteri *Klebsiella sp.* terhadap antibiotik amoksisilin-klavulanat, meropenem, seftriakson, dan siprofloksasin dapat dilihat pada tabel 1. Hasil zona hambat bakteri *Klebsiella sp.* terhadap antibiotik tersebut dapat dilihat pada gambar 12 dan lampiran 7.



Keterangan :

A : Amoksisilin-klavulanat
M : Meropenem
Se : Seftriakson
Si : Siprofloksasin

Gambar 12. Hasil uji sensitivitas bakteri *Klebsiella sp.* terhadap antibiotik amoksisilin-klavulanat, meropenem, seftriakson, dan siprofloksasin

Sensitivitas bakteri terhadap antibiotik digolongkan menjadi S (*susceptible*), I (*intermediate*), dan R (*resistant*) (CLSI 2018). Dosis cakram antibiotik yang digunakan dalam penelitian ini yaitu augmentin 20/10 µg (amoksisilin 20 µg dan asam klavulanat 10 µg), meropenem 10 µg, seftriakson 30 µg, dan siprofloksasin 5 µg. Hasil uji sensitivitas bakteri *Klebsiella sp.* dari sputum pasien pneumonia di RSUD Dr. Moewardi terhadap antibiotik amoksisilin-klavulanat, meropenem, seftriakson, dan siprofloksasin dapat dilihat pada tabel 4 dan lampiran 9.

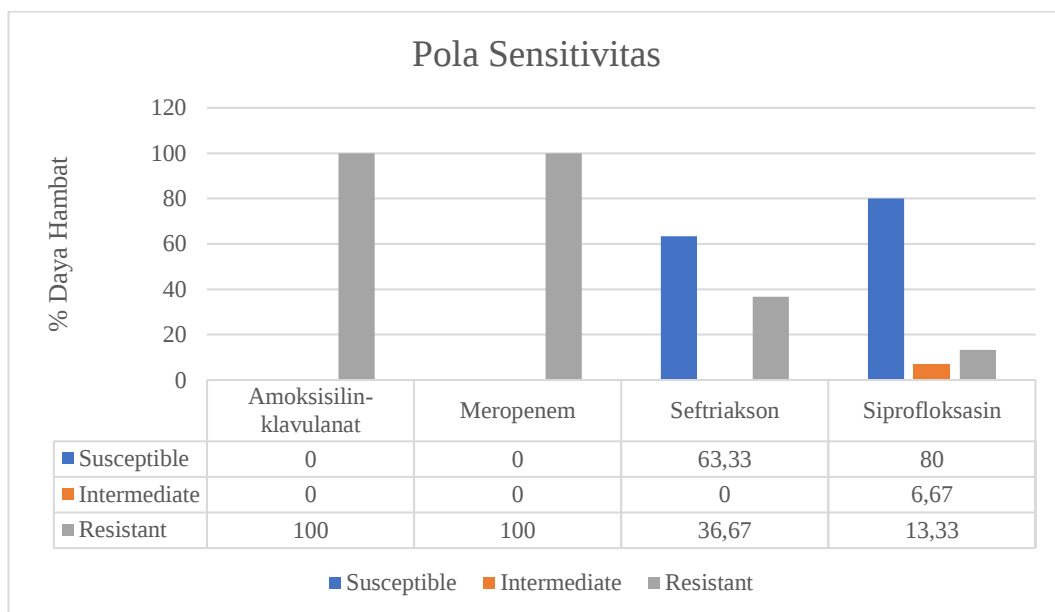
Tabel 4. Hasil uji sensitivitas *Klebsiella sp.* terhadap antibiotik amoksisilin-klavulanat, meropenem, seftriakson, dan siprofloksasin

Sampel No.	Amoksisilin-klavulanat		Meropenem		Seftriakson		Siprofloksasin	
	D	PS	D	PS	D	PS	D	PS
3	6,5 ± 0,0	R	6,5 ± 0,0	R	24,3 ± 1,4	S	35,2 ± 1,3	S
4	6,5 ± 0,0	R	6,5 ± 0,1	R	26,4 ± 0,6	S	21,6 ± 1,1	S
5	6,5 ± 0,0	R	6,5 ± 0,0	R	26,4 ± 0,7	S	23,1 ± 1,3	S
6	6,5 ± 0,0	R	6,5 ± 0,0	R	23,9 ± 1,0	S	6,5 ± 0,0	R
7	6,5 ± 0,0	R	6,5 ± 0,0	R	26,5 ± 1,1	S	26,0 ± 1,8	S
9	6,5 ± 0,0	R	6,5 ± 0,0	R	27,2 ± 1,1	S	22,2 ± 0,4	S
11	6,5 ± 0,0	R	6,5 ± 0,0	R	15,6 ± 1,5	R	31,1 ± 0,9	S
14	6,5 ± 0,0	R	6,5 ± 0,0	R	11,6 ± 1,0	R	33,3 ± 0,5	S
15	6,5 ± 0,0	R	6,5 ± 0,0	R	10,6 ± 0,3	R	11,0 ± 0,5	R
16	6,6 ± 0,1	R	6,5 ± 0,0	R	11,0 ± 0,5	R	28,6 ± 0,8	S
17	6,5 ± 0,1	R	6,6 ± 0,2	R	6,6 ± 0,1	R	27,8 ± 0,8	S
19	6,6 ± 0,2	R	6,5 ± 0,0	R	30,3 ± 0,9	S	35,8 ± 1,0	S
20	6,5 ± 0,0	R	6,5 ± 0,0	R	24,9 ± 0,8	S	26,7 ± 0,6	S
21	6,6 ± 0,2	R	6,5 ± 0,0	R	26,5 ± 1,3	S	21,4 ± 0,7	S
23	6,6 ± 0,2	R	6,6 ± 0,2	R	28,6 ± 1,0	S	29,9 ± 1,0	S
27	6,5 ± 0,0	R	6,5 ± 0,0	R	6,5 ± 0,0	R	31,1 ± 0,9	S
28	6,5 ± 0,0	R	6,5 ± 0,0	R	10,1 ± 0,8	R	6,5 ± 0,0	R
29	6,6 ± 0,1	R	6,7 ± 0,2	R	27,9 ± 0,5	S	33,6 ± 0,6	S
30	6,6 ± 0,2	R	6,6 ± 0,2	R	9,8 ± 1,0	R	6,5 ± 0,0	R
31	6,5 ± 0,0	R	6,5 ± 0,0	R	27,5 ± 0,1	S	26,1 ± 0,7	S
32	6,6 ± 0,2	R	6,6 ± 0,2	R	10,9 ± 0,2	R	16,4 ± 1,1	I
33	6,5 ± 0,0	R	6,5 ± 0,1	R	26,7 ± 0,1	S	22,1 ± 0,3	S
34	6,5 ± 0,0	R	6,5 ± 0,0	R	12,8 ± 0,1	R	31,4 ± 1,4	S
35	6,5 ± 0,0	R	6,5 ± 0,0	R	27,2 ± 1,0	S	30,8 ± 0,8	S
36	6,5 ± 0,0	R	6,5 ± 0,0	R	8,6 ± 0,2	R	19,5 ± 1,1	I
37	6,5 ± 0,0	R	6,5 ± 0,0	R	26,8 ± 0,8	S	31,2 ± 0,1	S
38	6,5 ± 0,0	R	6,5 ± 0,0	R	29,4 ± 0,4	S	25,6 ± 0,5	S
39	6,5 ± 0,0	R	6,5 ± 0,1	R	27,6 ± 0,2	S	25,9 ± 0,6	S
40	6,5 ± 0,0	R	6,5 ± 0,0	R	24,7 ± 0,4	S	28,8 ± 0,5	S
41	6,5 ± 0,0	R	6,5 ± 0,0	R	27,3 ± 0,3	S	25,8 ± 0,2	S
K+	6,5 ± 0,0	R	6,6 ± 0,1	R	25,4 ± 0,9	S	22,7 ± 1,3	S

Keterangan :

S = *Susceptible* PS = Pola Sensitivitas
 I = *Intermediate* D = Diameter
 R = *Resistant*

Tabel 4 menunjukkan diameter daya hambat bakteri *Klebsiella sp.* yang bervariasi terhadap antibiotik amoksisilin-klavulanat, meropenem, seftriakson, dan siprofloksasin. Tabel ini juga dapat digunakan untuk menentukan pola sensitivitas bakteri *Klebsiella sp.* terhadap antibiotik yang digunakan dalam penelitian. Pola sensitivitas tersebut dapat dilihat pada gambar 13. Gambar 13 menunjukkan bahwa antibiotik amoksisilin-klavulanat 100% *resistant*; meropenem 100% *resistant*; seftriakson 63,33% *susceptible*; dan 36,67% *resistant*; serta siprofloksasin 80% *susceptible*; 6,67% *intermediate*; dan 13,33% *resistant*.



Gambar 13. Pola sensitivitas bakteri *Klebsiella sp.* terhadap antibiotik amoksisilin-klavulanat, meropenem, seftriakson, dan siprofloksasin

Penelitian yang dilakukan menunjukkan bakteri *Klebsiella sp.* didapati pada 30 sampel dari jumlah total 41 sampel sputum pasien pneumonia dengan persentase yaitu 73% positif. Penelitian lain yang dilakukan Alfarizi pada tahun 2017 menunjukkan bahwa bakteri *Klebsiella sp.* dapat teridentifikasi dalam sputum pasien pneumonia di masyarakat Bandar Lampung sekitar 58%. Bakteri *Klebsiella sp.* jarang ditemukan pada kasus pneumonia, tetapi tidak menutup kemungkinan bakteri ini berperan sebagai penyebab penyakit tersebut. Pneumonia yang disebabkan oleh bakteri *Klebsiella sp.* merupakan bentuk pneumonia yang jarang dan sifatnya berat (Gillespie & Bamford 2009; PDPI 2014). Bakteri ini bisa menjadi penyebab pneumonia dengan angka kejadian yang tinggi di suatu wilayah tertentu sehingga perlu dilakukan pengujian sensitivitas secara berkala karena pola bakteri dapat bervariasi seiring waktu.

Analisis data dengan pengujian statistik perlu dilakukan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan tingkat sensitivitas yang signifikan pada hasil uji sensitivitas antara bakteri *Klebsiella sp.* dari sputum pasien pneumonia di RSUD Dr. Moewardi dengan bakteri *Klebsiella sp.* ATCC 10031 dari laboratorium mikrobiologi Universitas Setia Budi terhadap beberapa antibiotik, meliputi amoksisilin-klavulanat, meropenem, seftriakson, dan siprofloksasin. Uji statistik

yang dilakukan menggunakan uji standar deviasi dinyatakan dalam bentuk grafik yang menampilkan *error bars*. Hasil perbandingan daya hambat antibiotik diolah menjadi bentuk tabel yang menyajikan jumlah persentase dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil tabulasi analisis perbedaan *Klebsiella sp.* ATCC 10031 dengan *Klebsiella sp.* dari sputum pasien pneumonia

Antibiotik	Persentase sensitivitas (%)	
	Berbeda nyata	Tidak berbeda nyata
Amoksisilin-klavulanat	23,33	76,67
Meropenem	86,67	13,33
Seftriakson	46,67	53,33
Siprofloksasin	80,00	20,00

Tabel 5 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan antara bakteri *Klebsiella sp.* hasil isolasi dari sputum pasien pneumonia dengan bakteri biakan murni *Klebsiella sp.* ATCC 10031. Hasil uji standar deviasi antara bakteri dari sampel sputum pasien dan biakan murni terhadap masing-masing antibiotik yang digunakan dalam penelitian menunjukkan nilai signifikansi berbeda nyata amoksisilin-klavulanat 23,33%, meropenem 86,67%, seftriakson 46,67%, dan siprofloksasin 80,00%. Hasil uji statistik dengan menggunakan standar deviasi yang disajikan dalam bentuk grafik dapat dilihat pada lampiran 10. Semakin besar persentase sensitivitas yang berbeda nyata menunjukkan semakin banyak perubahan yang ada di pasien, sehingga harus berhati-hati dalam pemberian antibiotik. Siprofloksasin yang memiliki persentase beda nyata 80,00% menunjukkan lebih *susceptible* 60% dibanding *Klebsiella sp.* ATCC 10031. Pemberian antibiotik harus disesuaikan dengan pola sensitivitas bakteri penyebab penyakit. Pengujian sensitivitas sebaiknya dilakukan secara berkala karena pola bakteri dapat bervariasi seiring waktu tertentu.

Amoksisilin-klavulanat merupakan antibiotik golongan penisilin yang dikombinasi dengan inhibitor β -laktamase dengan mekanisme kerja menghambat sintesis dinding sel dengan perlindungan inhibitor β -laktamase agar penisilin tidak terhidrolisis (Harvey *et al.* 2011). Kusuma (2013) dalam penelitiannya yang dilakukan di Semarang menunjukkan bahwa *Klebsiella sp.* memiliki angka resistensi relatif tinggi terhadap amoksisilin-klavulanat. Resistensi golongan

penisilin yang dikombinasi dengan inhibitor β -laktamase ini dapat disebabkan karena ESBL atau β -laktamase AmpC yang dimediasi plasmid, hiperproduksi SHV-1 atau TEM-1 β -laktamase, inhibitor resisten TEM (IRT) β -laktamase, kehilangan protein membran luar (Canton *et al.* 2008; Perez-Moreno *et al.* 2011).

Meropenem merupakan antibiotik golongan karbapenem dengan mekanisme kerja menghambat sintesis dinding sel dari bakteri (Harvey *et al.* 2011). Jayakumar *et al.* (2017) dalam penelitiannya menyatakan bahwa *Klebsiella sp.* memiliki angka resistensi relatif tinggi terhadap meropenem dari 28 sampel yang digunakan. Resistensi golongan karbapenem ini dapat disebabkan karena produksi karbapenemase (Mayers *et al.* 2017), ESBL atau β -laktamase AmpC yang dimediasi plasmid (Bakthavatchalu *et al.* 2013), kehilangan protein membran luar (Martinez-Martinez 2008). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Ye *et al.* (2018) di China, Jayakumar *et al.* (2017) di India, dan Din *et al.* (2016) di Mesir.

Seftriakson merupakan antibiotik golongan sefalosporin generasi ketiga dengan mekanisme kerja menghambat sintesis dinding sel bakteri yaitu mengganggu sintesis peptidoglikan dinding sel (Goodman & Gilman 2012). Bakteri *Klebsiella sp.* sudah mengalami resistensi dengan jumlah yang bermakna di RSUP M. Jamil (Lubis *et al.* 2016). Resistensi golongan sefalosporin generasi ketiga ini dapat disebabkan karena hiperproduksi SHV-1, ESBL atau β -lactamase AmpC yang dimediasi plasmid, kehilangan protein membran luar (Rawat & Nair 2010).

Siprofloksasin merupakan antibiotik golongan kuinolon dengan mekanisme kerja menghambat kerja DNA girase bakteri (topoisomerase) yang penting dalam pelipatan dan penguraian DNA selama sintesis (Elliott *et al.* 2013). Penelitian dari isolasi sampel sputum pneumonia di RSUD Dr. Moewardi menunjukkan bahwa terjadi resistensi *Klebsiella sp.* terhadap siprofloksasin sekitar 10% (Ramadhan 2018). Resistensi golongan kuinolon ini dapat disebabkan karena mutasi pada kromosom *gyrA* dan gen *parC*, aktivasi pompa efflux atau kehilangan protein membran luar (Fabrega *et al.* 2008; Rodriguez-Martinez *et al.* 2013).