

**IDENTIFIKASI BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa* DAN UJI
SENSITIVITAS TERHADAP ANTIBIOTIK DARI SAMPEL
ULKUS PASIEN DIABETES MELITUS
DI RSUD Dr. MOEWARDI**

TUGAS AKHIR

Untuk memenuhi sebagian persyaratan sebagai
Sarjana Sains Terapan



Oleh :

Ende Irma Listiani

06130174N

**PROGRAM STUDI D-IV ANALIS KESEHATAN
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

LEMBAR PERSETUJUAN

Tugas Akhir :

**IDENTIFIKASI *Pseudomonas aeruginosa* DAN UJI SENSITIVITAS
TERHADAP ANTIBIOTIK DARI SAMPEL ULKUS PASIEN
DIABETES MELITUS DI RSUD Dr. MOEWARDI**

Oleh :

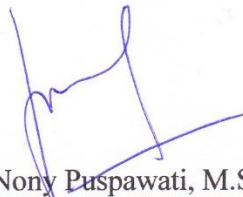
Ende Irma Listiani

06130174N

Surakarta, 10 Juli 2017

Menyetujui Untuk Ujian Sidang Tugas Akhir

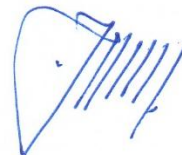
Pembimbing Utama



Dra. Nony Puspawati, M.Si.

NIS.01.83.002

Pembimbing Pendamping



Rahmat Budi Nugroho, S.Si., M.Si.

NIS.01201409161187

LEMBAR PENGESAHAN

Tugas Akhir :

IDENTIFIKASI *Pseudomonas aeruginosa* DAN UJI SENSITIVITAS TERHADAP ANTIBIOTIK DARI SAMPEL ULKUS PASIEN DIABETES MELITUS DI RSUD Dr. MOEWARDI


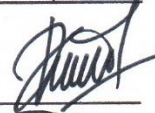


Oleh :

Ende Irma Listiani

06130174N

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji

Pada tanggal 25 Juli 2017

| | Nama | Tanda Tangan | Tanggal |
|-------------|---------------------------------------|---|------------|
| Penguji I | : Ifandari, S.Si., M.Si. |  | 03-08-2017 |
| Penguji II | : Rizal Maarif Rukmana, S.Si., M.Sc.: |  | 02-08-2017 |
| Penguji III | : Rahmat Budi Nugroho, S.Si., M.Sc.: |  | 03-08-2017 |
| Penguji IV | : Dra. Nony Puspawati, M.Si. |  | 03-08-2017 |

Mengetahui,

Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan



Prof. dr. Marsetyawan HNE S., M.Sc. P.hD.

NIDN. 0029094802

Ketua Program Studi

D-IV Analis Kesehatan



Tri Mulyowati, S.KM., M.Sc.

NIS. 01.2011.153

PERSEMBAHAN

Puji syukur tak terhingga atas rahmat yang telah dianugerahkan Allah SWT kepadaku sehingga satu tanggung jawabku telah terlaksana. Tidak terasa waktu telah membimbingku dalam memasuki fase mahasiswa tingkat akhir. Saat ini aku berada dalam peran yang ganda yaitu untuk diriku dan untuk mereka yang tengah menanti kelulusanku.

Sesungguhnya kata lelah itu selalu menanti, selalu mengiringi dan Selalu menghadangku ketika aku pulang. Ibarat sang tuan yang bertengger mesra melingkup di ruang kamar, dimana tempat aku berkarya dan menghabiskan waktuku dari dunia luar. Dia membawa nikmatnya keegoisan agar diri mengikuti keinginan pribadi

Namun, selalu terbayang dan terlintas difikiranku akan harapan mereka yang telah menunggu dan menantiku di tanah kelahiran. Pesan singkat namun berarti bagiku adalah ikutilah sebuah prosesi di bulan July. Aku paham, jika bukan bulan itu, maka aku harus menanti dalam hitungan bulan lagi untuk menuntaskan tanggung jawabku ini. Sehingga aku tidak boleh egois, dan terdiam saja hanya memikirkan dan mementingkan keinginan diriku sendiri. Hati, jiwa dan pikiran harus berpadu dalam menunaikan setiap peran yang telah disanggupi sebelumnya,.

Dan akhirnya Sebuah karya baru saja tercipta, dengan sentuhan suka, duka, tangis dan tawa serta pengorbanan yang terbingkai dalam cinta dan kasih sayang dari kesetiaan hati yang paling dalam. Sungguh salah satu surga dunia berada disekeliling orang-orang yang kita sayangi dan menyayangi kita.

Ku persembahkan karya ini untuk :

*Papah dan Mamah yang tercinta Mairun dan Siti Kholisoh
Atas segala pengorbanan, kasih sayang dan dukungan serta
do'a tulus yang tiada henti dan tak akan pernah padam
sepanjang masa, semua akan terukir indah dalam relung
hati ananda yang paling dalam.*

*Adikku tersayang, Khoirul Fu Adi yang selalu memberikan
keceriaan dan segala hal dan kasih sayang serta
perhatiannya walaupun jarak kita terpisah jauh namun
selalu ada waktu untuk bisa berbagi cerita indah dan pahit
di saat duka maupun bahagia.*

*Terima kasih untuk Rahmat Aji Prasetyo yang selalu
memberikan suport, doa dan bantuannya dalam penulisan
skripsi ini, terimakasih untuk sahabat-sahabatku (Anak
Bolang) Yunita, Farida, Rosya, (Abal-Abal Family) Fomy,
Neni, Merti, Afik, Widi, Rizki, Putra, Dika, Imam, (Patner
Penelitian Skripsi) Diah, dan Aulia dan teman-teman
seperjuangan lainnya kebersamaan kita adalah saat-saat
yang paling indah, serta keluarga besar D-IV Analis
Kesehatan angkatan 2013 semoga kita masih bisa saling
menjalin silaturahmi dan berkomunikasi.*

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tugas akhir ini adalah pekerjaan saya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan disuatu Perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila tugas akhir ini merupakan jiplakan dari peneliti/ karya ilmiah/ skripsi orang lain , maka saya siap menerima sanksi baik secara akademis maupun hokum.

Surakarta, 10 Juli 2017



Handwritten signature of Ende Irma Listiani.

Ende Irma Listiani

NIM 06130174N

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Wr. Wb

Alhamdulillah rabbil'alamin penulis panjatkan puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir dengan judul **"IDENTIFIKASI BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa* DAN UJI SENSITIVITAS TERHADAP ANTIBIOTIK DARI SAMPEL ULKUS PASIEN DIABETES MELITUS DI RSUD Dr. MOEWARDI"**. Tugas akhir ini merupakan salah satu syarat guna memperoleh gelar Sarjana Sains Terapan (S.ST) pada program studi Diploma IV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi Surakarta.

Terlaksananya penyusunan tugas akhir ini berkat bimbingan, bantuan, dan dukungan dari berbagai pihak, dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini sesuai dengan harapan.
2. Bapak Ir. Djoni Tarigsn, MBA selaku rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Prof.dr.Marsetyawan HNE S.,M.Sc.P.hD selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi Surakarta.

4. Ibu Try Mulyowati. S.KM,M,Sc selaku Ketua Program Studi D-IV Analis Kesehatan Universitas Setia Budi Surakarta.
5. Dra. Nony Puspawati, M.Si. selaku Pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, nasehat, serta arahan dalam penulisan tugas akhir.
6. Rahmat Budi Nugroho, S.Si., M.Si. selaku selaku Pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, nasehat, serta arahan dalam penulisan tugas akhir.
7. Kepala instalasi Laboratorium RSUD Dr Moewardi Surakarta beserta staff yang telah memberikan kesempatan dan membantu penulis untuk melakukan penelitian.
8. Seluruh Dosen, Asisten Dosen, Staff perpustakaan dan Staff Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta.
9. Kedua orang tua, adik dan keluarga besar yang telah memberikan dorongan baik moril maupun materi dan tak pernah bosan mendoakan penulis dalam menempuh studi dan mewujudkan cita-cita..
10. Teman-teman seperjuangan dan semua pihak yang telah membantu terlaksananya penulis tugas akhir ini, sehingga tugas akhir ini dapat terselesaikan.

Akhir kata penulis menyadari bahwa tugas akhir ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu penulis menerima kritik dan saran yang bersifat membangun. Semoga Tugas akhir ini dapat bermanfaat bagi pengembangan di bidang ilmu Analis Kesehatan serta bagi siapa saja yang membacanya.

Wassalamualaikum Wr. Wb

Surakarta,10 Juli 2017

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|------------------------------------|---------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| HALAMAN PERSETUJUAN | ii |
| HALAMAN PENGESAHAN | iii |
| HALAMAN PERSEMBAHAN | iv |
| HALAMAN PERNYATAAN | vi |
| KATA PENGANTAR | vii |
| DAFTAR ISI | ix |
| DAFTAR GAMBAR | xii |
| DAFTAR TABEL | xiii |
| DAFTAR LAMPIRAN | xiv |
| DAFTAR SINGKATAN | xv |
| DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN | xvi |
| INTISARI | xvii |
| ABSTRACT | xvi |
| BAB I PENDAHULUAN | 1 |
| A. Latar Belakang | 1 |
| B. Rumusan Masalah | 5 |
| C. Tujuan Penelitian | 5 |
| D. Manfaat Penelitian | 6 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | 7 |
| A. Tinjauan Pustaka | 7 |
| 1. Ulkus Diabetes Melitus | 7 |
| a. Definisi | 7 |

| | |
|---|-----------|
| b. Epidemiologi | 8 |
| c. Penggolongan Diabetes Melitus | 9 |
| d. Patofisiologi | 10 |
| e. Gejala Klinik | 10 |
| f. Pengobatan | 11 |
| 2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 11 |
| a. Klasifikasi | 11 |
| b. Morfologi dan Fisiologi | 12 |
| c. Struktur dan Tipe Antigen | 13 |
| 1. Lipoposakarida | 13 |
| 2. Eksopolisakarida | 13 |
| 3. Pilli dan pelengkap | 14 |
| d. Faktor Virulensi | 14 |
| 3. Antibiotik | 14 |
| a. Definisi | 15 |
| b. Klasifikasi dan Mekanisme Kerja Antibiotik | 15 |
| c. Penggolongan Antibiotik | 16 |
| 1. Imipenem | 16 |
| 2. Gentamisin | 17 |
| 3. Amikasin | 17 |
| 4. Sefotaksim | 18 |
| 5. Piperasilin | 18 |
| 6. Siprofloksasin | 18 |
| 4. Uji Kepekaan Antibiotik | 19 |
| B. Landasan Teori | 20 |
| C. Hipotesis | 22 |
| BAB III METODE PENELITIAN | 23 |
| A. Waktu dan Tempat Penelitian | 23 |
| B. Rancangan Penelitian | 23 |
| C. Populasi dan Sampel | 23 |
| 1. Populasi | 23 |
| 2. Sampel | 23 |
| 3. Jumlah Sampel | 24 |
| D. Variabel Penelitian | 25 |
| 1. Identifikasi variabel utama | 25 |
| 2. Klasifikasi variabel utama | 25 |
| 3. Definisi operasional variabel utama | 25 |
| E. Bahan dan Alat | 26 |
| 1. Bahan | 26 |

| | |
|---|--------|
| 2. Alat | 26 |
| F. Prosedur Penelitian | 27 |
| 1. Pengambilan Sampel | 27 |
| 2. Pembuatan Media | 27 |
| a. Pembuatan Medium <i>Pseudomonas Selective</i> (PSA) | 27 |
| b. Pembuatan Medium <i>Brain Heart Infusion</i> (BHI) | 27 |
| c. Pembuatan Medium <i>Mueller Hinton Agar</i> (MHA) | 28 |
| d. Pembuatan Medium <i>Kligler Iron Agar</i> (KIA) | 28 |
| e. Pembuatan Medium <i>Sulfida Indol Motility</i> (SIM) | 28 |
| f. Pembuatan Medium <i>Lysine Iron Agar</i> (LIA) | 29 |
| g. Pembuatan Medium <i>Simmons Citrate Agar</i> (Citrat) | 29 |
| 3. Sterilisasi | 30 |
| a. Sterilisasi Medium | 30 |
| b. Sterilisasi Alat | 30 |
| 4. Pemeriksaan Secara Mikrobiologi | 30 |
| a. Hari Pertama | 30 |
| b. Hari Kedua | 30 |
| c. Hari Ketiga | 31 |
| d. Hari Keempat | 33 |
| 5. Kerangka Penelitian | 33 |
| G. Teknik Analisis Data | 34 |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN | 36 |
| A. Isolasi <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dari sampel ulkus pasien Diabetes Melitus | 36 |
| B. Identifikasi <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 40 |
| 1. Mikroskopis | 40 |
| 2. Uji Biokimia | 42 |
| 3. Uji Sensitivitas | 45 |
| C. Keterbatasan Penelitian | 51 |
| BAB V KESIMPULAN DAN SARAN | 52 |
| A. Kesimpulan | 52 |
| B. Saran | 52 |
| DAFTAR PUSTAKA | 54 |
| LAMPIRAN | 57 |

DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|--|---------|
| Gambar 1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 12 |
| Gambar 2. Kerangka Penelitian | 33 |
| Gambar 3. Sampel Ulkus Pasien Diabetes Melitus..... | 36 |
| Gambar 4. Medium PSA yang menunjukkan hasil pigmen <i>pyocyanin</i> dan pigmen <i>pyoverdin</i> | 37 |
| Gambar 5. Diagram hasil isolasi <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dari sampel ulkus pasien Diabetes melitus pada medium PSA (<i>Pseudomonas Selektif Agar</i>) | 37 |
| Gambar 6. Diagram hasil pigmen <i>pyocyanin</i> dan pigmen <i>pyoverdin</i> | 39 |
| Gambar 7. Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> pada pengecatan Gram | 41 |
| Gambar 8. Hasil positif <i>Pseudomonas aeruginosa</i> pada Uji Biokimia | 42 |
| Gambar 9. Hasil Uji Sensitivitas <i>Pseudomonas aeruginosa</i> terhadap Antibiotik Imipenem, Gentamisin, Sefotaksim, Piperasilin, dan Siprofloksasin | 48 |
| Gambar 10. Diagram hasil uji sensitivitas <i>Pseudomonas aeruginosa</i> terhadap antibiotik | 49 |

DAFTAR TABEL

| | Halaman |
|---|---------|
| Tabel 1. Standar Terapi Antibiotika Empirik pada Pasien Ulkus Diabetes Melitus..... | 19 |
| Tabel 2. Hasil isolasi <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dari sampel ulkus pasien Diabetes Melitus pada medium PSA (<i>Pseudomonas Selektif Agar</i>) | 38 |
| Tabel 4. Hasil Uji Biokimia | 44 |
| Tabel 5. Hasil uji sensitivitas <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 47 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | Halaman |
|--|---------|
| Lampiran 1. Surat Ijin Penelitian | 57 |
| Lampiran 2. Surat Pengantar Penelitian | 58 |
| Lampiran 3. Surat Pengajuan Kelaikan Etik | 59 |
| Lampiran 4. Surat Kelaikan Etik | 60 |
| Lampiran 5. Surat Keterangan Selesai Penelitian | 61 |
| Lampiran 6. Data Pasien | 62 |
| Lampiran 7. Tabel <i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i> (CLSI) | 64 |
| Lampiran 8. Foto Sampel | 65 |
| Lampiran 9. Foto Medium <i>Pseudomonas Selective Agar</i> (PSA) menunjukkan pigmen <i>pyocyanin</i> dan <i>pyoverdin</i> | 69 |
| Lampiran 10. Foto Hasil isolasi pada media <i>Pseudomonas Selective Agar</i> (PSA) | 70 |
| Lampiran 11. Foto Hasil Pengecatan Gram | 87 |
| Lampiran 12. Foto Hasil Uji Biokimia Media <i>Kliger's Iron Agar</i> (KIA), <i>Sulphide Indol Motility</i> (SIM), <i>Lysine Iron Agar</i> (LIA), dan Citrat | 90 |
| Lampiran 13. Foto Hasil Uji Sensitivitas <i>Pseudomonas aeruginosa</i> terhadap Antibiotik Imipenem, Amikasin, Gentamisin, Sefotaksim, Piperasilin, dan Siprofloksasin | 94 |
| Lampiran 14. Formulasi dan Pembuatan Media | 108 |

DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN

| | |
|------|---|
| DM | Diabetes Melitus |
| IDF | <i>International of Diabetic Federationw</i> |
| SKRT | Survei Kesehatan Rumah Tangga |
| BPS | Biro Pusat Statistik |
| RSUD | Rumah Sakit Umum Daerah |
| IDDM | <i>Insulin Dependent Diabetes Melitus</i> |
| μl | <i>microliter</i> |
| DNA | <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i> |
| RNA | <i>Ribonucleic Acid</i> |
| BHI | <i>Brain Heart Infusion</i> |
| PSA | <i>Pseudomonas Selective Agar</i> |
| KIA | <i>Kliger's Iron Agar</i> |
| SIM | <i>Sulphide Indole Motility</i> |
| LIA | <i>Lysine Indole Agar</i> |
| NaCl | <i>Natrium chloride</i> |
| MHA | <i>Mueller Hinton Agar</i> |
| ml | <i>milliliter</i> |
| CLSI | <i>Clinical Laboratory Standart Institute</i> |
| ICU | <i>Intensife Care Unit</i> |
| BTB | <i>Brom Thymol Blue</i> |
| μg | <i>microgram</i> |

INTISARI

Listiani, E.I., 2017. Identifikasi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Dan Uji Sensitivitas Terhadap Antibiotik Dari Sampel Ulkus Pasien Diabetes Melitus Di RSUD Dr. Moewardi. Program Studi D-IV Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi.

Prevalensi penyakit diabetes melitus di Indonesia semakin meningkat, komplikasi yang ditimbulkan dapat berupa ulkus diabetik, pada jangka panjang akan menyebabkan infeksi kaki diabetik. Infeksi tersebut dapat disebabkan karena beberapa bakteri, salah satunya bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Masalah utama dari bakteri *P.aeruginosa* adalah berkembangnya mikroorganisme yang resisten terhadap berbagai jenis antibiotik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya *Pseudomonas aeruginosa* pada sampel ulkus pasien diabetes militus di RSUD Dr. Moewardi dan uji sensitivitas terhadap antibiotik.

Penelitian ini bersifat analitik observasional dengan pendekatan cross sectional yaitu penelitian untuk mengetahui sensitivitas bakteri terhadap antibiotik dengan metode difusi. Penelitian ini dilakukan dengan cara mengisolasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada sampel ulkus pasien diabetes melitus yang kemudian diuji sensitivitasnya terhadap antibiotik.

Hasil isolasi sampel ulkus menunjukkan bahwa dari 50 sampel terdapat 14 sampel ulkus positif terdapat *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil uji sensitivitas menunjukkan bahwa *Pseudomonas aeruginosa* 93% sensitif terhadap antibiotik imipenem, 76 % sensitif terhadap antibiotik amikacin dan siprofloksasin, 79 % sensitif terhadap antibiotik gentamicin 86 % sensitif terhadap antibiotik piperasilin, dan 50 % resisten terhadap antibiotik Sefotaxime.

Kata kunci : Ulkus diabetik, identifikasi, *Pseudomonas aeruginosa*, sensitivitas, antibiotik.

ABSTRACT

Listiani, E. I. 2017. Identification of *Pseudomonas aeruginosa* Bacteria and Sensitivity Test of Antibiotics from Ulcers Samples of Patients Suffering from Diabetes Mellitus in Regional Public Hospital (RSUD) of Dr. Moewardi. The Study Program of Four-Year Diploma (D-IV) in Medical Laboratory Technology. The Faculty of Health Sciences. Universitas Setia Budi.

Diabetes Mellitus prevalence in Indonesia is increasing. The complication resulted from this disease can be diabetic ulcer, in which in the long run, this will lead to diabetic foot infection. The infection can be caused by several bacteria, one of which is *Pseudomonas aeruginosa*. The main problem attributable to *Pseudomonas aeruginosa* is the development of microorganisms which are resistant to various types of antibiotics. This study aims at investigating the presence of *Pseudomonas aeruginosa* in ulcers samples of patients with Diabetes Mellitus in Regional Public Hospital (RSUD) of Dr. Moewardi and sensitivity test of antibiotics.

This research belongs to observational analytical study with cross-sectional approach, which is a study to investigate the sensitivity of bacteria on antibiotics using diffusion method. This study was carried out by isolating *Pseudomonas aeruginosa* bacteria in ulcers samples of patients with Diabetes Mellitus and testing the sensitivity of antibiotics.

The results of ulcers isolation reveal that 14 of 50 ulcers samples were positively infected by *Pseudomonas aeruginosa*. The results of sensitivity test indicates that *Pseudomonas aeruginosa* 93% were sensitive to imipenem antibiotic, 76% were sensitive to amikacin and ciprofloxacin antibiotics, 79% were sensitive to gentamicin antibiotic, 86% were sensitive to piperacillin antibiotic, and 50% were resistant to cefotaxime antibiotic.

Keywords: diabetic ulcers, identification, *Pseudomonas aeruginosa*, sensitivity, antibiotic.

BAB I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Diabetes Melitus (DM) adalah penyakit dimana kondisi kadar gula dalam darah yang melebihi batas normal didalam tubuh yang disebabkan oleh gangguan sekresi insulin. Insulin adalah suatu hormon yang disekresi oleh organ pankreas dan zat penting yang mengatur kadar glukosa dalam darah agar tetap seimbang (KEMENKES, 2014). Diabetes Melitus termasuk salah satu penyakit degeneratif yang memerlukan penanganan. Di dunia, diperkirakan sebanyak 347 juta orang mengidap penyakit DM (WHO, 2013). *World Health Organization* (WHO) memprediksi kenaikan jumlah penderita dari 8,4 juta pada tahun 2000 menjadi sekitar 21,3 juta pada tahun 2030 serta paling banyak terjadi pada masyarakat dengan gaya hidup yang tidak sehat (WHO, 2013).

Menurut estimasi *International Diabetes Federation* (IDF) tahun 2014 terhitung 8,3% penduduk di seluruh dunia mengalami Diabetes Melitus, prevalensi ini meningkat dari tahun 2011 yaitu 7,0% dan diprediksikan pada tahun 2035 prevalensi DM akan meningkat menjadi 10,0%. Perkiraan proporsi penyakit DM yang tidak terdiagnosis yaitu sebesar 46,3%. Data yang diperoleh dari *International of Diabetic Federation* (IDF), tingkat kasus penderita DM pada tahun 2014 terus meningkat menjadi 387 juta kasus. Indonesia menempati peringkat ke 7 dengan penderita DM sebanyak 8,5% setelah Cina, India, AS, Brazil, Rusia, dan Mexico (IDF, 2014). Di Indonesia, berdasarkan Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) pada tahun 2005

menunjukkan adanya jumlah peningkatan prevalensi DM dari tahun 2001 sebesar 7,5% menjadi 10,4% pada tahun 2004. Sementara itu hasil survei dari Biro Pusat Statistik (BPS) pada tahun 2003 menyatakan bahwa prevalensi DM di perkotaan mencapai 14,7% dan di pedesaan 7,2% (Riskesdas, 2013).

Tercatat pada profil kesehatan Provinsi Jawa Tengah tahun 2013 dengan jumlah kasus DM tergantung insulin pada tahun 2013 sebesar 9.376 kasus, angka tersebut lebih rendah di banding tahun 2012 yaitu 19.493 kasus. Daerah yang memiliki kasus tertinggi yaitu di Kabupaten Brebes dan Kota Semarang dengan jumlah 1.095 kasus. Sedangkan kasus pada DM tipe II, mengalami penurunan dari 181.543 kasus menjadi 142.925 kasus. Kasus DM tipe II tertinggi yaitu di Kota Surakarta dengan jumlah 22.534 kasus (Profil Kesehatan Provinsi Jawa Tengah, 2013).

Penyebab umum pasien diabetes mendapat perawatan di rumah sakit adalah masalah pada kaki diabetik seperti infeksi, *foot ulcer* dan gangren (Fitriani, 2015). *Foot ulcer* yaitu luka pada kaki penderita diabetes yang berkembang menjadi infeksi disebabkan oleh bakteri aerob maupun anaerob. Kurang lebih 15% penderita diabetes akan mengalami komplikasi *foot ulcer* selama perjalanan penyakitnya (Singh, 2013). Adanya *foot ulcer* dapat mengganggu aktivitas, oleh karena itu komplikasi ini merupakan salah satu beban bagi pasien diabetes dan tenaga kesehatan meskipun penyakit ini dapat dicegah (Netten *et al.*, 2016). Beberapa penelitian telah dilakukan berkaitan dengan tingkat kepekaan bakteri terhadap antibiotik pada penderita ulkus diabetikum. Hasil penelitian oleh Farida (2016) menyatakan hasil kultur

bakteri dari spesimen pus penderita ulkus diabetikum yaitu *Klebsiella* sp. yang merupakan bakteri Gram negatif dengan persentase tertinggi (15,3%) diikuti *Pseudomonas* sp. (11,9%). Namun pada penelitian Rustini *et al.*, (2016) kultur bakteri dari spesimen pus penderita ulkus diabetikum di RS X terbanyak adalah bakteri *Enterococcus* sp. (13,4%), lalu diikuti bakteri *Klebsiella* sp. (11,0%), dan *Staphylococcus aureus* (9,8%).

Penelitian Sharma dan Srivastava, (2016) dari total 654 spesimen klinis diselidiki. Tingkat isolasi *Pseudomonas aeruginosa* adalah 126 (19,26%). Dari 126 strain dari *P. aeruginosa*, 78 (61,90%) berasal dari pasien laki-laki dan 48 (38,09%) dari pasien perempuan. Infeksi pada penderita ulkus diabetikum dapat disebabkan oleh bakteri aerob seperti *P. aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacteriaceae* termasuk *Escherichia coli*, *Citrobacter* sp, *Enterobacter* sp dan *Staphylococcus* sp. sedangkan pada bakteri anaerob diperoleh *Bacteroides fragilis* (Akhi *et al.*, 2015). Penelitian dari data rekam medik di RSUP dr. Soeradji Tirtonegoro tahun 2014, tentang pengobatan antibiotik pada pasien diabetes dengan komplikasi *foot ulcer* yang banyak digunakan yaitu golongan sefalosporin dengan presentase (92%), yaitu seftriakson (76%), sefiksim (8%), sefotaksim (4%), sefadroksil (4%) dan antibiotik kombinasi seftriakson-metronidazol (60%), seftriakson-klindamisin (12%), sefotaksim-metronidazol (4%), sefiksim-metronidazole (2%) (Fitriani, 2015).

Infeksi kaki diabetik disebabkan karena beberapa bakteri, salah satunya bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Bakteri *P. aeruginosa* menduduki

peringkat pertama terbanyak setelah *Staphylococcus aureus* dan *Acinetobacter baumannii* yang masih resisten terhadap antibiotik. Disamping itu, infeksi yang disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* akan sulit untuk diterapi, hal ini dikarenakan semakin banyak munculnya strain resisten terhadap beberapa antibiotik (*Multidrug Resistance*) (Anonim, 2015).

Pada saat ini hampir diseluruh dunia yang menjadi masalah utama pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ini adalah berkembangnya mikroorganisme yang resisten terhadap berbagai jenis antibiotika. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri patogen oportunistik, dan salah satu penyebab terjadinya infeksi nosokomial. Bakteri ini umumnya dapat menginfeksi pasien yang mengalami penurunan sistem imun dan dapat menimbulkan berbagai jenis infeksi (Rustini *et al.*, 2016). Infeksi nosokomial saat ini merupakan salah satu penyebab meningkatnya angka kematian di rumah sakit (Darmadi, 2008).

Peningkatan jumlah laporan telah mendokumentasikan perlawanan antara *Pseudomonas aeruginosa* terhadap obat antibiotik yang umum di seluruh dunia. Oleh karena itu, diperlukan suatu penelitian untuk mengetahui pola resisten bakteri penginfeksi terhadap antibiotik serta menganalisis kesesuaian pemberian antibiotik pada penderita ulkus diabetikum karena berdasarkan penelitian sebelumnya disebutkan bahwa prevalensi penderita diabetes yang disertai komplikasi ulkus diabetikum di rumah sakit cukup tinggi. Oleh karena itu peneliti ingin melakukan penelitian tentang perbandingan uji sensitivitas bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada sampel

ulkus pasien Diabetes Melitus di RSUD Dr. Moewardi, mengingat banyaknya kasus penyakit Diabetes Melitus di Rumah Sakit tersebut.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan diatas maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Apakah terdapat *Pseudomonas aeruginosa* pada sampel ulkus pasien Diabetes Melitus di RSUD Dr. Moewardi?
2. Bagaimana sensitivitas *Pseudomonas aeruginosa* dari hasil isolasi sampel ulkus pada pasien Diabetes Melitus di RSUD Dr. Moewardi terhadap antibiotik Amikasin, Gentamisin, Piperasilin, Siprofloksasin, Sefotaksim, dan Imipenem?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk :

1. Mengidentifikasi *Pseudomonas aeruginosa* pada sampel ulkus pasien Diabetes Melitus di RSUD Dr. Moewardi.
2. Mengetahui sensitivitas *Pseudomonas aeruginosa* dari hasil isolasi sampel ulkus pada pasien Diabetes Melitus di RSUD Dr. Moewardi terhadap antibiotik Amikasin, Gentamisin, Piperasilin, Siprofloksasin, Sefotaksim, dan Imipenem.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah :

1. Bagi Peneliti

Menambah wawasan pada bidang mikrobiologi khususnya pemeriksaan uji sensitivitas antibiotik terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

2. Bagi Akademi

- a. Memberikan informasi tentang efektifitas penggunaan antibiotik terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.
- b. Hasil dari penelitian dapat digunakan sebagai bahan pertimbangan untuk penelitian selanjutnya.

3. Bagi Instansi Terkait

Hasil penelitian ini dapat menjadi bahan rekomendasi dalam penggunaan antibiotik terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* di RSUD Dr. Moewardi.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Ulkus Diabetes Melitus

a. Definisi

Diabetes melitus (DM) adalah gangguan metabolisme yang ditandai dengan hiperglikemia yang berhubungan dengan adanya abnormalitas metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein yang disebabkan oleh penurunan sekresi insulin karena sel β pankreas yang rusak (Sukandar *et al.*, 2013). Ulkus diabetik merupakan salah satu komplikasi jangka panjang Diabetes Melitus yang sering terjadi. Pada kehidupan sehari-hari, ulkus diabetik menyebabkan penurunan produktivitas pada pasien Diabetes Melitus. Ulkus Diabetes Melitus adalah luka, tukak, borok atau kerusakan jaringan dalam yang terjadi pada pasien DM berhubungan dengan kelainan saraf dan pembuluh darah tungkai bawah. Luka terbuka ini mengakibatkan bakteri mudah masuk melalui kaki kemudian tumbuh, menyebar, dan terjadi infeksi (Windarti, 2007).

Ulkus diabetik terjadi karena adanya hiperglikemi pada pasien Diabetes Melitus yang kemudian menyebabkan kelainan neuropati dan pembuluh darah. Kelainan neuropati mengakibatkan berbagai perubahan pada kulit dan otot yang kemudian menyebabkan terjadinya perubahan distribusi tekanan pada telapak kaki, selanjutnya mempermudah terjadinya ulkus. Dengan adanya ulkus yang terinfeksi, maka resiko amputasi menjadi

lebih besar (Akbar *et al.*, 2014). Organisme yang biasa di temui pada isolat antara lain *P.aeruginosa*, *E.coli*, *Klebsiella.sp*, *Proteus.sp*, dan *B.fragilis* (Sukandar *et al.*, 2013).

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri patogen oportunistik, salah satu penyebab terjadinya infeksi nosokomial (Natalia, 2008). Angka kejadian infeksi nosokomial di dunia yang disebabkan oleh bakteri *P.aeruginosa* sekitar 10-15% dan sekitar 10-20% pada unit perawatan intensif (ICU), biasanya terjadi pada pasien septikemia, luka bakar, dan infeksi luka (Rustini *et al.*, 2016).

Infeksi nosokomial adalah infeksi yang terjadi di rumah sakit dan menyerang penderita yang sedang dalam proses asuhan keperawatan. Infeksi nosokomial terjadi karena adanya transmisi mikroba patogen yang bersumber dari lingkungan rumah sakit dan perangkatnya. Mikroba patogen melakukan invasi ke penderita dalam kondisi sangat rentan dengan mudah. Dengan penyakit dasar yang ada disertai faktor predisposisi, maka dengan mudah mikroba patogen melakukan invasi melalui beberapa pilihan *port d'entree*, seperti jaringan kulit yang terbuka, hidung dan mulut (Darmadi, 2008).

b. Epidemiologi

Kasus Diabetes Melitus tersebar merata baik di negara maju maupun negara berkembang, termasuk Negara Indonesia. Diabetes Melitus (DM) merupakan salah satu contoh dari penyakit tidak menular yang kasusnya terus meningkat disetiap tahunnya. Terhitung 8,3% penduduk di seluruh

dunia mengalami DM, prevalensi ini meningkat dari tahun 2011 yaitu 7,0% dan diprediksikan pada tahun 2035 prevalensi DM akan meningkat menjadi 10,0% (IDF, 2014). Ulkus DM yang banyak terjadi pada telapak kaki sebesar 15% pada pasien DM (Windarti, 2007).

c. Penggolongan Diabetes Melitus

Pasien Diabetes Melitus digolongkan dalam tiga kategori yaitu Diabetes Melitus tipe 1 disebabkan kekurangan insulin secara absolut yaitu tidak memproduksi insulin akibat rusaknya sel β pankreas. Kerusakan sel β tersebut dapat terjadi pada anak-anak maupun dewasa. Penderita harus mendapat suntikan insulin selama hidupnya sehingga dikenal dengan istilah *Insulin Dependent Diabetes Melitus* (IDDM) atau DM yang tergantung pada insulin (Irianto, 2014).

Kedua Diabetes Melitus tipe 2 yaitu hiperglikemia yang disebabkan insentivitas seluler terhadap insulin atau ketidakmampuan pankreas untuk menghasilkan insulin yang cukup untuk mempertahankan glukosa plasma yang normal. Meskipun insulin yang sedikit menurun atau dalam rentan normal, jumlah insulin tetap rendah sehingga kadar glukosa plasma meningkat. Kondisi ini biasanya terjadi pada penderita yang obesitas (Irianto, 2014).

Ketiga Diabetes Melitus yang timbul pada wanita selama kehamilan di sebut gestasional diabetes. Penyebab diabetes gestasional berkaitan dengan peningkatan kebutuhan energi, kadar estrogen serta hormon pertumbuhan yang terus meningkat selama masa kehamilan. Hormon pertumbuhan dan

estrogen menstimulasi pelepasan insulin yang berlebihan mengakibatkan penurunan responsivitas seluler (Windiarti, 2007).

d. Patofisiologi

Masalah yang timbul pada kaki penderita diabetes diakibatkan oleh gangguan atau kerusakan pada saraf, gangguan atau kerusakan pada pembuluh darah, dan infeksi (Windiarti, 2007, diacu dalam Thoha, 2006). Secara umum, DM disebabkan oleh kerusakan sel β pankreas akibat autoimun sehingga terjadi defisiensi insulin. Reaksi autoimun umumnya terjadi setelah waktu yang panjang (9-13 tahun) dan menyebabkan hiperglikemia karena sel β rusak (Sukandar *et al.*, 2013). Hiperglikemia menyebabkan abnormalitas trombosit dan tingginya agregasi sel darah merah dan menyebabkan sirkulasi darah menjadi lamban terutama pada tungkai bawah kaki, sehingga mempermudah terbentuknya trombus pada dinding arteri yang menyebabkan gangguan sirkulasi darah, hal ini mengurangi pasokan oksigen pada serabut saraf dan menyebabkan neuropati. Jika ada luka sekecil apapun dapat menimbulkan ulkus, kemudian dapat berkembang menjadi nekrosis, bila hal tersebut sulit diatasi maka perlu dilakukan tindakan amputasi (Windiarti, 2007).

e. Gejala Klinik

Lima puluh persen kasus ulkus diabetes akan mengalami infeksi akibat adanya lingkungan gula darah yang subur untuk berkembangnya patogen. Tanda awal ulkus adalah melepuh, diikuti dengan berbagai faktor seperti hilangnya rasa di kaki karena sirkulasi darah yang tidak baik,

kelainan bentuk pada kaki, dan luka berat yang terjadi pada penderita DM yang dapat menimbulkan ulkus. Ulkus ini timbul seperti lubang-lubang yang dangkal atau lubang-lubang dengan warna, ukuran dan kedalaman yang berbeda-beda. Keadaan ini sangat sulit untuk disembuhkan sehingga dapat dilakukan amputasi. Luka tersebut bisa saja terasa sakit yang amat sangat dan pada beberapa kasus dapat menimbulkan bau yang tidak enak (Windiarti, 2007).

f. Pengobatan

Infeksi kaki merupakan bentuk komplikasi paling sering dijumpai pada pasien diabetes. Tanda-tanda dari infeksi umumnya meliputi rasa nyeri, kemerahan, peningkatan suhu dan bengkak. Pemilihan antibiotik empiris direkomendasikan berdasarkan keparahan infeksi. Penggunaan antibiotik pada kasus infeksi sangatlah disarankan, terutama pada infeksi berat. Pada infeksi parah disarankan menggunakan antibiotik spektrum luas dan menunggu hasil pemeriksaan kultur bakteri (Fitriani, 2015).

2. *Pseudomonas aeruginosa*

a. Klasifikasi

Menurut Soedarto (2015) mengemukakan bahwa berdasarkan tingkatan taksonominya *Pseudomonas aeruginosa* digolongkan dalam :

| | |
|---------|-----------------------|
| Kingdom | : Bacteria |
| Phylum | : Proteobacteria |
| Class | : GammaProteobacteria |

Ordo : Pseudomonadales
Family : Pseudomonadaceae
Genus : Pseudomonas
Species : *Pseudomonas aeruginosa*



Gambar 1. *Pseudomonas aeruginosa*

b. Morfologi dan Fisiologi

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri gram negatif berbentuk batang, diameternya 0,5 - 1,5 μm dan panjang 1,5 - 3,0 μm , motil dengan flagella polar tunggal dan ditutupi oleh amplop, tidak membentuk spora, beberapa diantaranya memerlukan nutrisi minimal sebagai sumber karbon atau amonia untuk pertumbuhan. Karakteristik penting dari *P. aeruginosa* yaitu bakteri ini dapat tumbuh pada suhu 40-41°C dan tidak dapat tumbuh pada suhu 4°C (Naffe, 2012). *Pseudomonas aeruginosa* membentuk koloni bulat halus dengan warna fluoresen kehijauan pioverdin (*pyoverdin*) dan dapat memproduksi pigmen kebiruan dan tidak floresen yang disebut piosianin (*pyocyanin*) (Brooks *et al.*, 2005).

c. Struktur dan Tipe Antigen

Mikroorganisme memproduksi berbagai jenis produk melalui metabolisme berbagai jenis substrat. Beberapa dari produk dianggap sebagai racun yang secara alami diproduksi sebagai produk akhir metabolisme. Racun tersebut terakumulasi dalam sel yang disebut sebagai endotoksin atau dikenali dalam media tumbuh sebagai eksotoksin, racun ini dapat berupa molekul peptid kecil atau menjadi protein. (Nafee, 2012). Tiga antigen somatik utama *Pseudomonas aeruginosa* termasuk lipopolisakarida dan eksopolisakarida dengan berat molekul tinggi, dan Pilli.

1) Lipopolisakarida

Lipopolisakarida dari bakteri gram negatif adalah komponen utama dari dinding sel, yang bertanggung jawab dalam membentuk patogenisitas. Organisasi struktural *Pseudomonas aeruginosa* lipopolisakarida mirip dengan *Enterobacteriaceae* terdiri dari tiga wilayah termasuk O-polisakarida, inti oligosakarida dan lipid A (bagian bertanggung jawab untuk toksisitas). Lipopolisakarida adalah agen penyebab utama dari penyakit nosokomial (Nafee, 2012).

2) Eksopolisakarida (Alginat)

Alginat merupakan komponen ekstraseluler penting berlendir pada *Pseudomonas aeruginosa* yang menghambat aktivasi komplemen dan menurunkan fagositosis bakteri berlendir oleh neutrofil dan makrofag. Alginat merupakan faktor virulensi lain yang melindungi bakteri dari kondisi lingkungan dan antibiotik (Nafee, 2012).

3) Pilli dan pelengkap

Pseudomonas aeruginosa memiliki Pilli dan flagela polar yang penting untuk patogenisitas dan mampu mempengaruhi kolonisasi dan bentuk motilitas dalam penyebaran patogen (Nafee, 2012). Pilli atau fimbrae pada *Pseudomonas aeruginosa* yang memanjang dari permukaan sel berfungsi sebagai alat untuk menempel pada sel (Bhumi, 2014).

d. Faktor Virulensi

Pseudomonas aeruginosa merupakan patogen oportunistik yang menyebabkan morbiditas yang luas dan mortalitas pada individu yang *immunocompromised* atau individu yang memiliki kondisi medis yang mendasari seperti saluran kemih, saluran pernafasan, infeksi kulit dan terutama penyebab infeksi nosokomial, yang sering kali kebal terhadap antibiotik dan desinfektan yang umum digunakan (Nafee, 2012). Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* mampu menginfeksi hampir disemua jaringan. Sebagian virulensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* berkontribusi besar pada infeksi luka bakar dan infeksi mata. Faktor yang menonjol dalam faktor virulensi tersebut meliputi Pilli flagella, lipopolisakarida, eksotoksin A dan exoenzim S (Nafee, 2012).

3. Antibiotika

a. Definisi

Pengertian antibiotik secara sempit adalah senyawa yang dihasilkan oleh berbagai jenis mikroorganisme (bakteri, fungi, aktinomisetes) yang

menekan pertumbuhan mikroorganisme lainnya (Hardman and Limbird, 2014). Antibiotika relatif tidak berbahaya bagi manusia dan digunakan untuk mengobati infeksi (Windarti, 2007).

b. Klasifikasi dan Mekanisme Kerja Antibiotik

Secara historis, klasifikasi yang paling umum didasarkan pada struktur kimiannya. Mekanisme antibiotik digolongkan dalam beberapa golongan yaitu :

- 1) Senyawa yang menghambat sintesis dinding bakteri meliputi penisilin dan sefalosporin yang secara struktur mirip seperti sikloserin, vankomisin, basitrasin, dan senyawa antifungi golongan azol (contohnya: klotrimazol, flukonazol, dan itrakonazol).
- 2) Senyawa yang bekerja langsung pada membran sel mikroorganisme, yang dapat memengaruhi permeabilitas dan menyebabkan kebocoran senyawa-senyawa intraseluler yaitu senyawa yang bersifat detergen seperti polimiksin dan senyawa antifungi poliena nistatin serta amfoterisin B yang berikatan dengan sterol-sterol dinding sel.
- 3) Senyawa yang memengaruhi fungsi sub unit ribosom 30S atau 50S sehingga menyebabkan penghambatan sintesis protein yang reversibel, jenis senyawa tersebut meliputi kloramfenikol, golongan tetrasiklin, eritromisin, klindamisin, dan pristinamisin.
- 4) Senyawa yang berikatan dengan subunit ribosom 30S dan mengubah sintesis protein, yang pada akhirnya mengakibatkan kematian sel. Jenis senyawa ini yaitu golongan aminoglikosida.

- 5) Senyawa yang memengaruhi metabolisme asam nukleat bakteri, seperti golongan rifamisin yaitu *rifampin*, yang menghambat RNA polimerase, dan golongan *kuinolon* yang menghambat topoisomerase.
- 6) Kelompok antimetabolit, termasuk diantaranya *trimethoprim* dan *sulfonamide*, yang memblokir enzim yang penting dalam metabolisme folat.
- 7) Senyawa antivirus terdiri atas beberapa golongan diantaranya:
 - a) Analog asam nukleat, seperti *asiklovir* atau *gansiklovir*, yang secara aktif menghambat DNA polimerase virus, serta *zidovudin* atau *lamivudine*, yang menghambat transkriptase balik.
 - b) Inhibitor transkriptase balik non-nukleosida, diantaranya yaitu *nevirapin* atau *efavirenz*.
 - c) Inhibitor enzim-enzim esensial virus lainnya, misalnya inhibitor protease HIV atau neuraminidase influenza.

Kelompok tambahan mungkin bisa muncul seiring dengan ditemukannya mekanisme yang lebih kompleks. Mekanisme kerja pasti dari beberapa senyawa antimikroba masih belum diketahui (Hardman and Limbird, 2014).

c. Penggolongan Antibiotik

1) Imipenem

Imipenem merupakan senyawa β -laktam yang mengandung cincin β -laktam yang menyatu dengan suatu sistem cincin dengan 5-anggota, berbeda dari penisilin karena bentuknya tidak jenuh dan

mengandung suatu atom karbon. Kelompok antibiotik ini memiliki spektrum aktivitas yang lebih luas daripada sebagian besar antibiotik β -laktam lainnya (Hardman and Limbird, 2014).

2) Gentamisin

Gentamisin adalah antibiotik golongan aminoglikosida yaitu senyawa yang penting untuk pengobatan berbagai infeksi basillus gram-negatif yang berat. Gentamisin bekerja dengan cara mengikat secara reversibel terhadap sub unit 30S dari ribosom bakteri dan mengubah sintesis protein sehingga menghambat pertumbuhan bakteri yang pada akhirnya mengakibatkan kematian sel (Hardman and Limbird, 2014).

3) Amikasin

Amikasin adalah kanamisin semisintetik dan lebih resisten terhadap berbagai enzim yang dapat merusak aminoglikosida lain. Amikasin memiliki spektrum aktivitas antimikroba terluas dari golongan aminoglikosida. Amikasin aktif melawan sebagian besar basillus aerob gram-negatif di lingkungan maupun di rumah sakit, termasuk diantaranya adalah sebagian besar galur *P.aeruginosa*, *Serratia*, dan *Proteus* (Nurmala, 2015). Amikasin menjadi obat pilihan untuk pengobatan awal infeksi basillus gram-negatif nosokomial dan bekerja dengan cara mengikat secara reversibel terhadap sub unit 30S dari ribosom bakteri dan mengubah sintesis protein sehingga

menghambat pertumbuhan bakteri yang akhirnya mengakibatkan kematian pada sel (Hardman and Limbird, 2014).

4) Sefotaksim

Sefotaksim merupakan golongan sefalosporin generasi ketiga yang sangat resisten terhadap banyak β -laktamase. Sefalosporin generasi ketiga merupakan obat pilihan untuk infeksi serius akibat adanya infeksi bakteri gram-negatif (Nurmala, 2015). Konsentrasi yang dapat dicapai melebihi konsentrasi hambat minimum untuk sebagian besar isolat yang resisten (Hardman and Limbird, 2014).

5) Piperasilin

Piperasilin memiliki aktivitas antimikroba yang bermanfaat terhadap *P.aeruginosa*, *Klebsiella*, dan beberapa mikroorganisme gram-negatif lainnya. Piperasilin mempunyai spektrum yang lebih luas dari pada ampisilin sehingga dapat meliputi sebagian besar dari galur bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, dan Enterobacteriaceae (yang tidak menghasilkan β -laktamase) (Hardman and Limbird, 2014).

6) Siprofloksasin

Merupakan antibiotik golongan fluorokuinolon, bekerja dengan cara mempengaruhi enzim DNA girase pada bakteri. Untuk infeksi kaki pada diabetes, yang umumnya disebabkan oleh campuran bakteri, termasuk di antaranya gram-negatif, bakteri anaerob, streptokokus, dan stafilocokus, kombinasi fluokinolon dengan senyawa yang memiliki sifat anaerob merupakan pilihan yang baik. Siprofloksasin

sebagai terapi tunggal efektif pada 50% infeksi kaki diabetes (Hardman and Limbird, 2014).

4. Uji Kepekaan Antibiotik

Penentuan mikroba patogen sebagai penyebab penyakit serta tes kepekaan mikroba patogen adalah dua kegiatan yang saling bertautan. Hal ini dilakukan berdasarkan terapi secara empiris, artinya pilihan antibiotik dilakukan berdasarkan perkiraan kemungkinan pada mikroba patogen penyebabnya, dengan dasar pola epidemiologi mikroba patogen setempat. Dengan terapi secara empiris yang dilakukan sedini mungkin di harapkan masih dapat menghambat perkembangan penyakit atau memperkecil resiko komplikasi. Hasil biakan kuman dan tes kepekaan sudah dapat memastikan pilihan antibiotik (Darmadi, 2008).

Tabel 1. Standar Terapi Antibiotika Empirik pada Pasien Ulkus DM

| No | Kondisi klinis | Pilihan Antibiotika Empirik |
|----|----------------|---|
| 1. | Ringan | Doksisiklin, klindamisin, sefalekssin, amoksisilin |
| 2. | Sedang | Sefriakson, tikarsilin, piperasilin, sefuroksim |
| 3. | Berat | Klindamisin, vankomisin, imipenem, dan siprofloksasin |

Windarti (2007).

Pemilihan antibiotik pada infeksi ulkus diabetik harus berdasarkan pada hasil kultur bakteri yang dilanjutkan dengan tes resistensi bakteri terhadap antibiotik. Data yang didapat dari hasil kultur dan resistensi, dapat dijadikan sebagai dasar saat dilakukan terapi empiris. Hal ini dikarenakan

pola bakteri dan resistensi antibiotik tiap daerah dan rumah sakit berbeda. Dengan demikian penggunaan antibiotik empiris yang tepat dapat diberikan untuk menghindari terjadinya komplikasi yang lebih luas, biaya yang tidak perlu, dan perawatan yang lama (Akbar *et al.*, 2014).

Metode uji kepekaan antibiotik yang sangat luas digunakan yaitu metode difusi lempengan agar juga sering disebut uji difusi agar *Kirby-Bauer*. Uji kepekaan dapat dilakukan dengan memaparkan biakan murni pada agar mikroorganisme yang diuji terhadap suatu disk antibiotik yang berisi sejumlah agen antimikroba tertentu. Disk antibiotik kemudian diletakkan pada lempengan agar, difusi agen dari lempengan menghasilkan kadar agen yang makin menurun dan menghambat mikroorganisme rentan sampai mencapai populasi tertentu (Fahmi, 2016).

B. Landasan Teori

Diabetes Melitus (DM) adalah gangguan metabolisme yang ditandai dengan hiperglikemia yang berhubungan dengan abnormalitas metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein yang disebabkan oleh penurunan sekresi insulin (Sukandar *et al.*, 2013). Ulkus DM yang banyak terjadi pada telapak kaki sebesar 15% pada pasien DM (Windarti, 2007). Ulkus diabetik terjadi karena adanya hiperglikemi pada pasien Diabetes Melitus yang kemudian menyebabkan kelainan neuropati dan pembuluh darah. Kelainan neuropati mengakibatkan berbagai perubahan pada kulit dan otot yang kemudian menyebabkan terjadinya perubahan distribusi tekanan pada telapak kaki dan

selanjutnya mempermudah terjadinya ulkus. Dengan adanya ulkus yang terinfeksi, maka resiko amputasi menjadi lebih besar (Akbar *et al.*, 2014).

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri patogen oportunistik, salah satu penyebab terjadinya infeksi nosokomial. Angka kejadian infeksi nosokomial di dunia yang disebabkan oleh bakteri *P.aeruginosa* sekitar 10-15% dan sekitar 10-20% pada unit perawatan intensif (ICU), biasanya terjadi pada pasien sepsis, luka bakar, dan infeksi luka (Rustini *et al.*, 2016).

Infeksi kaki merupakan bentuk komplikasi paling sering dijumpai pada pasien diabetes. Pemilihan antibiotik empiris direkomendasikan berdasarkan keparahan infeksi. Penggunaan antibiotik pada kasus infeksi sangatlah disarankan, terutama pada infeksi berat. Pada infeksi parah disarankan menggunakan antibiotik spektrum luas dan menunggu hasil kultur bakteri (Farida, 2016).

Beberapa antibiotik pilihan yang digunakan dalam pengobatan suatu infeksi yaitu Imipenem merupakan senyawa β -laktam memiliki spektrum aktivitas yang lebih luas daripada sebagian besar antibiotik β -laktam lainnya. Gentamisin adalah antibiotik golongan aminoglikosida yaitu senyawa yang penting untuk pengobatan berbagai infeksi basilus gram-negatif yang berat (Hardman and Limbird, 2014).

Amikasin adalah kanamisin semisintetik dan lebih resisten terhadap berbagai enzim yang dapat merusak aminoglikosida lain. Amikasin aktif melawan sebagian besar basilus aerob gram-negatif di lingkungan maupun

di rumah sakit, termasuk diantaranya adalah sebagian besar galur *P.aeruginosa*, *Serratia*, dan *Proteus*. Sefotaksim merupakan golongan sefalosporin generasi ketiga merupakan obat pilihan untuk infeksi serius akibat adanya infeksi bakteri Gram-negatif (Nurmala, 2015).

Piperasilin memiliki aktivitas antimikroba yang bermanfaat terhadap *P.aeruginosa*, *Klebsiella*, dan beberapa mikroorganisme Gram-negatif lainnya. Siprofloksasin merupakan antibiotik golongan fluorokuinolon umumnya disebabkan oleh campuran bakteri, termasuk di antaranya Gram-negatif, Siprofloksasin sebagai terapi tunggal efektif pada 50% infeksi kaki diabetes (Hardman and Limbird, 2014).

C. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah :

1. Terdapat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada sampel ulkus pasien Diabetes Melitus di RSUD Dr. Moewardi.
2. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sensitif terhadap antibiotik Amikasin, Gentamisin, Piperasilin, Siprofloksasin, Sefotaksim, dan Imipenem.

BAB III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari - Mei 2017. Tempat penelitian yang digunakan untuk penelitian yaitu di bagian laboratorium mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta.

B. Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian analitik observasional dengan pendekatan *cross sectional*.

C. Populasi dan Sampel

Subjek penelitian ini adalah *Pseudomonas aeruginosa*. Sedangkan Objek pada penelitian ini adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang berasal dari ulkus pasien Diabetes Melitus.

1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang berasal dari ulkus pasien Diabetes Melitus di RSUD Dr. Moewardi Surakarta.

2. Sampel

Sampel yang digunakan adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang berasal dari ulkus pasien Diabetes Melitus di RSUD Dr. Moewardi Surakarta.

3. Jumlah Sampel

Jumlah sampel yang diinginkan dalam penelitian ini dihitung berdasarkan jumlah populasi tertentu dengan rumus perhitungan besar sampel dari populasi yang diketahui jumlahnya (Sugiyono, 2013).

$$\text{Rumus : } S = \frac{\lambda^2 \cdot N \cdot P \cdot Q}{d^2 \cdot (N-1) + \lambda^2 \cdot P \cdot Q}$$

Keterangan :

S = Ukuran Sampel

N = Ukuran populasi yaitu sampel minimal 30

λ^2 = Harga tabel chi kuadrat dengan dK = 1, Kesalahan 5% = 3,481

P = Proporsi dalam populasi

Q = 0,5

d^2 = ketelitian (error) = 0,005

Berdasarkan rumus untuk menghitung ukuran sampel dari populasi diatas, maka besar sampel minimal yang dapat digunakan dalam penelitian ini dapat ditentukan sebagai berikut :

$$S = \frac{\lambda^2 \cdot N \cdot P \cdot Q}{d^2 \cdot (N-1) + \lambda^2 \cdot P \cdot Q}$$

$$S = \frac{3,481 \times 30 \times 0,5 \times 0,5}{0,005^2 \times (30-1) + 3,481 \times 0,5 \times 0,5}$$

$$S = \frac{26,1065}{0,94275}$$

$$S = 27,69 \rightarrow 28 \text{ (batas minimal)}$$

Dari hasil perhitungan di atas dapat dilihat bahwa besar sampel minimal yang dapat digunakan dalam penelitian ini yaitu sebanyak 28.

D. Variable Penelitian

1. Identifikasi Variabel Utama

- a) Variabel utama dalam penelitian ini adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang berasal dari ulkus pasien Diabetes Melitus di RSUD Dr. Moewardi Surakarta pada bulan Maret 2017.
- b) Variabel utama kedua adalah diameter zona hambat beberapa antibiotik terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang berasal dari ulkus pasien Diabetes Melitus.

2. Klasifikasi Variabel Utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini yaitu isolat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan isolat ulkus pasien Diabetes Melitus. Variabel terikat dalam penelitian ini yaitu hasil uji sensitivitas bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

3. Definisi operasional Variabel Utama

- a. Media pemisahan dan pemurnian bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dari sampel ulkus pasien Diabetes Melitus ditumbuhkan dalam media cair dan media padat.

- b. Uji sensitivitas merupakan uji kepekaan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* terhadap suatu antibiotik menggunakan metode difusi yang dapat dilihat dari diameter zona hambat kemudian dibandingkan dengan *Zone Diameter Interpretasi Standars* dan diukur dalam skala rasio dengan satuan millimeter.

E. Bahan dan Alat

1. Bahan

- a. Sampel : Ulkus pasien Diabetes Melitus di RSUD Dr. Moewardi
- b. Kultur dan Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa*

Bahan yang di gunakan yaitu medium *Brain Heart Infusion* (BHI), medium *Pseudomonas Selective Agar* (PSA), medium *Kligler Iron Agar* (KIA), medium *Sulfida Indol Motility* (SIM), medium *Lysine Iron Agar* (LIA), medium Citrat, NaCl 0.9%, cat Gram A (Kristal violet), Gram B (Lugol Iodin), Gram C (Alkohol), Gram D (Safranin), *Emersi oil*, *xylol*.

- c. Uji sensitivitas antibiotik

Bahan yang di gunakan yaitu medium *Mueller Hinton Agar* (MHA) dan disk antibiotik imipenem, amikasin, gentamisin, sefotaksim, piperasilin, siprofloksasin.

2. Alat

Alat yang digunakan yaitu botol penampung spesimen, rak tabung reaksi, tabung reaksi, cawan petri, *beaker glass*, inkas, objek glass,

mikroskop, pinset, pembakar spirtus, jarum ose, jarum ent, kapas lidi steril, *incubator*, *autoclave*.

F. Prosedur Penelitian

1. Pengambilan sampel

Ulkus dari pasien Diabetes Melitus diambil menggunakan kapas lidi steril yang sudah dibasahi dengan NaCl fisiologis dengan cara diusapkan kemudian dimasukan kedalam tabung *culture swab*.

2. Pembuatan Media

a. Pembuatan Medium *Pseudomonas Selective Agar* (PSA)

Medium *Pseudomonas Selective Agar* (PSA) dibuat dengan cara menimbang 45,03 gram bubuk *Pseudomonas Selective Agar* (PSA), kemudian ditambahkan Aquadest steril sebanyak 1000 ml, medium dihomogenkan dan dipanaskan hingga mendidih. Setelah itu dilakukan sterilisasi dengan cara dimasukkan kedalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian medium dituangkan kedalam cawan petri dan biarkan sampai memadat sampai siap dipakai.

b. Pembuatan Medium *Brain Heart Infusion* (BHI)

Medium *Brain Heart Infusion* (BHI) dibuat dengan cara menimbang bubuk *Brain Heart Infusion* (BHI) sebanyak 1,85 gram kemudian ditambahkan Aquadest steril sebanyak 50 ml, homogenkan. Medium yang sudah homogen dituang dalam tabung reaksi 5 ml dan ditutup dengan kapas. Kemudian dimasukkan kedalam *autoclave* pada

suhu 121°C selama 15 menit, biarkan dingin dan masukkan dalam lemari es.

c. Pembuatan Medium *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Medium *Mueller Hinton Agar* (MHA) dibuat dengan menimbang bubuk *Mueller Hinton Agar* (MHA) sebanyak 19 gram kemudian ditambahkan Aquadest steril sebanyak 500 ml setelah itu dihomogenkan dan dipanaskan hingga mendidih. Medium yang sudah mendidih dituangkan dalam tabung reaksi 10 ml dan tutup dengan kapas. Kemudian dimasukkan kedalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit yang kemudian dituangkan kedalam cawan petri berdiameter 15 cm. Biarkan memadat dan simpan dalam lemari es.

d. Pembuatan Medium *Kligler Iron Agar* (KIA)

Medium *Kligler Iron Agar* (KIA) dibuat dengan cara menimbang bubuk *Kligler Iron Agar* (KIA) sebanyak 2,75 gram kemudian ditambahkan Aquadest steril sebanyak 50 ml setelah itu dihomogenkan dan dituang dalam tabung reaksi 5 ml kemudian tutup dengan kapas. Masukkan medium dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit, tabung dimiringkan sehingga medium membentuk lereng dan dasar. Biarkan medium dingin, kemudian masukkan dalam lemari es.

e. Pembuatan Medium *Sulfida Indol Motility* (SIM)

Medium *Sulfida Indol Motility* (SIM) dibuat dengan cara menimbang bubuk *Sulfida Indol Motility* (SIM) sebanyak 1,5 gram

kemudian ditambahkan Aquadest steril sebanyak 50 ml setelah itu dihomogenkan dan dituang dalam tabung reaksi 3 ml kemudian tutup dengan kapas. Masukkan medium dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Biarkan medium dingin dalam keadaan posisi tegak, kemudian dimasukkan dalam lemari es.

f. Pembuatan Medium *Lysine Iron Agar* (LIA)

Medium *Lysine Iron Agar* (LIA) dibuat dengan cara menimbang bubuk *Lysine Iron Agar* (LIA) sebanyak 1,6 gram kemudian tambahkan Aquadest steril 50 ml setelah itu medium dihomogenkan dan tuang dalam tabung reaksi 5 ml kemudian tutup dengan kapas. Masukkan medium dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Tabung dimiringkan sehingga medium akan membentuk lereng dan dasar. Biarkan medium dingin kemudian masukkan dalam lemari es.

g. Pembuatan Medium *Simmons Citrate Agar* (Citrat)

Medium *Simmons Citrate Agar* (Citrat) dibuat dengan cara menimbang bubuk *Simmons Citrate Agar* (Citrat) sebanyak 1,15 gram kemudian ditambahkan Aquadest steril sampai batas 50 ml setelah itu medium dihomogenkan dan dituang dalam tabung reaksi 3 ml kemudian tutup dengan kapas. Masukkan medium dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit dan miringkan tabung sehingga medium akan membentuk lereng dan dasar. Biarkan medium dingin, kemudian masukkan dalam lemari es.

3. Sterilisasi

a. Sterilisasi Medium

Medium yang telah dibuat dimasukkan kedalam *autoclave*. Pastikan penutup pada autoclave telah tertutup dengan rapat. Nyalakan kompor dan lakukan sterilisasi medium pada suhu 121°C, pertahankan pada suhu 121°C tersebut selama 15 menit. Setelah itu matikan kompor, tunggu suhu dan tekanan pada *autoclave* menurun, kemudian buka penutup *autoclave*. Medium dibiarkan dingin, kemudian masukkan dalam lemari es.

b. Sterilisasi Alat

Alat-alat gelas yang telah dipakai direbus dengan menggunakan desinfektan selama \pm 10-15 menit. Cuci dengan sabun sampai bersih dan tiriskan. Kemudian alat - alat tersebut di sterilisasi dalam oven selama \pm 3 menit. Alat-alat yang telah di oven kemudian disimpan pada tempat yang kering.

4. Pemeriksaan secara Mikrobiologi

a. Hari Pertama

- 1) Sampel diinokulasikan secara goresan menggunakan kapas lidi steril dan jarum ose steril pada medium *Pseudomonas Selective Agar* (PSA).
- 2) Media diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 – 24 jam.

b. Hari Kedua

- 1) Pertumbuhan koloni diamati pada medium *Pseudomonas Selective Agar* (PSA), hasil positif jika terdapat pigmen *pyocyanin* (hijau-biru) dan pigmen *pyoverdin* (hijau-kuning).
- 2) Koloni yang tumbuh di lanjutkan ke medium cair *Brain Heart Infusion* (BHI) dan uji biokimia yaitu pada medium *Kligler Iron Agar* (KIA) dengan cara tusuk gores, medium *Sulfida Indol Motility* (SIM) dengan cara ditusuk, medium *Lysine Iron Agar* (LIA) dengan cara tusuk gores, medium Citrat dengan cara digores.
- 3) Media diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 – 24 jam.

c. Hari Ketiga

- 1) Pembacaan hasil :
 - a.) Hasil pada medium *Brain Heart Infusion* (BHI) ditandai dengan terjadinya kekeruhan yang disetarakan dengan larutan standar Mac Farland $1,5 \times 10^8$ cfu/ml, jika medium BHI terjadi kekeruhan maka dilanjutkan dengan melakukan pengecatan Gram.
 - b.) Pengecatan Gram : koloni bakteri yang telah dibuat preparat ditetesi dengan Gram A (Kristal violet) dengan waktu 60 detik, kemudian Gram B (Lugol Iodin) 60 detik, preparat dicuci dengan Gram C (Alkohol-aseton) selama 15-30 detik, warnai kembali dengan Gram D (Safranin) dengan waktu 60 detik, kemudian bilas dan keringkan. Hasil dilihat dibawah

mikroskop dengan perbesaran 100x. Hasil pengecatan Gram pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yaitu bersifat Gram negatif yang berwarna merah dan berbentuk batang.

- c.) Pembacaan hasil uji biokimia pada medium *Kligler Iron Agar* (KIA) yaitu menunjukkan hasil (K/K S-), pada medium *Sulfida Indol Motility* (SIM) menunjukkan hasil (- - +), sedangkan pada medium *Lysine Iron Agar* (LIA) akan menunjukkan hasil (K/K S-), dan medium Citrat menunjukkan hasil (+).

2) Uji sensitivitas Antibiotik

Pengujian sensitivitas terhadap antibiotik dilakukan secara difusi dengan cakram *Kirby-Bauer* :

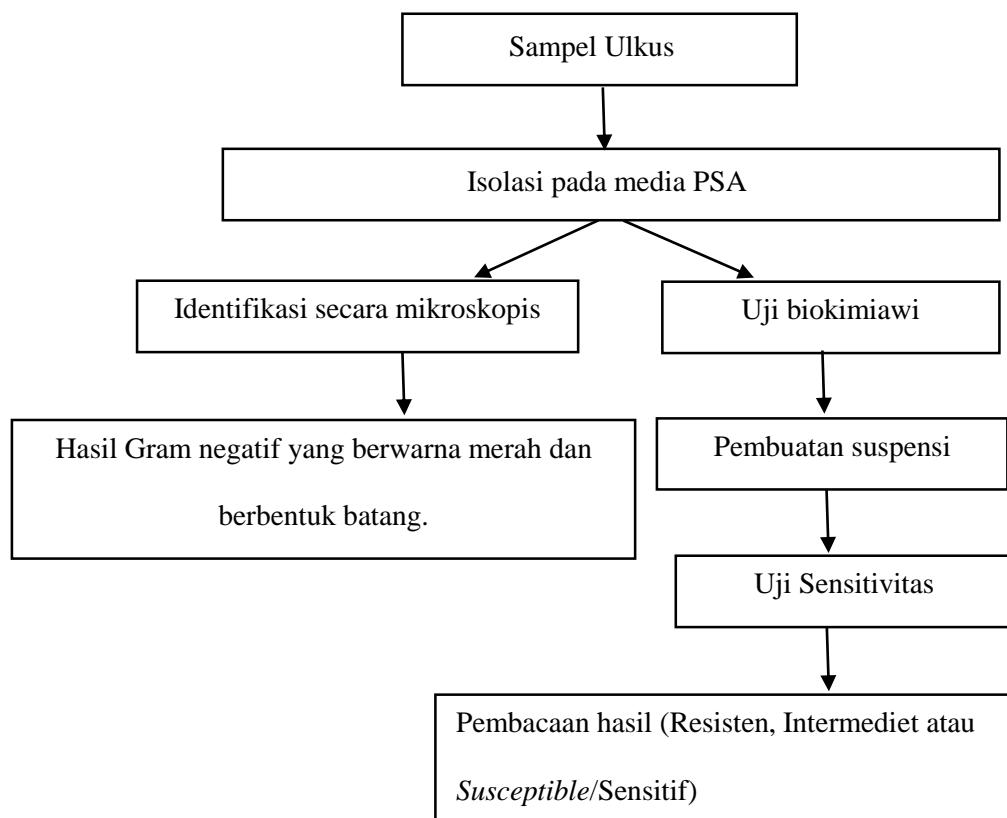
- a) Medium *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang telah dicairkan dituang ke dalam cawan petri steril dengan ketebalan 4 – 5 mm dan tunggu hingga memadat.
- b) Biakan *Pseudomonas aeruginosa* diambil dari medium *Brain Heart Infusion* (BHI) dengan menggunakan kapas lidi steril, kemudian goreskan pada medium *Mueller Hinton Agar* (MHA).
- c) Medium didiamkan selama 5-10 menit pada suhu kamar agar suspensi biakan terdifusi ke dalam media.
- d) Cakram antibiotik diletakkan menggunakan pinset steril pada medium *Mueller Hinton Agar* (MHA) dengan memperhatikan jarak masing-masing disk.

- e) Medium *Mueller Hinton Agar* (MHA) diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

d. Hari keempat

- 1) Pengamatan hasil uji sensitivitas antibiotik dilihat adanya zona jernih dan diukur diameter zona hambatan yang terjadi pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA).
- 2) Hasil pengukuran dirujuk pada tabel *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) untuk menentukan sifat mikrobnnya dengan menyimpulkan apakah Resisten, Intermediet atau *Susceptible/Sensitif*.

5. Kerangka Penelitian



Gambar 2. Kerangka Penelitian

G. Teknik Analisis Data

Data yang didapat dari hasil uji sensitivitas antibiotik terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dari sampel ulkus pasien Diabetes Melitus di RSUD Dr. Moewardi pada bulan Februari - Maret 2017 secara difusi di analisis dengan membandingkan diameter zona hambat dengan standar diameter zona hambat menurut CLSI (*Clinical Laboratory Standards Institute*).

BAB IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Isolasi *Pseudomonas aeruginosa* dari sampel ulkus pasien Diabetes Melitus

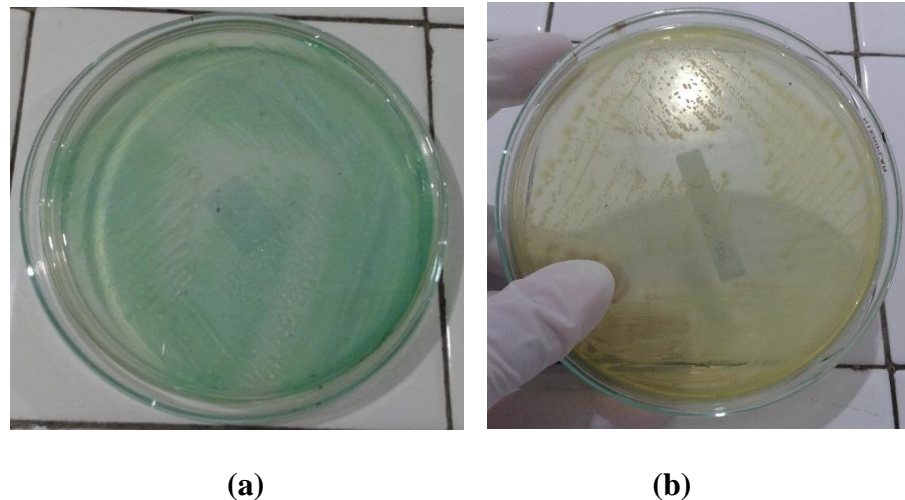
Sampel ulkus diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi RSUD Dr. Moewardi. Sampel diambil dengan cara *swab* menggunakan kapas lidi. Setelah itu, kapas lidi dimasukkan dalam media transport. Sampel ulkus pasien Diabetes Melitus dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Sampel ulkus pasien Diabetes Melitus

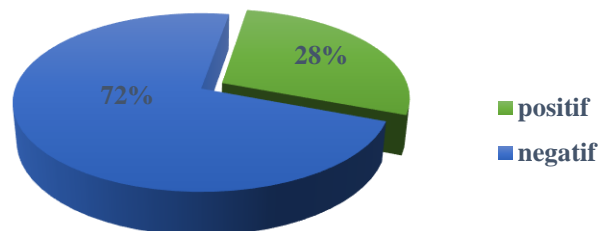
Sampel kemudian di inokulasikan pada media *Pseudomonas Selektif Agar* (PSA) dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Hasil dari isolasi sampel ulkus pada media *Pseudomonas Selektif Agar* (PSA) menunjukkan 14 sampel ulkus positif terdapat *Pseudomonas aeruginosa* yang diambil dari 50 sampel ulkus yang diisolasi. Hasil positif ini ditandai dengan

adanya pigmen *pyocyanin* (biru-hijau) dan pigmen *pyoverdin* (hijau-kuning). Hasil isolasi sampel ulkus pasien Diabetes Melitus pada medium *Pseudomonas Selektif Agar* (PSA) dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Medium PSA yang menunjukkan hasil (a) pigmen *pyocyanin* (biru-hijau) dan (b) pigmen *pyoverdin* (hijau-kuning).

Diagram hasil isolasi *Pseudomonas aeruginosa* dari sampel ulkus pasien Diabetes Melitus pada medium PSA (*Pseudomonas Selektif Agar*) dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5. Diagram hasil isolasi *Pseudomonas aeruginosa* dari sampel ulkus pasien Diabetes Melitus pada medium PSA (*Pseudomonas Selektif Agar*)

Pada penelitian ini diperoleh hasil positif bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dari sampel ulkus pasien Diabetes Melitus sebesar 28% (14). Pada penelitian sebelumnya oleh Rieuwpassa *et al.*, (2011) dari 23 sampel yang di isolasi ditemukan *P.aeruginosa* sebesar 35% (8), sedangkan pada penelitian Sharma dan Srivastava, (2016) dari total 654 spesimen klinis diselidiki tingkat isolasi *P.aeruginosa* adalah 19,26% (126).

Hasil penelitian lainnya yang dilakukan Rustini *et al.*, (2016) menunjukkan hasil 24% (19) dari 79 isolat *P.aeruginosa*. Prevalensi tingkat *P.aeruginosa* dapat bervariasi pada setiap lingkungan rumah sakit dan merupakan bakteri patogen oportunistik yang pada umumnya menginfeksi pasien yang mengalami penurunan sistem imun, dan dapat terjadi karena adanya infeksi nosokomial. Angka kejadian infeksi nosokomial di dunia yang disebabkan oleh bakteri *P.aeruginosa* sekitar 10-15% dan sekitar 10-20% pada unit perawatan intensif (ICU) (Natalia, 2008). Hasil isolasi *Pseudomonas aeruginosa* dari sampel ulkus pasien Diabetes Melitus pada medium PSA (*Pseudomonas Selektif Agar*) dapat dilihat pada tabel 3.

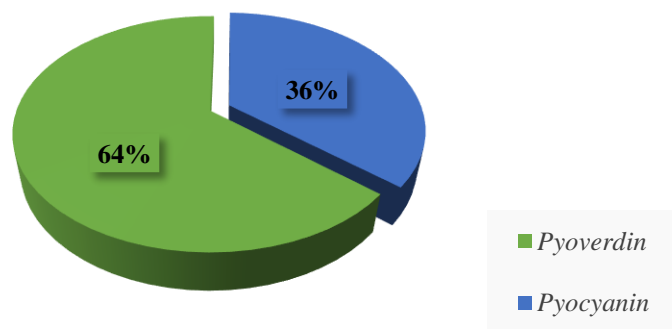
Tabel 3. Hasil isolasi *Pseudomonas aeruginosa* dari sampel ulkus pasien Diabetes Melitus pada medium PSA (*Pseudomonas Selektif Agar*)

| No sampel | Nama sampel | Pigmen Koloni | Keterangan |
|-----------|-------------|---------------|------------------------|
| 4 | 511P | Pyoverdin | Warna hijau kekuningan |
| 9 | 629P | Pyocyanin | Warna hijau biru |
| 10 | 647P | Pyocyanin | Warna hijau biru |
| 13 | 655P | Pyoverdin | Warna hijau kekuningan |
| 17 | 723P | Pyoverdin | Warna hijau kekuningan |
| 20 | 772P | Pyocyanin | Warna hijau biru |
| 22 | 815P | Pyoverdin | Warna hijau kekuningan |
| 23 | 827P | Pyoverdin | Warna hijau kekuningan |

Lanjutan Tabel 3.

| No sampel | Nama sampel | Pigmen Koloni | Keterangan |
|-----------|-------------|---------------|------------------------|
| 32 | 80P | Pyoverdin | Warna hijau kekuningan |
| 38 | 187P | Pyoverdin | Warna hijau kekuningan |
| 42 | 236P | Pyocyanin | Warna hijau biru |
| 45 | 362P | Pyoverdin | Warna hijau kekuningan |
| 46 | 384P | Pyoverdin | Warna hijau kekuningan |
| 48 | 391P | Pyocyanin | Warna hijau biru |

Diagram hasil pigmen *pyocyanin* dan pigmen *pyoverdin* dapat dilihat pada gambar 6.



Gambar 6. Diagram hasil pigmen *pyocyanin* dan pigmen *pyoverdin*

Pseudomonas aeruginosa menghasilkan dua tipe pigmen yang larut, yaitu blue pigment *pyocyanin* dan fluorescent pigment *pyoverdin*. *Pyoverdin* sangat banyak diproduksi pada media rendah besi dan dapat berperan dalam metabolisme besi pada kuman. *Pyocyanin* (pus biru) merupakan ciri infeksi supuratif dari *P. aeruginosa*. *Pyocyanin* tidak berfluoresensi serta larut dalam air. Kebanyakan strain membentuk koloni halus bulat dengan warna fluoresensi kehijauan, yang merupakan kombinasi *pyoverdin* dan *pyocyanin*. Identifikasi adanya pigmen *pyosianin* dan fluoresen (*green-yellow*, *fluoresen*)

pada biakan akan menimbulkan bau fruity smell (Rieuwpassa *et al.*, 2011). *Pseudomonas aeruginosa* tumbuh dengan baik pada suhu 37-42°C. Pertumbuhannya pada suhu 42°C membantu membedakannya dari spesies *Pseudomonas* lain dalam kelompok fluoresen (Mayasari, 2005).

Media *Pseudomonas Agar* merupakan media awal yang diusulkan oleh King, Ward, dan Raney (1954) untuk mengisolasi dan membedakan *Pseudomonas* berdasarkan pembentukan *pyosianin* atau materi *fluoresin*. Media ini mengalami perkembangan dan modifikasi oleh Brown dan Lowbury (1965) sehingga sekarang digunakan untuk isolasi dan diferensiasi pada *P.aeruginosa* dari berbagai bakteri lain. Nama media ini menjadi *Pseudomonas Selective Agar Base* (Bhumi, 2014).

B. Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa*

1. Mikroskopis

Uji morfologi dilakukan dengan pewarnaan gram dari setiap koloni yang terduga. Pengecatan Gram bertujuan untuk melihat bentuk dan sifat pewarnaan mikroorganisme uji. Pengecatan ini memiliki kemampuan untuk membedakan dua golongan besar bakteri yaitu bakteri Gram negatif dan bakteri Gram positif. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* diamati dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran 1000x. Pengecatan Gram merupakan pengecatan diferensial yang digunakan secara luas dalam bakteriologi. Larutan yang digunakan dalam pengecatan Gram adalah larutan kristal violet (Gram A), lugol iodine (Gram B), alkohol aseton (Gram C) dan

Safranin (Gram D). Keempat larutan tersebut memiliki fungsi masing-masing (Hajar, 2012).

Larutan kristal violet berperan sebagai cat utama yang mewarnai sel bakteri menjadi ungu. Larutan lugol iodine berfungsi sebagai mordant yang meningkatkan interaksi antara sel bakteri dan cat utama. Larutan alkohol aseton bertindak sebagai *decolorizer* yang akan mencuci kompleks kristal violet dan iodine. Bakteri Gram positif akan tetap mempertahankan kompleks kristal violet dan iodine, sedangkan bakteri Gram negatif akan menjadi tidak berwarna. Larutan Safranin berperan sebagai *counterstain* yang akan memberikan warna merah pada sel bakteri. Safranin akan memberi warna pada bakteri Gram negatif (Hajar, 2012).

Hasil akhir dari pengecatan Gram yaitu bakteri Gram positif akan berwarna ungu, sedangkan bakteri Gram negatif akan berwarna merah. Hasil Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada pengecatan Gram dapat dilihat pada gambar 7.



Gambar 7. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada pengecatan Gram.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa *Pseudomonas aeruginosa* merupakan jenis bakteri Gram negatif yaitu berwarna merah dan berbentuk batang lurus atau lengkung. Berukuran sekitar $0,6 \times 2 \mu\text{m}$, dapat ditemukan satu-satu, berpasangan, dan kadang membentuk rantai pendek, serta tidak mempunyai spora. Dinding sel bakteri Gram negatif memiliki peptidoglikan yang lebih tipis dan secara struktural lebih kompleks dibandingkan dengan bakteri Gram positif. Struktur utama Gram negatif adalah membran luar atau lipopolisakarida, peptidoglikan yang tipis, dan membran yang dalam. Lipopolisakarida tersusun atas karbohidrat dan lipid (Mayasari, 2005).

2. Uji Biokimia

Uji biokimia dilakukan pada media *Kliger's Iron Agar* (KIA), media *Sulphide Indole Motilitas* (SIM), media *Lysine Indole Agar* (LIA), dan media Citrat untuk memastikan bahwa bakteri yang tumbuh pada media *Pseudomonas Selektif Agar* (PSA) tersebut merupakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil positif *Pseudomonas aeruginosa* pada uji biokimia dapat dilihat pada gambar 8.



Gambar 8. Hasil positif *Pseudomonas aeruginosa* pada Uji Biokimia.

Uji biokimia bertujuan untuk mengidentifikasi suatu biakan hasil isolasi melalui sifat fisiologisnya. Bakteri memerlukan energi untuk kelangsungan hidupnya. Energi tersebut dapat diperoleh dari lingkungan sekitar dalam bentuk senyawa kimia tertentu yang dapat di urai (Hajar, 2012). Uji pada media *Kliger's Iron Agar* (KIA) menunjukkan hasil positif, ini ditandai dengan tidak ada perubahan warna pada media. Tujuan uji biokimia menggunakan media *Kliger's Iron Agar* (KIA) adalah untuk mengetahui adanya produksi sulfida, asam, dan gas, sedangkan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* tidak memproduksi sulfida, asam, maupun gas, hal ini ditandai dengan tidak terbentuknya endapan hitam pada media yang merupakan hasil reaksi antara ion S^{2-} dan ion Fe^{3+} . Tidak adanya perubahan warna pada media menunjukkan bahwa bakteri *Pseudomonas aeruginosa* tidak dapat memfermetasi glukosa dan laktosa yang terdapat dalam media asam yang dapat mengubah warna media dari merah menjadi kuning (Stefani, 2016).

Sulphide Indole Motilitas (SIM) adalah media agar semisolid yang digunakan untuk menentukan hidrogen sulfida (H_2S), pembentukan indol, motilitas, dan sulfur dapat direduksi menjadi H_2S baik oleh katabolisme asam amino sistem oleh sistem enzim dengan pengurangan thiosulfat dalam respirasi anaerobik jika H_2S diproduksi maka warna hitam akan terbentuk di media. Pada uji indol bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menunjukan hasil positif dengan ditandai terbentuknya cincin berwarna merah setelah ditetesi 5 tetes reagen *Erlich A* dan *Erlich B*, terbentuknya cincin berwarna merah tersebut dikarenakan reaksi antara indole + piruvat + NH_3 + reagen *Erlich*

yang membentuk *para-dmetil-aminobenzaldehid* yang berwarna merah, sedangkan kekaburan yang menyebar dari garis yang menusuk menunjukkan tes positif untuk motilitas (Watson, 2012).

Tujuan uji biokimia pada media *Lysine Iron Agar* (LIA) adalah untuk mengetahui terbentuknya sulfida, deaminasi lisin dan dekarboksilasi lisin. hasil uji ini menandakan bahwa bakteri ini tidak mereduksi Natrium thiosulfat dalam media sehingga tidak membentuk FeS atau endapan hitam. *Pseudomonas aeruginosa* tidak dapat melakukan deaminasi lisin dan dekarboksilasi lisin yang di tandai dengan tidak adanya perubahan warna pada media, sehingga media tetap berwarna ungu (Stefani, 2016).

Tujuan uji pada media Citrat adalah untuk mengetahui apakah bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan Citrat sebagai sumber karbon. Pada media Citrat berisi indikator BTB (*Brom Tymol Blue*), apabila bakteri menggunakan Citrat sebagai sumber karbon maka media berubah menjadi basa dan berubah warna menjadi biru (Stefani, 2016).

Tabel 4. Hasil Uji Biokimia.

| No sampel | Nama sampel | Uji Biokimia | | | |
|-----------|-------------|-----------------------|------------------|--------------------------|---------|
| | | KIA ^a | SIM ^b | LIA ^c | CITRAT |
| 4 | 511P | *(K/K ^{S-}) | **(--+) | *** (K/K ^{S-}) | ****(+) |
| 9 | 629P | *(K/K ^{S-}) | **(-++) | *** (K/K ^{S-}) | ****(+) |
| 10 | 647P | *(K/K ^{S-}) | **(--+) | *** (K/K ^{S-}) | ****(+) |
| 13 | 655P | *(K/K ^{S-}) | **(-++) | *** (K/K ^{S-}) | ****(+) |
| 17 | 723P | *(K/K ^{S-}) | **(--+) | *** (K/K ^{S-}) | ****(+) |

Lanjutan Tabel 4.

| No sampel | Nama sampel | Uji Biokimia | | | |
|-----------|-------------|-----------------------|------------------|--------------------------|---------|
| | | KIA ^a | SIM ^b | LIA ^c | CITRAT |
| 20 | 772P | *(K/K ^{S-}) | **(- - -) | *** (K/K ^{S-}) | ****(+) |
| 22 | 815P | *(K/K ^{S-}) | **(-++) | *** (K/K ^{S-}) | ****(+) |
| 23 | 827P | *(K/K ^{S-}) | **(-++) | *** (K/K ^{S-}) | ****(+) |
| 32 | 80P | *(K/K ^{S-}) | **(-++) | *** (K/K ^{S-}) | ****(+) |
| 38 | 187P | *(K/K ^{S-}) | **(-++) | *** (K/K ^{S-}) | ****(+) |
| 42 | 236P | *(K/K ^{S-}) | **(-++) | *** (K/K ^{S-}) | ****(+) |
| 45 | 362P | *(K/K ^{S-}) | **(-++) | *** (K/K ^{S-}) | ****(+) |
| 46 | 384P | *(K/K ^{S-}) | **(- - -) | *** (K/K ^{S-}) | ****(+) |
| 48 | 391P | *(K/K ^{S-}) | **(-++) | *** (K/K ^{S-}) | ****(+) |

Keterangan :

^a : *Kliger's Iron Agar*

^b : *Sulphide Indole Motility*

^c : *Lysine Iron Agar*

* : (K)warna merah (K)warna merah (^{S-})tidak terbentuk endapan hitam

** : (-) tidak terbentuk warna hitam atau sulfide (-) tidak terbentuk warna merah setelah ditetesi reagen erlich A dan B (1:1) (-) tidak terjadi penyebaran / Motil (-)

*** : (K)warna ungu (K)warna ungu (^{S-})tidak terbentuk endapan hitam

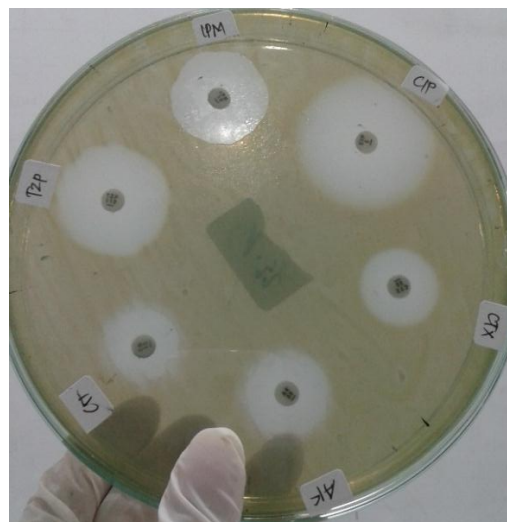
****: (+) terbentuk warna biru.

C. Uji Sensitivitas

Diameter hambat pertumbuhan bakteri dilihat dari daerah jernih disekitar cakram. Luas diameter zona hambat berbanding lurus dengan aktivitas antibakteri tersebut (Rustiniet *al.*, 2016). Pola kerentanan suatu

antimikroba dari masing-masing isolat dilakukan dengan metode difusi cakram *Kirby-Bauer* sesuai pedoman *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Fluoresensi kehijauan atau kuning kehijauan setelah diinkubasi selama 24 jam menandakan isolat positif dari *P.aeruginosa*. Pengujian aktivitas antibiotik menggunakan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) (Lubis *et al.*, 2016). Hasil uji sensitivitas *Pseudomonas aeruginosa* terhadap antibiotik imipenem (10 µg), amikasin (30 µg), gentamisin (10 µg), sefotaksim (30 µg), piperasilin (110 µg), siprofloksasin (5 µg) yang telah dibandingkan dengan tabel *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI).

Hasil uji sensitivitas *Pseudomonas aeruginosa* terhadap Antibiotik Imipenem, Amikasin, Gentamisin, Sefotaksim, Piperasilin, dan Siprofloksasin dapat dilihat pada gambar 9 dan tabel 5.



Lampira 9. Hasil Uji Sensitivitas *Pseudomonas aeruginosa* terhadap Antibiotik Imipenem, Amikasin, Gentamisin, Sefotaksim, Piperasilin, dan Siprofloksasin.

Tabel 5. Hasil uji sensitivitas *Pseudomonas aeruginosa*

| Nama sampel | Replikasi | Diameter Zona Hambat (mm) | | | | | | | | | | | |
|-------------|-----------|---------------------------|----|---------|----|---------|----|---------|----|----------|----|--------|----|
| | | IPM | | AK | | CN | | CTX | | TZP | | CIP | |
| | | (10 µg) | | (30 µg) | | (10 µg) | | (30 µg) | | (110 µg) | | (5 µg) | |
| | | D | PS | D | PS | D | PS | D | PS | D | PS | D | PS |
| 511P | 1 | 27 | S | 17 | S | 6 | R | 10 | R | 22 | S | 18 | I |
| | 2 | 27 | S | 17 | S | 6 | R | 10 | R | 22 | S | 18 | I |
| | 3 | 28 | S | 17 | S | 6 | R | 10 | R | 22 | S | 18 | I |
| 629P | 1 | 24 | S | 18 | S | 38 | S | 23 | S | 31 | S | 27 | S |
| | 2 | 23 | S | 20 | S | 37 | S | 23 | S | 32 | S | 27 | S |
| | 3 | 23 | S | 20 | S | 37 | S | 22 | I | 31 | S | 27 | S |
| 647P | 1 | 22 | S | 18 | S | 35 | S | 21 | I | 30 | S | 21 | S |
| | 2 | 21 | S | 18 | S | 34 | S | 21 | I | 28 | S | 22 | S |
| | 3 | 21 | S | 18 | S | 35 | S | 21 | I | 28 | S | 21 | S |
| 655P | 1 | 20 | S | 24 | S | 10 | R | 10 | R | 28 | S | 21 | S |
| | 2 | 22 | S | 24 | S | 10 | R | 10 | R | 28 | S | 21 | S |
| | 3 | 22 | S | 24 | S | 10 | R | 10 | R | 28 | S | 21 | S |
| 723P | 1 | 27 | S | 15 | I | 12 | R | 10 | R | 23 | S | 17 | I |
| | 2 | 27 | S | 15 | I | 12 | R | 10 | R | 23 | S | 17 | I |
| | 3 | 27 | S | 15 | I | 12 | R | 10 | R | 23 | S | 17 | I |
| 772P | 1 | 22 | S | 18 | S | 32 | S | 23 | S | 34 | S | 28 | S |
| | 2 | 23 | S | 18 | S | 32 | S | 21 | I | 33 | S | 29 | S |
| | 3 | 22 | S | 18 | S | 32 | S | 23 | S | 34 | S | 28 | S |
| 815P | 1 | 22 | S | 18 | S | 24 | S | 10 | R | 24 | S | 20 | I |
| | 2 | 22 | S | 17 | S | 24 | S | 10 | R | 24 | S | 22 | S |
| | 3 | 22 | S | 18 | S | 24 | S | 10 | R | 24 | S | 22 | S |
| 827P | 1 | 23 | S | 18 | S | 32 | S | 14 | R | 28 | S | 27 | S |
| | 2 | 23 | S | 18 | S | 32 | S | 14 | R | 28 | S | 27 | S |
| | 3 | 21 | S | 18 | S | 31 | S | 14 | R | 29 | S | 27 | S |
| 80P | 1 | 22 | S | 17 | S | 35 | S | 21 | I | 29 | S | 26 | S |
| | 2 | 21 | S | 18 | S | 36 | S | 19 | I | 29 | S | 22 | S |
| | 3 | 22 | S | 18 | S | 35 | S | 21 | I | 30 | S | 26 | S |
| 187P | 1 | 22 | S | 17 | S | 25 | S | 10 | R | 15 | I | 19 | I |
| | 2 | 21 | S | 16 | I | 25 | S | 10 | R | 13 | R | 19 | I |
| | 3 | 21 | S | 16 | I | 25 | S | 10 | R | 13 | R | 19 | I |

Lanjutan **Tabel 5.**

| Nama sampel | Replikasi | Diameter Zona Hambat (mm) | | | | | | | | | | | |
|-------------|-----------|---------------------------|----|---------|----|---------|----|---------|----|----------|----|--------|----|
| | | IPM | | AK | | CN | | CTX | | TZP | | CIP | |
| | | (10 µg) | | (30 µg) | | (10 µg) | | (30 µg) | | (110 µg) | | (5 µg) | |
| | | D | PS | D | PS | D | PS | D | PS | D | PS | D | PS |
| 236P | 1 | 20 | S | 17 | S | 29 | S | 18 | I | 27 | S | 26 | S |
| | 2 | 19 | S | 16 | I | 30 | S | 18 | I | 25 | S | 27 | S |
| | 3 | 20 | S | 16 | I | 30 | S | 19 | I | 27 | S | 26 | S |
| 362P | 1 | 22 | S | 17 | S | 35 | S | 17 | I | 30 | S | 29 | S |
| | 2 | 22 | S | 20 | S | 33 | S | 18 | I | 30 | S | 28 | S |
| | 3 | 22 | S | 17 | S | 33 | S | 17 | I | 30 | S | 28 | S |
| 384P | 1 | 10 | R | 6 | R | 15 | S | 10 | R | 15 | I | 29 | S |
| | 2 | 12 | R | 6 | R | 15 | S | 6 | R | 15 | I | 29 | S |
| | 3 | 12 | R | 6 | R | 15 | S | 6 | R | 15 | I | 29 | S |
| 391P | 1 | 32 | S | 27 | S | 18 | S | 20 | I | 34 | S | 32 | S |
| | 2 | 32 | S | 27 | S | 18 | S | 20 | I | 34 | S | 32 | S |
| | 3 | 32 | S | 27 | S | 18 | S | 20 | I | 34 | S | 32 | S |

Keterangan :

IPM : Imipenem

TZP : Piperasilin

R : Resisten

AK : Amikasin

CIP : Siprofloksasin

S : Susceptible

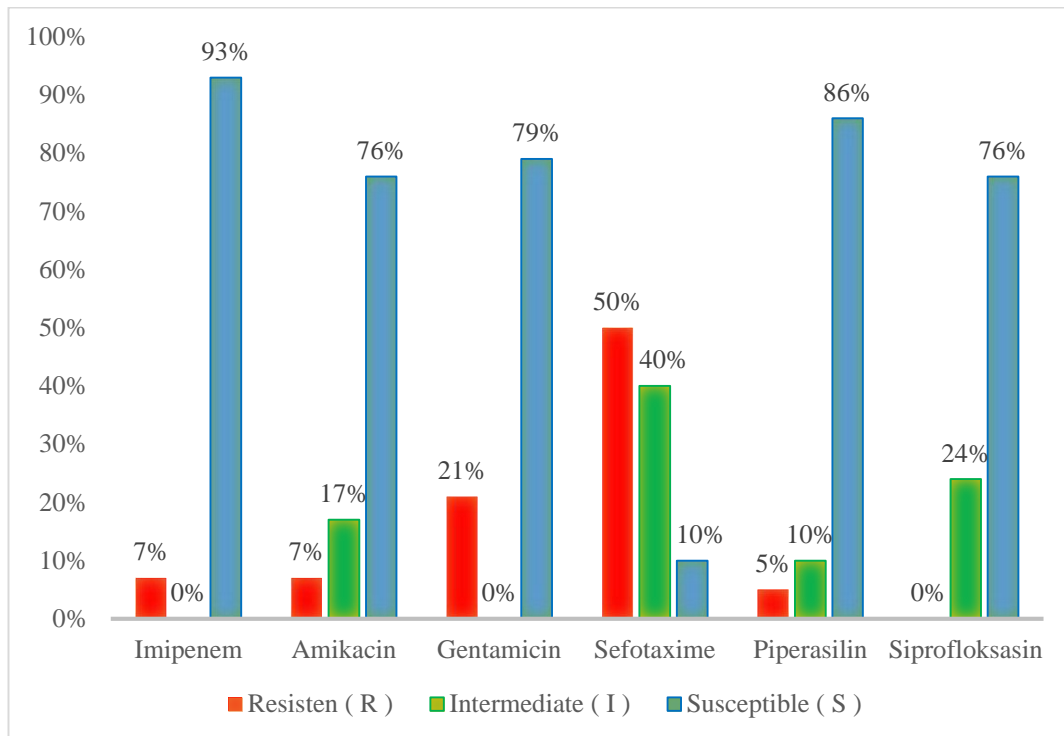
CN : Gentamisin

PS : Pola Sensitivitas

I : Intermediet

CTX : Sefotaksim

D : Diameter



Gambar 10. Diagram hasil uji sensitivitas *Pseudomonas aeruginosa* terhadap antibiotik

Hasil uji sensitivitas *Pseudomonas aeruginosa* terhadap antibiotik pada gambar 10 menunjukkan bahwa dari 14 sampel ulkus *Pseudomonas aeruginosa* 93% sensitif terhadap antibiotik imipenem, 76 % sensitif terhadap antibiotik amikasin dan siprofloksasin, 79 % sensitif terhadap antibiotik gentamisin dan 86 % sensitif terhadap antibiotik piperasilin, sedangkan hasil uji pada antibiotik Sefotaksim pada *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan resistensi 50 %. hasil ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Rustini *et al.*, (2016) yaitu dari 79 isolat di dapatkan hasil 61 % sensitif terhadap antibiotik imipenem, 72% sensitif terhadap antibiotik amikasin, 55% sensitif terhadap siprofloksasin, dan 53 % sensitif terhadap antibiotik gentamisin.

Imipenem merupakan senyawa β -laktam yang mengandung cincin β -laktam yang menyatu dan suatu sistem cincin dengan 5-anggota, berbeda dari penisilin karena bentuknya tidak jenuh dan mengandung suatu atom karbon. Kelompok antibiotik ini memiliki spektrum aktivitas yang lebih luas dari pada sebagian besar antibiotik β -laktam lainnya (Hardman and Limbird, 2014). Kemampuan bakteri memproduksi β -laktamase dan adanya gen yang dapat mengkode β -laktamase juga mengakibatkan bakteri resisten terhadap antibiotik ini dikarenakan terjadinya hidrolisi pada ikatan cincin β -laktam yang mengakibatkan inaktivasi antibiotik (Rustini, 2016).

Amikasin sangat berguna untuk infeksi bakteri Gram negatif. amikacin dan Gentamisin merupakan jenis aminoglikosida. Resistensi terhadap antibiotik aminoglikosida muncul karena sel bakteri memproduksi enzim yang dapat menambahkan fosfat, asetat atau gugus adenil pada aminoglikosida yang mengakibatkan antibiotik ini tidak dapat terikat pada subunit 30S ribosom sehingga tidak lagi dapat menghambat sintesis protein bakteri, dan amikasin merupakan salah satu aminoglikosida semisintetik yang sangat resisten terhadap modifikasi oleh enzim sehingga banyak bakteri yang sensitif terhadap antibiotik ini (Rustini, 2016).

Siprofloksasin merupakan antibiotik golongan fluorokuinolon, bekerja dengan cara mempengaruhi enzim DNA girase pada bakteri. Siprofloksasin sebagai terapi tunggal efektif pada 50% infeksi kaki diabetes. Sefotaksim merupakan golongan sefalosporin generasi ketiga yang sangat resisten terhadap banyak β -laktamase (Hardman and Limbird, 2014). Tingkat resistensi antibiotik

berhubungan dengan konsumsi antibiotik nasional dan penggunaan antibiotik sebelumnya pada setiap individu. Karena sering mengalami infeksi, pasien diabetes akan terpapar antibiotik lebih banyak, sehingga dapat menyebabkan peningkatan tingkat resistensi antibiotik (Handiki, 2014).

D. Keterbatasan penelitian

Keterbatasan penelitian ini adalah peneliti tidak dapat secara langsung bertemu dengan responden penelitian sehingga peneliti tidak mengetahui apakah sampel penelitian berasal dari ulkus DM tipe 1 atau ulkus DM tipe 2.

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Dari 50 sampel ulkus pasien diabetes melitus di temukan 28% (14 sampel) yang positif terdapat bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.
2. Hasil prosentase uji sensitivitas bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dari hasil isolasi sampel ulkus pada pasien diabetes melitus terhadap 6 jenis antibiotik yaitu 93% sensitif terhadap antibiotik imipenem, 76 % sensitif terhadap antibiotik amikasin dan siprofloksasin, 79 % sensitif terhadap antibiotik gentamisin dan 86 % sensitif terhadap antibiotik piperasilin, sedangkan hasil uji pada antibiotik sefotaksim pada *Pseudomonas aeruginosa* menunjukan resistensi 50 %.

B. Saran

Berdasarkan hasil penelitian, maka penulis memberikan saran sebagai berikut :

1. Untuk pemberian antibiotik pada pasien ulkus diabetik sebaiknya tidak menggunakan antibiotik sefotaksim karena dari hasil penelitian antibiotik ini mempunyai nilai sensitivitas yang rendah.
2. Kepada para klinisi agar dapat merasionalisasikan penggunaan antibiotik yang tepat sehingga dapat meminimalisir terjadinya resistensi bakteri terhadap antibiotik.

3. Perlunya penelitian lanjutan mengenai pola bakteri yang ada di lingkungan maupun di setiap instalasi yang menjadi penyebab adanya bakteri nosokomial dan resistensi antibiotik di RSUD Dr. Moewardi setiap tahunnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2015. <https://etd.repository.ugm.ac-introduction.pdf>. Diakses tanggal 25 November 2016.
- Akbar, G.T., Karimi, J., dan Anggraini, D., 2014. “Pola Bakteri Dan Resistensi Antibiotik Pada Ulkus Diabetik Grade Dua Di Rsud Arifin Achmad Periode 2012”. <https://www.portalgaruda.org/article>. Diakses tanggal 02 Desember 2016.
- Akhi, M.T., Ghotaslou, R., Asgharzadeh, M., Varshochi, M., Pirzadeh, T., Memar, M.Y., Bialvei, A.Z., Sofla, H.S.Y., and Alizadeh, N., 2015. Bacterial Etiology And Antibiotic Susceptibility Pattern Of Diabetic Foot Infection In Tabriz, Iran. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>. Diakses tanggal 25 November 2016.
- Bhumi, L.S., 2014. Uji Efektivitas Ekstrak Jantan Hitam (*Nigella Sativa*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* [Skripsi]. Jakarta: Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatulloh. Diakses tanggal 22 Mei 2017.
- Brooks, G.F., Butel, J.S., and Morse, S.A., 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi I. penerjemah; Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Jakarta: Salemba Medika.
- CLSI, 2013. Adapted in part from CLSI document M100-S23 (M02-A11): “Disc diffusion supplemental tables” Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. www.oxoid.com.
- Darmadi .dr., 2008. *Infeksi Nosokomial: Problematika dan Pengendaliannya*. Jakarta: Salemba Medika.
- Fahmi, N.F., 2016. Perbandingan Sensitivitas Antibakteri *Salmonella typhi* Isolat Pasien Demam Typoid dan Kulture Murni Terhadap Beberapa Antibiotik di Laboratorium [Skripsi]. Surakarta: Universitas Setia Budi.
- Farida, H.I., 2016. Pola Resistensi Bakteri Terhadap Antibiotik Pada Penderita Ulkus Diabetikum Di Rumah Sakit X Periode September 2014-Agustus 2015 [Skripsi]. Surakarta: Program Sarjana, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Fitriani, A.A., 2015. Evaluasi Penggunaan Antibiotik Pada Pasien Diabetes Melitus Tipe 2 Dengan Komplikasi *Foot Ulcer* Di Instalasi Rawat Inap Rsup Dr. Soeradji Tirtonegoro Tahun 2014 [Skripsi]. Surakarta: Program Sarjana, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Hajar, D., 2012. Isolasi, Identifikasi dan Analisis Kemampuan Degradasi Hidrokarbon Bakteri Tanah Sampel B, Cilegon Banten. [Skripsi]. Jakarta: Program Sarjana, Universitas Indonesia.

- Handiki, H. 2014. Audit Kualitatif Pemberian Antibiotik untuk Pasien Gangren Diabetik Disertai Insufisiensi Adrenal Sekunder: *Laporan Kasus*. CDK-212: 41 (1), tahun 2014. <https://www.kalbemed.com/portals/6/12-212-audit-kualitatif-pemberian-antibiotic-untuk-pasien-gangren-diabetic-di-sertai-infusionsiensi-adrenal-sekunder.pdf>. Diakses tanggal 25 November 2016.
- Hardman, J.G., dan Limbird, L.E., 2014. *Goodman & Gilman Dasar Farmakologi Terapi*. Edisi X. Tim alih bahasa Sekolah Farmasi ITB. Jakarta: Buku Kedokteran EGC. Terjemahan asli: Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics.
- IDF. 2014. *IDF Annual Report 2014*. <https://www.idf.org/sites/default/files/idf-2014-Annual-Report-Final.pdf>. Diakses tanggal 25 November 2016.
- Irianto, K., 2014. *Epidemiologi Penyakit Menular dan Tidak Menular Panduan Klinis*. Edisi I. Bandung: ALFABETA,cv. ISBN: 978-602-289-048-5
- KEMENKES RI, 2014. Pusat Data dan Informasi. Jakarta Selatan. <http://infodatin-diabetes.pdf>. Diakses tanggal 25 November 2016.
- Lubis, V.A., Katar, Y., Bahar, E., 2016. Identifikasi Bakteri Infeksi Saluran Pernafasan Bawah Non Tuberkulosis (Non TB) dan Pola Resistensinya pada Penderita Diabetes Melitus di RSUP M. Djamil. <https://jurnal.fk.unand.ac.id>. Diakses tanggal 22 Mei 2017.
- Mayasari, E., 2005. *Pseudomonas aeruginosa*, Karakteristik, Infeksi dan Penanganan [Skripsi]. Medan: Program dr, Universitas Sumatera Utara. Diakses tanggal 22 Mei 2017.
- Natalia, Lia., 2008. *Pseudomonas aeruginosa* Penyebab Infeksi Nosokomial. <https://mikrobia.files.wordpress.com/2008/05/lia-natalia078114123.pdf>. Diakses tanggal 2 Desember 2016.
- Nafee, S.K., 2012. Isolation and identification of clinical *Pseudomonas aeruginosa* producing exotoxin A and studying its toxic effect in mice [Thesis]. Baghdad: College of Science/Baghdad University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Biotechnology. Diaksestanggal 09 Desember 2016.
- Netten, J. J., Price. P. E., Lavery, L. A., Monteiro, M., Rasmussen, A., Jubiz, Y., and Bus, S. A., 2016. Prevention of foot ulcers in the at-risk patient with diabetes: a systematic review. *Metabolism Research And Reviews*. 32(1): 84–98. <https://www.iwgdf.org/files/2015/preventionSR.pdf>. Diakses tanggal 25 November 2016.
- Nurmala., Virgiandhy, I., Andriani., Liana, D.F., 2015. *Resistensi dan Sensitivitas Bakteri terhadap Antibiotik di RSUD dr.Soedarso Pontianak Tahun 2011-2013*. 3(1). Diakses tanggal 12 Desember 2016.

- Profil Kesehatan Provinsi Jawa Tengah. 2013. https://www.depkes.go.id/resoueces/PROFIL_KES_PROVINSI2013/13_Prov_Jateng_2013.pdf. Diakses tanggal 25 November 2016.
- Rieuwpassa, I.E., Yunus, M., Arsana, I.W.S., 2011. Identification of *Pseudomonas aeruginosa* and sensitivity test of ciprofloxacin on periodontal abcess. *Dentofasial*, Vol.10, No.3, 151-155.
- RISKESDAS. 2013. <https://pdmml.org/wp-content/uploads/2014/01/Hasil-Riskesdas-2013.pdf>. Diakses tanggal 25 November 2016.
- Rustini., Istiqamah, S., and Armin, F., 2016. Penentuan *Multi Drug Resisten Pseudomonas Aeruginosa* (Mdrpa) Yang Berasal Dari Sampel Klinis Pasien Rsup Dr. M. Djamil Padang. e-ISSN : 2541-0474. Diakses tanggal 25 November 2016.
- Sharma, S., and Srivastava, P., 2016. Resistance of Antimicrobial in *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. ISSN: 2319-7706. 5 (3): 121-128. Diakses tanggal 25 November 2016.
- Singh, S. 2013. *Diabetic Foot Ulcer-Diagnosis and Management*. <http://www.scencecentral.org/journals/diabetic-foot-ulcerdiagnosis>. Diakses tanggal 25 November 2016.
- Soedarto, 2015. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: CV.Sagung Seto.
- Sugiyono, 2013. *Metode Penelitian Administrasi*. jakarta: ALFABETA.
- Sukandar, E.Y., Andrajati, R., Sigit, J.I., Adnyana, I.K., Setiadi, A.P., Kusnandar, 2013. ISO Farmakoterapi Buku 1. Jakarta: PT. IPSI.
- Stefani, E.N., 2016. Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* dan Uji Sensitivitas Terhadap Antibiotik Dari Sampel Pus di RSUD Dr. Moewardi [Skripsi]. Surakarta; Universitas Setia Budi.
- Thermo Scientific, 2011. Thermo Scientific : Oxoid Microbiology Product. <http://www.oxoid.com/UK/blue/period>. Diakses tanggal 25 Mei 2017.
- Watson, R., 2012. *Sulfur Indole Motility Media*. https://www.uwyo.edu/molb2210_lab/info/biochemical_tests.html. Diakses tanggal 25 Mei 2017.
- Windarti, B.W.S., 2007. Evaluasi Penggunaan Antibiotika Pada Pasien Ulkus Diabetes Melitus Di Instalasi Rawat Inap Rumah Sakit Pant Rapih Yogyakarta periode 2005 [Skripsi]. Yogyakarta: Program Sarjana, Universitas Sanata Darma. Diakses tanggal 5 Desember 2011.

Lampiran 1. Surat Ijin Penelitian



Nomor : 169 / H6 – 04 / 20.12.2016
 Lamp. : - helai
 Hal : Ijin Penelitian

Kepada :
Yth. Direktur
RSUD. DR. MOEWARDI
Di Surakarta

Dengan Hormat,

Guna memenuhi persyaratan untuk keperluan penyusunan Tugas akhir (TA) bagi Mahasiswa Semester Akhir Program Studi D-IV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi, yang pelaksanaannya di RSUD. Dr. Moewardi Surakarta, terkait bidang yang ditekuni dalam melaksanakan kegiatan tersebut bersamaan dengan ini kami menyampaikan ijin bahwa :

NAMA : ENDE IRMA LISTIANI
NIM : 06130174 N
PROGDI : D-IV Analis Kesehatan
JUDUL : Identifikasi Bakteri Pseudomonas aeruginosa dan Uji Sensitivitas terhadap Antibiotik dari Sampel Ulkus Pasien Diabetes Melitus di RSUD Dr. Moewardi.

Untuk ijin Penelitian tentang identifikasi bakteri pseudomonas aeruginosa dan uji sensitifitas terhadap antibiotik dari sampel ulkus pasien diabetes melitus di Instansi Bapak / Ibu.

Demikian atas bantuan dan kerjasamanya kami ucapkan terima kasih.

Surakarta, 20 Desember 2016

Dekan,

Prof. dr. Marsetyawan HNE Soesatyo, M.Sc., Ph.D.

Lampiran 2. Surat Pengantar Penelitian



**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TENGAH
RUMAH SAKIT UMUM DAERAH Dr. MOEWARDI**

Jalan Kolonel Sutarto 132 Surakarta Kode pos 57126 Telp (0271) 634 634,
Faksimile (0271) 637412 Email : rscdm@jatengprov.go.id
Website : rsmoewardi.jatengprov.go.id

Surakarta, 04 Januari 2017

Nomor : 02 / DIK / I / 2017
Lampiran : -
Perihal : Pengantar Penelitian

Kepada Yth. :

Ka. Instalasi Laboratorium Mikrobiologi & Parasitologi Klinik

RSUD Dr. Moewardi

di-

SURAKARTA

Memperhatikan Surat dari Dekan FIK-USB Surakarta Nomor : 169/H6-04/20.12.2015; perihal Permohonan Ijin Penelitian dan disposisi Direktur tanggal 22 Desember 2015, maka dengan ini kami menghadapkan siswa:

Nama : Ende Irma Listiani

NIM : 06130174 N

Institusi : Prodi D.IV Analis Kesehatan FIK-USB Surakarta

Untuk melaksanakan penelitian dalam rangka pembuatan **Skripsi** dengan judul : **"Identifikasi Bakteri Pseudomonas Aeruginosa dan Uji Sensitivitas Terhadap Antibiotik dari Sampel Ulkus Pasien Diabetes Melitus di RSUD Dr. Moewardi"**.

Demikian untuk menjadikan periksa dan atas kerjasamanya diucapkan terima kasih.

Kepala
Bagian Pendidikan & Penelitian,

Slamet Gunanto, SKM. M.Kes
NIP. 19660310 198902 1 002

Tembusan Kepada Yth.:

1. Wadir Umum RSDM (sebagai laporan)
2. Arsip

RSDM Cepat, Tepat, Nyaman dan Mudah

Lampiran 3. Surat Pengajuan Kelaikan Etik



KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
RSUD Dr. Moewardi
Fakultas Kedokteran Universitas sebelas Maret



BUKTI PENGAJUAN KELAIKAN ETIK

Yang bertanda tangan dibawah ini menyatakan bahwa data yang saya isikan adalah benar.

Peneliti : Ende Irma Listiani
: 06130174N
Judul Penelitian : Identifikasi Bakteri Pseudomonas aeruginosa Dan Uji Sensitivitas Terhadap Antibiotik
: Dari Sampel Ulkus Pasien Diabetes Melitus Di RSUD Dr. Moewardi
Lokasi Tempat Penelitian : Laboratorium Mikrobiologi RSUD Dr. Moewardi



06130174N - 4507

Mengetahui
Petugas

Auris pranita

Surakarta : 21 Dec 2016

Peneliti

Ende Irma Listiani
(Ende Irma Listiani)
06130174N

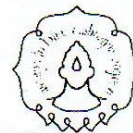
Lampiran 4. Surat Kelaikan Etik



HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

Dr. Moewardi General Hospital
RSUD Dr. Moewardi

School of Medicine SebelasMaret University
Fakultas Kedokteran Universitas sebelas Maret



ETHICAL CLEARANCE KELAIKAN ETIK

Nomor : 1071 / XII / HREC /2016

The Health Research Ethics Committee Dr. Moewardi General Hospital / School of Medicine Sebelas
Komisi Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Moewardi / Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret

Maret University Of Surakarta, after reviewing the proposal design, herewith to certify
Surakarta, setelah menilai rancangan penelitian yang diusulkan, dengan ini menyatakan

That the research proposal with topic :
Bahwa usulan penelitian dengan judul

IDENTIFIKASI BAKTERI PSEUDOMONAS AERUGINOSA DAN UJI SENSITIVITAS
TERHADAP ANTIBIOTIK DARI SAMPEL ULKUS PASIEN DIABETES MELITUS
DI RSUD DR. MOEWARDI

Principal investigator : Ende Irma Listiani
Peneliti Utama 06130174N

Location Of Research : RSUD Dr. Moewardi
Lokasi Tempat Penelitian

Is ethically approved
Dinyatakan laik etik

Issued on : 29 Desember 2016



Chairman
Ketua

Dr. Han Wujoso dr. Sp.F.MM
NIP. 19624022 199503 1 001

Lampiran 5. Surat Keterangan Selesai Penelitian



**PEMERINTAH PROVINSI JAWA TENGAH
RUMAH SAKIT UMUM DAERAH Dr. MOEWARDI**

Jalan Kolonel Sutarto 132 Surakarta Kodepos 57126 Telp (0271) 634 634,
Faksimile (0271) 637412 Email : r sdm@jatengprov.go.id
Website : rsmoewardi.jatengprov.go.id

SURAT KETERANGAN

Nomor : 045 / 7894 / 2017

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dr. dr. Suharto Wijanarko, Sp.U
Jabatan : Wakil Direktur Umum RSUD Dr. Moewardi

Dengan ini menerangkan bahwa :

Nama : Ende Irma Listiani
NIM : 06130174N
Institusi : Prodi D.IV Analisis Kesehatan FIK-USB Surakarta

Telah selesai melaksanakan penelitian di RSUD Dr. Moewardi dalam rangka penulisan Skripsi dengan judul "Identifikasi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan Uji Sensitivitas Terhadap Antibiotik Dari Sampel Ulkus Pasien Diabetes Melitus di RSUD Dr. Moewardi".

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surakarta, 11 Juli 2017
a.n DIREKTUR RSUD Dr. MOEWARDI
PROVINSI JAWA TENGAH
Wakil Direktur Umum



Dr. dr. SUHARTO WIJANARKO, Sp.U
Pembina Utama Muda
NIP. 19610407 198812 1 001

Lampiran 6. Data Pasien

| No | No. Sampel | Jenis Kelamin | Umur (th) |
|-----------|-------------------|----------------------|------------------|
| 1 | 488P | Perempuan | 54th |
| 2 | 501P | Perempuan | 62th |
| 3 | 505P | Laki-laki | 82th |
| 4 | 511P | Perempuan | 62th |
| 5 | 514P | Perempuan | 61th |
| 6 | 532P | Laki-laki | 44th |
| 7 | 536P | Laki-laki | 43th |
| 8 | 613P | Laki-laki | 74th |
| 9 | 629P | Laki-laki | 21th |
| 10 | 647P | Perempuan | 39th |
| 11 | 648P | Laki-laki | 39th |
| 12 | 652P | Perempuan | 20th |
| 13 | 655P | Laki-laki | 52th |
| 14 | 674P | Perempuan | 61th |
| 15 | 694P | Perempuan | 62th |
| 16 | 710P | Laki-laki | 87th |
| 17 | 711P | Perempuan | 50th |
| 18 | 741P | Perempuan | 59th |
| 19 | 742P | Perempuan | 55th |
| 20 | 772P | Laki-laki | 61th |
| 21 | 789P | Laki-laki | 64th |
| 22 | 855P | Perempuan | 39th |
| 23 | 868P | Perempuan | 71th |
| 24 | 869P | Laki-laki | 48th |
| 25 | 894P | Perempuan | 58th |

Lanjutan **Lampiran 6.**

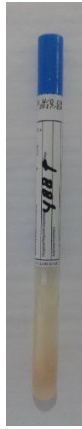
| No | No. Sampel | Jenis Kelamin | Umur (th) |
|-----------|-------------------|----------------------|------------------|
| 26 | 895P | Perempuan | 75th |
| 27 | 964P | Perempuan | 20th |
| 28 | 5P | Laki-laki | 41th |
| 29 | 34P | Perempuan | 61th |
| 30 | 51P | Laki-laki | 35th |
| 31 | 52P | Laki-laki | 39th |
| 32 | 80P | Perempuan | 56th |
| 33 | 113P | Laki-laki | 50th |
| 34 | 125P | Perempuan | 56th |
| 35 | 141P | Laki-laki | 67th |
| 36 | 142P | Laki-laki | 39th |
| 37 | 153P | Laki-laki | 55th |
| 38 | 187P | Perempuan | 43th |
| 39 | 192P | Perempuan | 57th |
| 40 | 223P | Laki-laki | 40th |
| 41 | 235P | Laki-laki | 117th |
| 42 | 236P | Laki-laki | 64th |
| 43 | 285P | Perempuan | 64th |
| 44 | 347P | Laki-laki | 55th |
| 45 | 362P | Perempuan | 52th |
| 46 | 384P | Laki-laki | 117th |
| 47 | 389P | Perempuan | 61th |
| 48 | 391P | Laki-laki | 74th |
| 49 | 392P | Laki-laki | 50th |
| 50 | 390P | Laki-laki | 55th |

Lampiran 7. Tabel Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)

| Nama antibiotik | Diameter Zona Hambat (mm) | | |
|------------------------|----------------------------------|---------------------|-----------------|
| | Susceptible (S) | Intermediate (I) | Resisten (R) |
| Imipenem (10µg) | ≥16 | 14-15 | ≤13 |
| Amikacin (30µg) | ≥17 | 15-16 | ≤14 |
| Gentamicin (10µg) | ≥15 | 13-14 | ≤12 |
| Sefotaxime (30µg) | ≥23 | 15-22 | ≤14 |
| Piperasilin (100/10µg) | ≥21 | 15-20 | ≤14 |
| Siprofloksasin (5µg) | ≥21 | 16-20 | ≤15 |

Sumber: Adapted in part from CLSI document M100-S23 (M02-A11): “Disc diffusion supplemental tables” Performance standards for antimicrobial susceptibility testing.

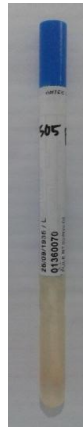
Lampiran 8. Foto Sampel



Sampel 1



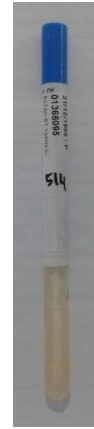
Sampel 2



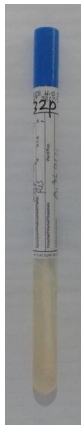
Sampel 3



Sampel 4



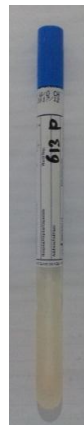
Sampel 5



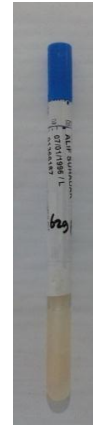
Sampel 6



Sampel 7



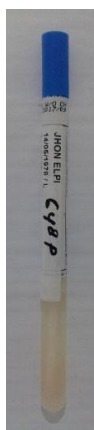
Sampel 8



Sampel 9



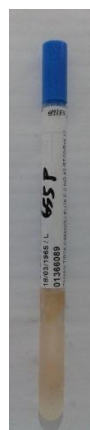
Sampel 10



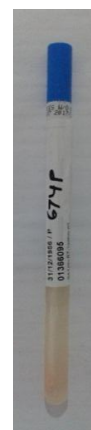
Sampel 11



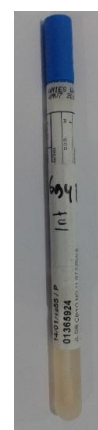
Sampel 12



Sampel 13



Sampel 14



Sampel 15

Lanjutan Lampiran 8.



Sampel 16



Sampel 17



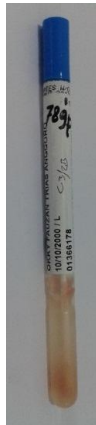
Sampel 18



Sampel 19



Sampel 20



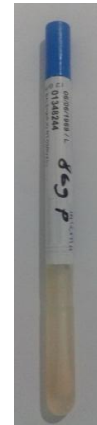
Sampel 21



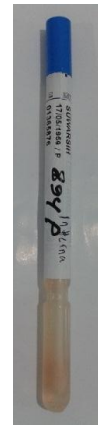
Sampel 22



Sampel 23



Sampel 24



Sampel 25



Sampel 26



Sampel 27



Sampel 28



Sampel 29

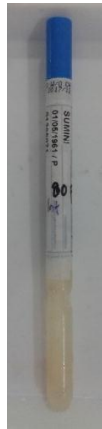


Sampel 30

Lanjutan Lampiran 8.



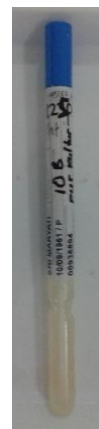
Sampel 31



Sampel 32



Sampel 33



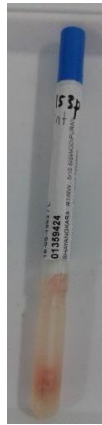
Sampel 34



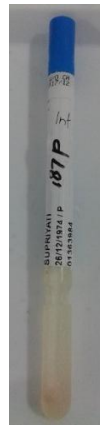
Sampel 35



Sampel 36



Sampel 37



Sampel 38



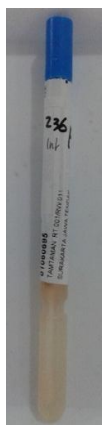
Sampel 39



Sampel 40



Sampel 41



Sampel 42



Sampel 43



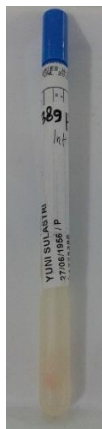
Sampel 44



Sampel 45

Lanjutan Lampiran 8.

Sampel 46



Sampel 47



Sampel 48

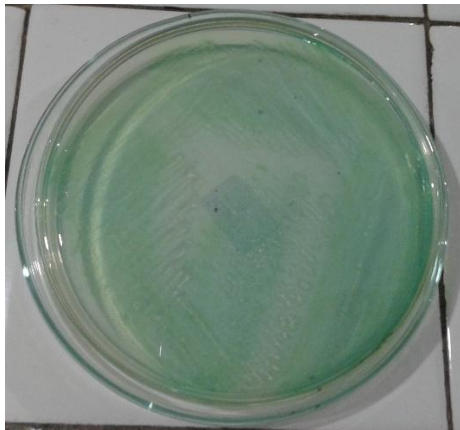


Sampel 49

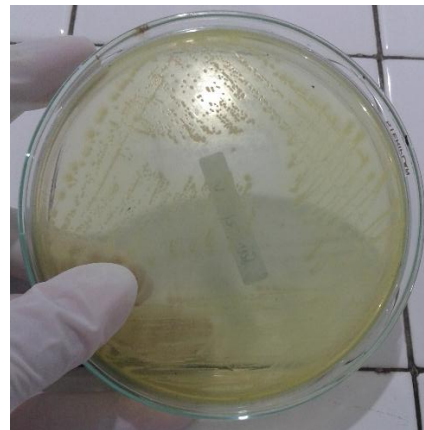


Sampel 50

Lampiran 9. Medium PSA yang menunjukkan hasil **(a)** pigmen *pyocyanin* (biru-hijau) dan **(b)** pigmen *pyoverdin* (hijau-kuning).



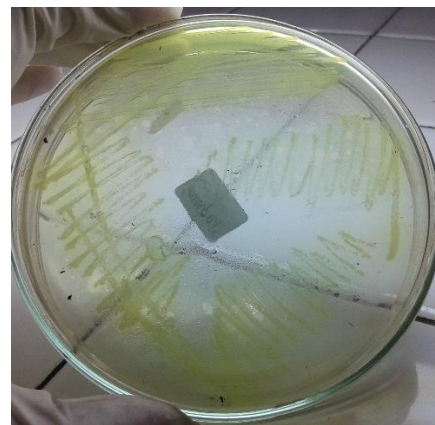
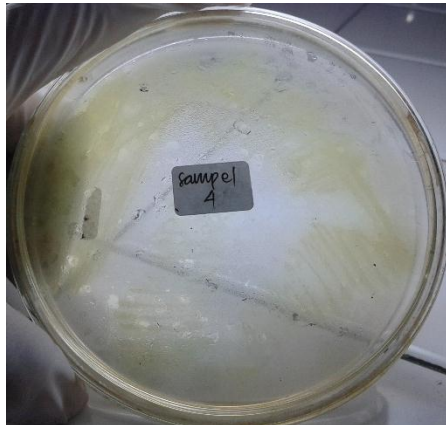
(a)



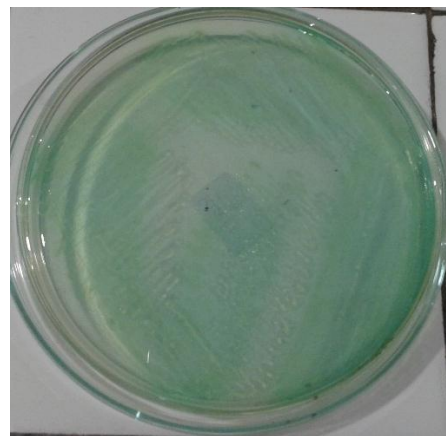
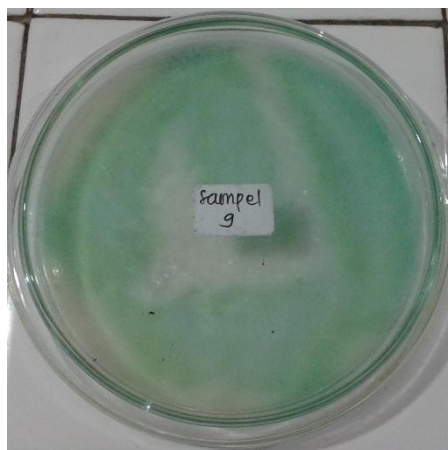
(b)

Lampiran 10. Foto Hasil Isolasi pada media Pseudomonas Selective Agar (PSA)

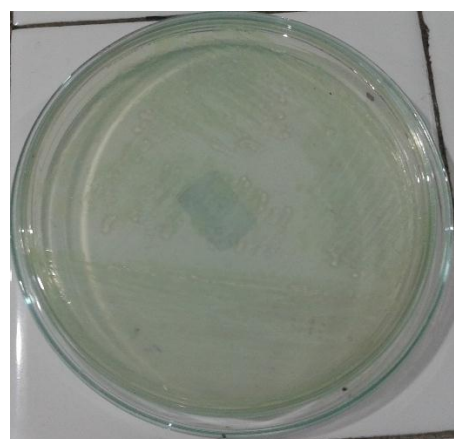
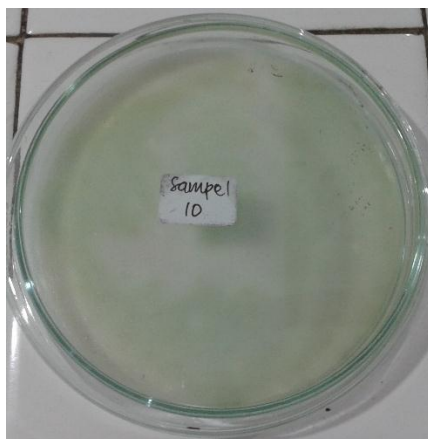
Sampel 4



Sampel 9

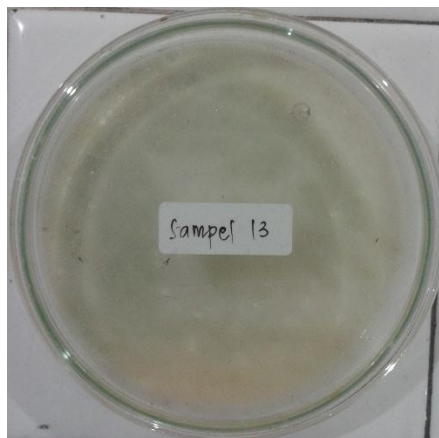


Sampel 10

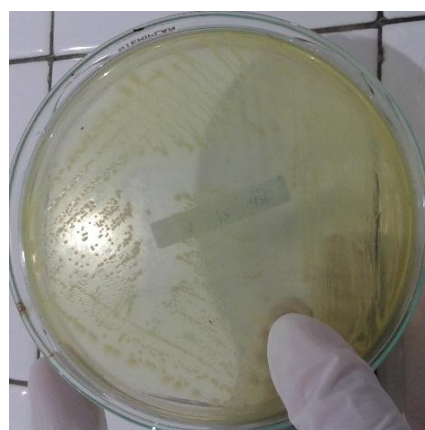


Lanjutan Lampiran 10.

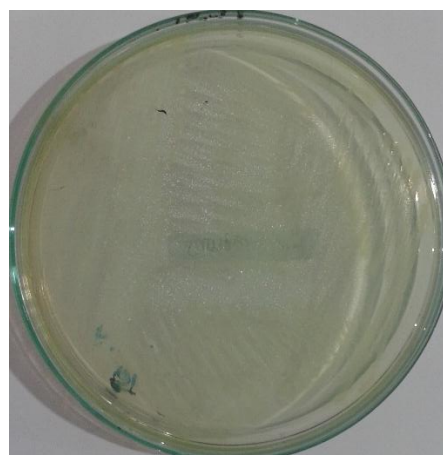
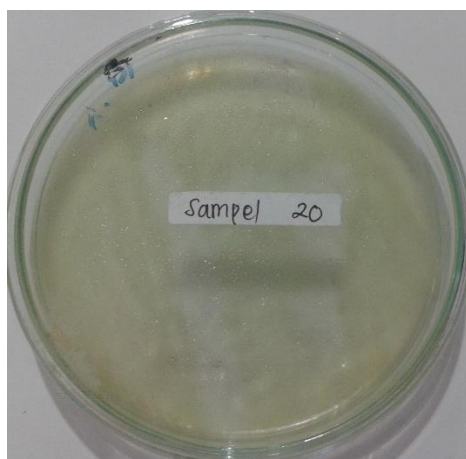
Sampel 13



Sampel 17

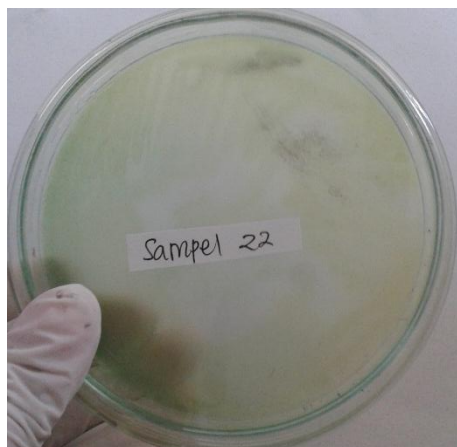


Sampel 20

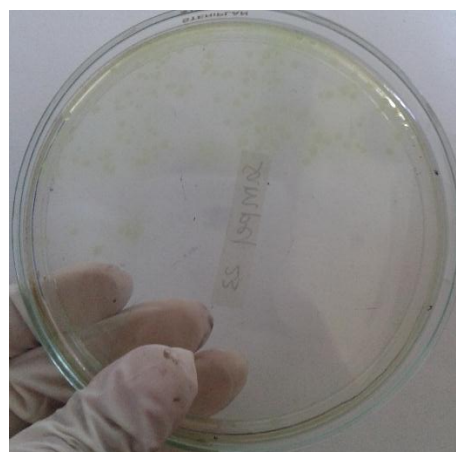


Lanjutan Lampiran 10.

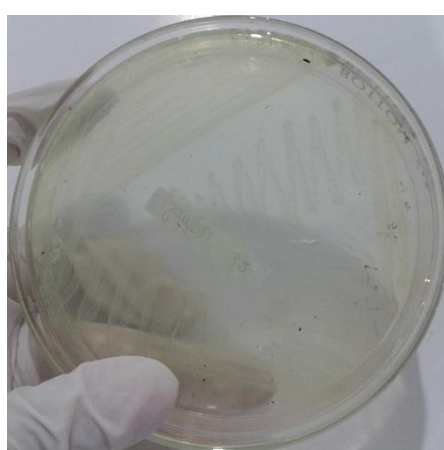
Sampel 22



Sampel 23

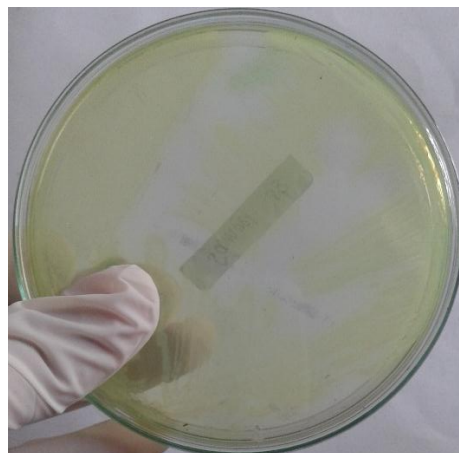
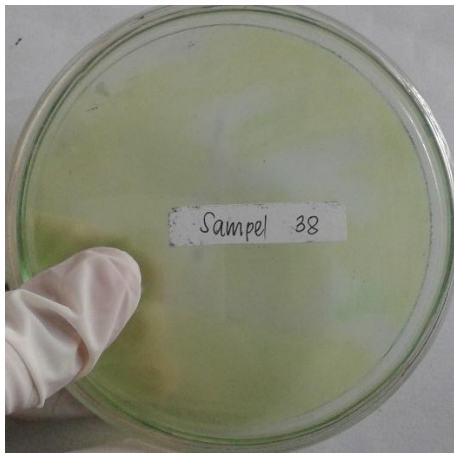


Sampel 32



Lanjutan Lampiran 10.

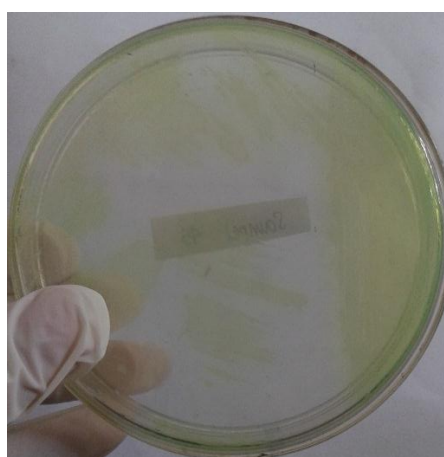
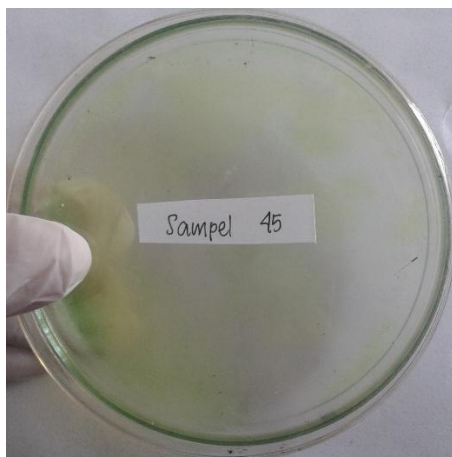
Sampel 38



Sampel 42

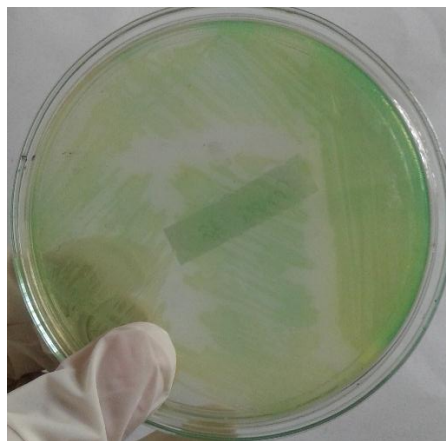
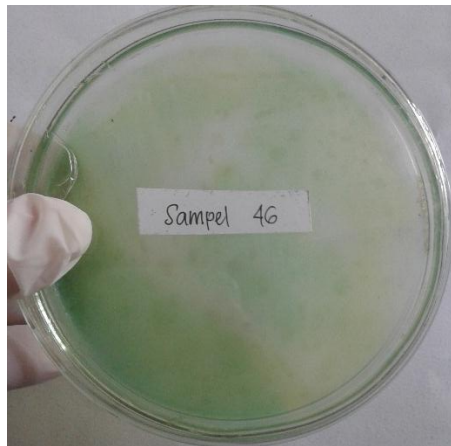


Sampel 45

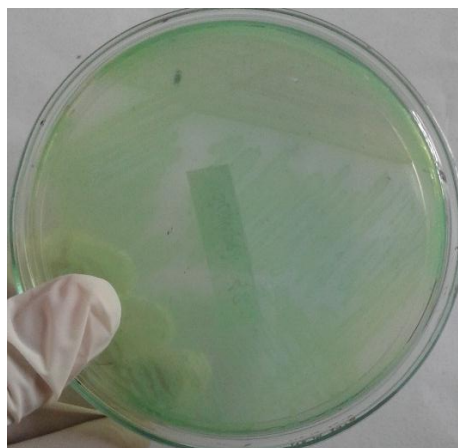
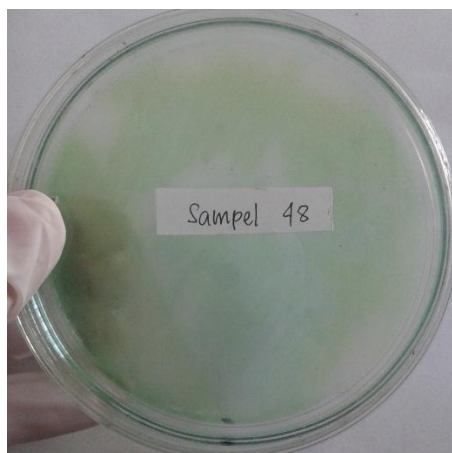


Lanjutan **Lampiran 10.**

Sampel 46



Sampel 48



Lampiran 11. Foto Hasil Pengecatan Gram

Sampel 4



Sampel 9



Sampel 10

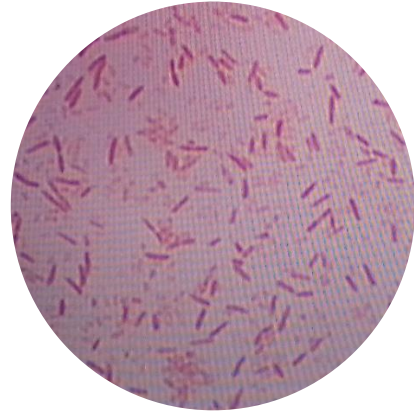


Sampel 13

Lanjutan **Lampiran 11.**



Sampel 17



Sampel 20



Sampel 22



Sampel 23



Sampel 32



Sampel 38

Lanjutan **Lampiran 11.**



Sampel 42



Sampel 45



Sampel 46



Sampel 48

Lampiran 12. Foto Hasil Uji Biokimia Media Kliger's Iron Agar (KIA), Sulphide Indol Motility (SIM), Lysine Iron Agar (LIA), dan Citrate.



Sampel 4



Sampel 9

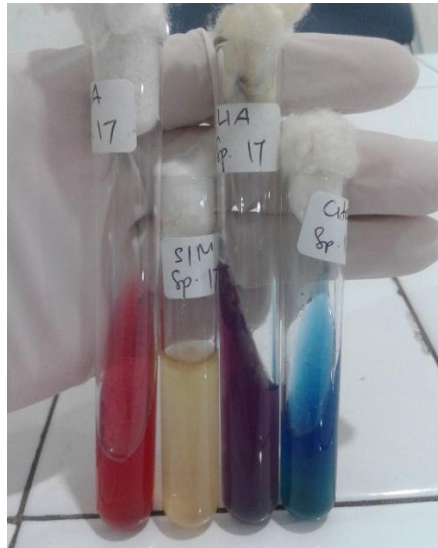


Sampel 10



Sampel 13

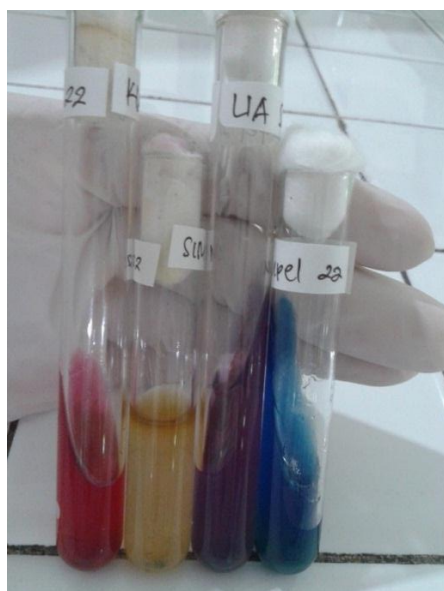
Lanjutan Lampiran 12.



Sampel 17



Sampel 20



Sampel 22



Sampel 23

Lanjutan Lampiran 12.



Sampel 32



Sampel 38



Sampel 42



Sampel 45

Lanjutan **Lampiran 12.**



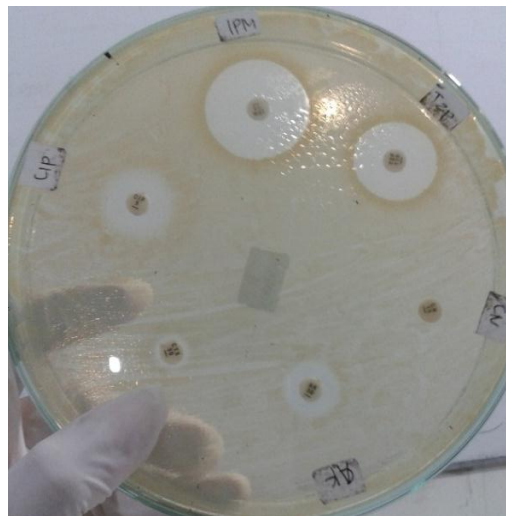
Sampel 46



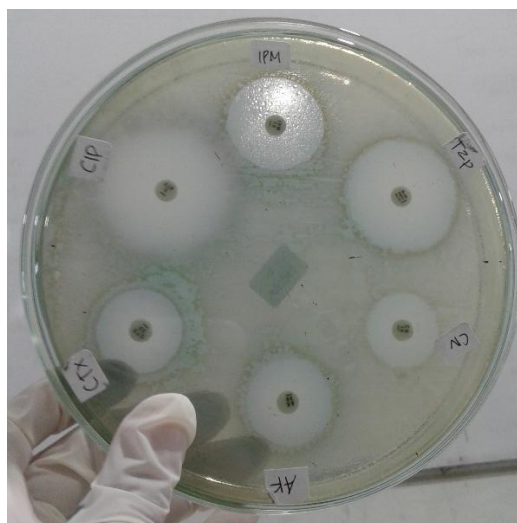
Sampel 48

Lampiran 13. Foto Hasil Uji Sensitivitas *Pseudomonas aeruginosa* terhadap Antibiotik Imipenem, Amikacin, Gentamicin, Sefotaxime, Piperasiin, dan Siprofloksasin.

Sampel 4

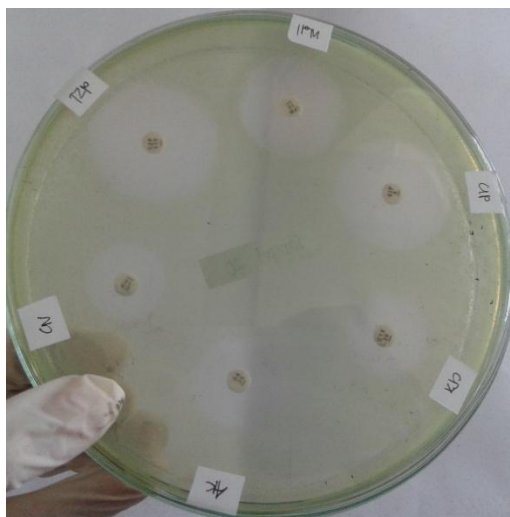


Sampel 9

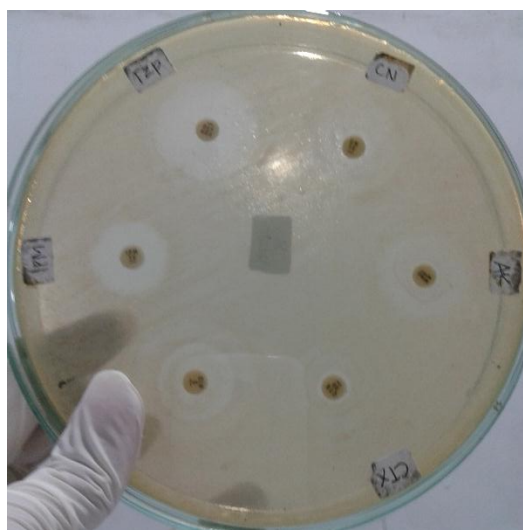


Lanjutan **Lampiran 13.**

Sampel 10



Sampel 13

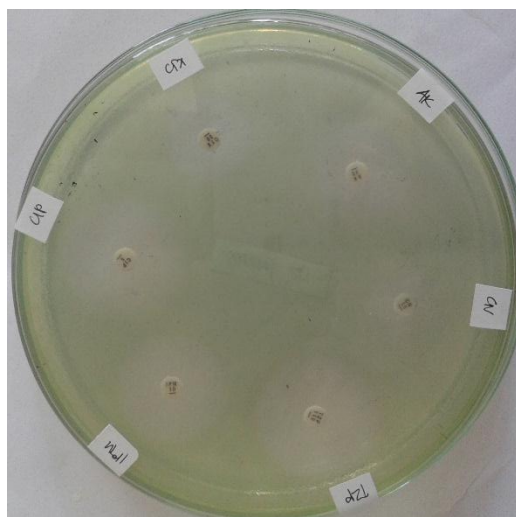


Lanjutan Lampiran 13.

Sampel 17

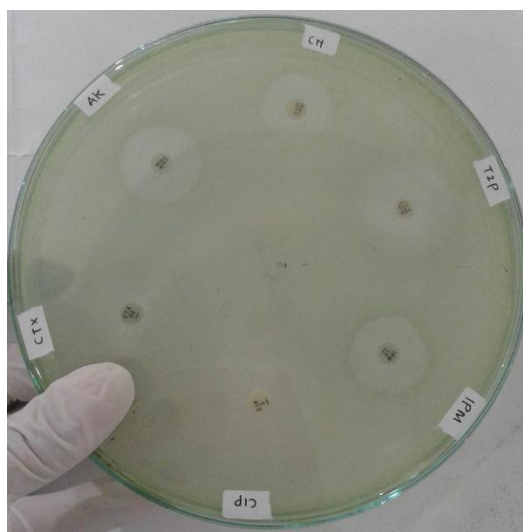


Sampel 20

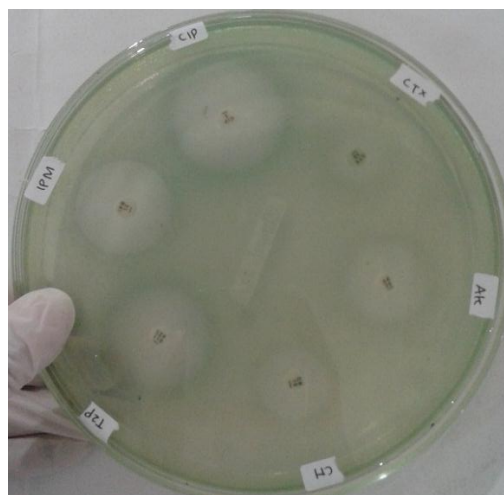


Lanjutan Lampiran 13.

Sampel 22

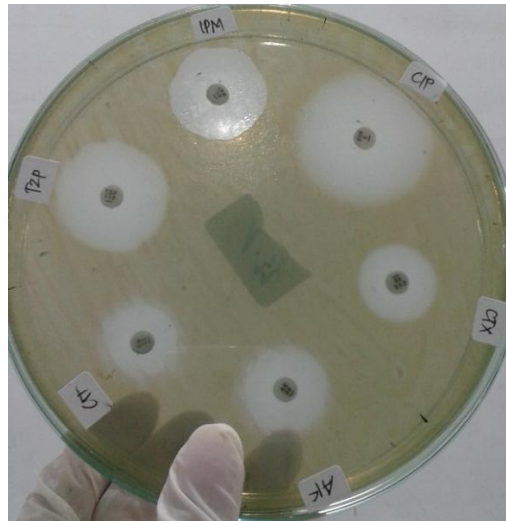


Sampel 23

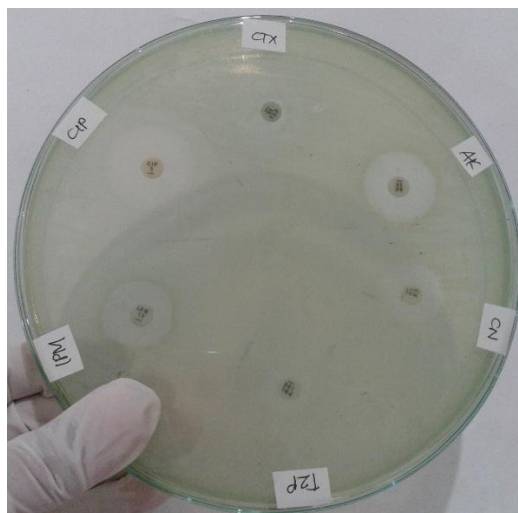


Lanjutan **Lampiran 13.**

Sampel 32

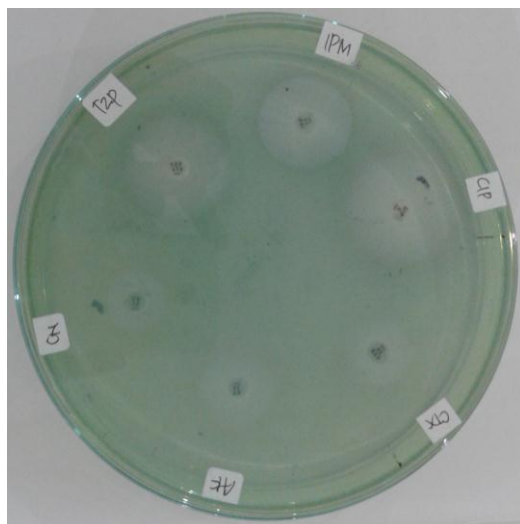


Sampel 38

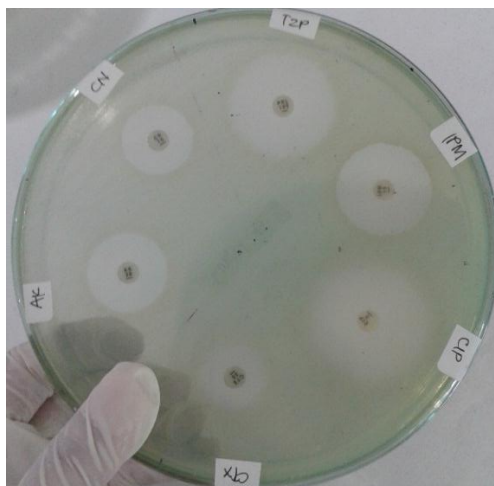


Lanjutan **Lampiran 13.**

Sampel 42

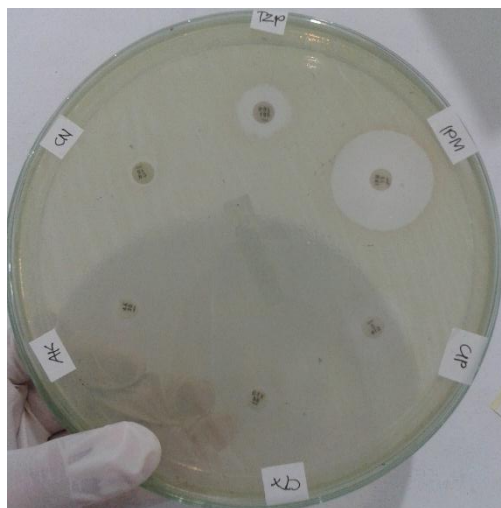


Sampel 45

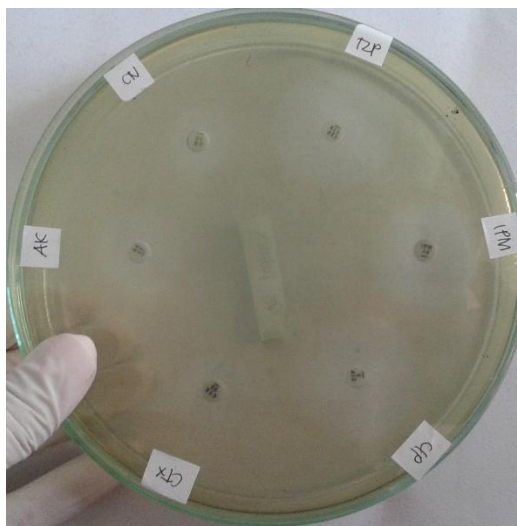


Lanjutan **Lampiran 13.**

Sampel 46



Sampel 48



Lampiran 14. Formulasi dan Pembuatan Media

1. Pseudomonas Selective Agar (PSA)

| | |
|--------------------------|----------|
| Gelatin peptone | 20,0 g/l |
| Magnesium chloride | 1,4 g/l |
| Pottasium sulphate | 10,0 g/l |
| Cetrimide..... | 0,3 g/l |
| Agar..... | 3 g/l |

pH 7,2±0,2 @ 25°C

Suspensikan 44,3 gram media dalam 1000 ml aquades. Tambahkan 10 ml gliserol dan panaskan hingga media terlarut sempurna. Tuang dalam tabung dan sterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. diginkan media sampai suhu 50°C kemudian tuang ke dalam cawan petri steril (Thermo Scientific, 2011).

2. Brain Heart Infusion (BHI)

| | |
|-------------------------------------|----------|
| Brain Infusion Solids | 12,5 g/l |
| Brain Heart Infusion Solide | 5,0 g/l |
| Protease peptone | 10,0 g/l |
| Glukose | 2,0 g/l |
| Sodium chloride | 5,0 g/l |
| Disodium hydrogen phosphatase | 2,5 g/l |
| Agar..... | 10,0 g/l |

pH 7,4±0,2 @ 25°C

Suspensikan 37 gram media dalam 1000 ml aquades. Larutkan dan tuang dalam tabung reaksi. Sterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit (Thermo Scientific, 2011).

3. Kliger's Iron Agar (KIA)

| | |
|--------------------------|----------|
| 'Lab-lemco' Powder | 3,0 g/l |
| Yeast extract..... | 3,0 g/l |
| Peptone..... | 20,0 g/l |
| Sodium chloride | 5.0 g/l |
| Lactose | 10,0 g/l |
| Glukose | 1,0 g/l |
| Ferric citrate | 0,3 g/l |
| Sodium thiosulfate | 0,3 g/l |
| Phenol red | 0,05 g/l |
| Agar..... | 12,0 g/l |

pH 7,4±0,2 @ 25°C

Suspensikan 55 gram media dalam 1000 ml aquades. Didihkan hingga larut sempurna. Tuang dalam tabung dan sterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Dinginkan dengan cara memposisikan tabung dalam keadaan miring (Thermo Scientific, 2011).

4. Media Sulfida Indol Motility (S.I.M)

| | |
|---------------------------------|----------|
| Tryptone | 20,0 g/l |
| Peptone..... | 6,1 g/l |
| Ferrous ammonium sulphate | 0,2 g/l |

Sodium thiosulphate.....0,2 g/l

Agar.....3,5 g/l

pH 7,3±0,2 @ 25°C

Suspensikan 30 gram media dalam 1000 ml aqades. Didihkan hingga larut sempurna. Tuang dalam tabung dan sterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit (Thermo Scientific, 2011).

5. Media lysine Iron Agar (LIA)

Bacteriological peptone.....5,0 g/l

Yeast extract.....3,0 g/l

Glucose.....1,0 g/l

L-lysine 10,0 g/l

Ferric ammonium citrate0,5 g/l

Sodium thiosulphate..... 0,04 g/l

Bromocresol purple..... 0,02 g/l

Agar..... 14,5 g/l

pH 6,7±0,2 @ 25°C

Suspensikan 34 gram media dalam 1000 ml aquades. Didihkan hingga larut sempurna. Tuang dalam tabung dan sterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Dinginkan dengan cara memposisikan tabung dalam keadaan miring (Thermo Scientific, 2011).

6. Media Citrat (Simons Citrate Agar)

Magnesium sulphate0.2 g/l

Ammonium dyhydrogen phosphate0,2 g/l

| | |
|--------------------------------|----------|
| Sodium ammonium phosphate..... | 0,8 g/l |
| Sodium citrate, tribasic | 2,0 g/l |
| Sodium chloride | 5,0 g/l |
| Bromotymol blue | 0,08 g/l |
| Agar..... | 15,0 g/l |

pH 7,0±0,2 @ 25°C

Suspensikan 23 gram media dalam 1000 ml aquades. Didihkan hingga larut sempurna. Tuang dalam tabung dan sterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Dinginkan dengan cara memposisikan tabung dalam keadaan miring (Thermo Scientific, 2011).

7. Media Mueller Hinton Agar (MHA)

| | |
|-------------------------------------|-----------|
| Beef, dehydrate infusion from | 300,0 g/l |
| Casein hydrolysate | 7,5 g/l |
| Starch | 1,5 g/l |
| Agar..... | 17,0 g/l |

pH 7,3±0,2 @ 25°C

Suspensikan 38 gram media dalam 1000 ml aquades. Didihkan hingga larut sempurna. Tuang dalam tabung dan sterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit (Thermo Scientific, 2011).

8. Standar Mac. Farland

Suspensi Standart Mac. Farland adalah suspensi yang menunjukan konsentrasi kekeruhan bakteri sama dengan 10⁸CFU/ml.

Komposisi :

Larutan Asam Sulfat 1% b/v 9,5 ml

Larutan Barium klorida 1,175% v/v 0,5 ml

Cara Pembuatan :

Campur kedua larutan tersebut dalam tabung reaksi dikocok dan dihomogenkan. Apabila kekeruhan suspensi bakteri uji adalah sama dengan kekeruhan suspensi standar, berarti konsentrasi suspensi bakteri adalah 10^8 CFU/ml.

9. Komposisi Cat Gram

Cat Gram A (warna ungu)

Kristal violet..... 2 gram

Etil Alkohol 95% 20 ml

Amonium oksalat 0,8 gram

Aquadest..... 80 ml

Cat Gram B (warna coklat)

Yodium..... 1 gram

Kalium Iodida 2 gram

Aquadest..... 300 ml

Cat Gram C (tak berwarna)

Aceton 50 ml

Etil alkohol..... 10 ml

Cat Gram D (warna merah)

Safranin 0,25 gram

Etil alkohol..... 10 ml

Aquadest..... 90 ml

10. Komposisi reagen Erlich

Erlich A

Paradimethyl Amino benzaldehyde 2 gram

Alkohol 95% 190 ml

HCl_{conc} 40 ml

Erlich B

Kalium Persulfat ($K_2S_2O_8$) jenuh dalam aquadest.