

BAB 5

HASIL DAN ANALISIS DATA

5.1. Hasil Penelitian

5.1.1. Isolasi Sampel Urin dan Identifikasi

Isolasi kuman dilakukan dengan cara sampel diisolasi menggunakan metode streak plate ke dalam media MCA secara aseptis. Media MCA kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Koloni yang tumbuh pada media MCA dilakukan identifikasi. Identifikasi dilakukan dengan pengamatan morfologi koloni yang tumbuh pada media MCA dan uji biokimia. Hasil uji morfologi dan uji biokimia kemudian dicocokkan dengan *Bergeys of Manual Determinative Bacteriology* (Buchanan *et al.*, 1974).

Koloni yang tumbuh pada media MCA dilakukan pengamatan secara makroskopis meliputi warna, elevasi, tepian, konsistensi, dan ukuran. Hasil karakterisasi makroskopis dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Karakterisasi makroskopis koloni bakteri dari urin ISK pada media MCA

Kode Sampel	Karakter morfologi				
	Warna	Elevasi	Tepian	Konsistensi	Bentuk
S1	Merah muda	Cembung	Bergerigi	Kering	Bulat kecil
S2	Merah muda	Cembung	Halus	Mucoid	Bulat besar
S3	Merah muda	Cembung	Bergerigi	Kering	Bulat kecil
S4	Merah muda	Cembung	Bergerigi	Mucoid	Bulat besar
S5	Merah muda	Cembung	Halus	Kering	Bulat kecil
S6	Putih krem	Cembung	Bergerigi	Kering	Bulat sedang
S7	Putih krem	Cembung	Bergerigi	Kering	Bulat sedang
S8	Merah muda	Cembung	Bergerigi	Kering	Bulat kecil
S9	Merah muda	Cembung	Bergerigi	Kering	Bulat kecil
S10	Merah Muda	Cembung	Halus	Mucoid	Bulat besar
S11	Merah muda	Cembung	Bergerigi	Kering	Bulat kecil
S12	Merah muda	Cembung	Halus	Mucoid	Bulat besar

S13	Merah muda	Cembung	Bergerigi	Kering	Bulat kecil
S14	Merah muda	Cembung	Bergerigi	Kering	Bulat kecil
S15	Merah muda	Cembung	Halus	Mucoid	Bulat besar
S16	Merah muda	Cembung	Bergerigi	Kering	Bulat kecil
S17	Merah muda	Cembung	Bergerigi	Kering	Bulat kecil
S18	Merah muda	Cembung	Halus	Mucoid	Bulat besar
S19	Merah muda	Cembung	Bergerigi	Kering	Bulat kecil
S20	Putih krem	Cembung	Bergerigi	Kering	Bulat sedang
S21	Merah muda	Cembung	Halus	Mucoid	Bulat besar
S22	Merah muda	Cembung	Halus	Mucoid	Bulat besar
S23	Merah muda	Cembung	Bergerigi	Kering	Bulat kecil
S24	Merah muda	Cembung	Bergerigi	Kering	Bulat kecil
S25	Merah muda	Cembung	Halus	Mucoid	Bulat besar
S26	Merah muda	Cembung	Bergerigi	Kering	Bulat kecil
S27	Putih krem	Cembung	Bergerigi	Kering	Bulat sedang
S28	Merah muda	Cembung	Halus	Mucoid	Bulat besar
S29	Merah muda	Cembung	Halus	Mucoid	Bulat besar
S30	Putih krem	Cembung	Bergerigi	Kering	Bulat sedang

Koloni yang tumbuh pada media MCA selanjutnya dilakukan uji reaksi biokimia meliputi uji fermentasi karbohidrat (glukosa, laktosa, manitol, maltosa, dan sukrosa), uji H₂S, uji indol, uji motilitas, uji MR-VP, uji urease dan uji sitrat. Hasil karakterisasi uji biokimia dapat dilihat pada Tabel 4 berikut.

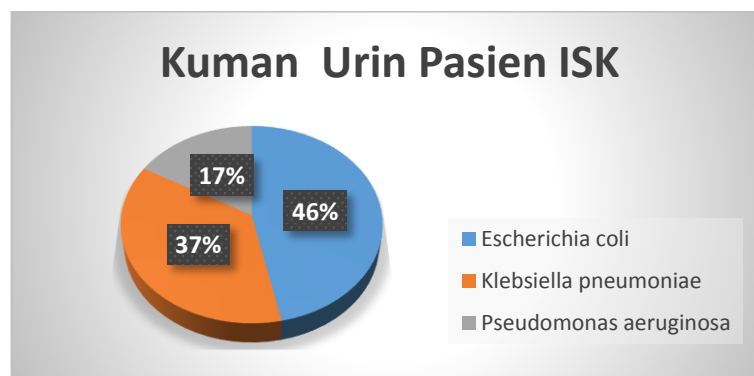
Tabel 4. Hasil karakterisasi uji biokimia bakteri dari urin ISK

Kode Sampel	Karakter uji biokimia													
	Glukosa	Laktosa	Manitol	Maltosa	Sukrosa	Gas	H ₂ S	Indol	Motil	MR	VP	Urease	Simon sitrat	
S1	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	
S2	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	
S3	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	
S4	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	
S5	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	
S6	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	
S7	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	
S8	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	
S9	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	

S10	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+
S11	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-
S12	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+
S13	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-
S14	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-
S15	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+
S16	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-
S17	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-
S18	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+
S19	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-
S20	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
S21	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+
S22	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+
S23	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-
S24	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-
S25	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+
S26	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-
S27	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
S28	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+
S29	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+
S30	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+

Keterangan : + = Positif
- = Negatif

Sampel (S1-S30) kemudian diidentifikasi berdasarkan hasil pengamatan makroskopis dan uji rekasi biokimia. Hasil identifikasi kuman pada urin ISK dapat dilihat pada Lampiran 10. Hasil identifikasi berdasarkan uji morfologi dan uji biokimia mengacu pada *Bergey's of Manual Determinative Bacteriology* (Buchanan *et al.*, 1974). Sebanyak 30 sampel (S1-S30) kuman yang diisolasi dari urin memperoleh hasil 14 sampel merupakan bakteri *Escherichia coli*, 11 sampel merupakan bakteri *Klebsiella pneumonie* dan sebanyak 5 sampel teridentifikasi sebagai *Pseudomonas aeruginosa*. Presentase kuman dalam urin pasien ISK dapat dilihat pada diagram lingkaran berikut.

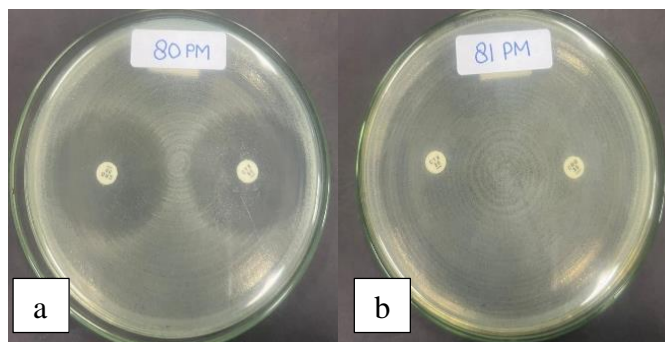


Gambar 6. Diagram kuman urin pasien ISK

5.1.2. Uji Skrining dan Konfirmasi ESBLs

5.1.2.1. Uji Skrining

Sampel dari hasil uji identifikasi yang positif *Escherichia coli* sebanyak 14 sampel dilanjutkan dengan uji skrining (uji resistensi) yang dilakukan dengan metode difusi cakram (*Disc diffusion method*) menggunakan media MHA (Muller Hinton Agar). Uji skrining merupakan uji awal untuk mengetahui resistensi bakteri. Suspensi bakteri dari masing-masing sampel dengan standard kekeruhan 0,5 *Mc Farland* ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL) diinokulasikan ke dalam media MHA secara aseptis kemudian letakkan disk antibiotik ke dalam media MHA dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C . Antibiotik yang digunakan adalah antibiotik *cefotaxime* dan *ceftriaxone*. Bakteri bersifat resisten terhadap antibiotik di tandai dengan tidak adanya zona hambat yang terbentuk disekitar disk antibiotik *cefotaxime* dan *ceftriaxone*. Zona hambat yang terbentuk pada media MHA dapat dilihat pada gambar 3 berikut.



(Dokumentasi Pribadi)

Gambar 7. Hasil uji resistensi (a) adanya zona hambat, (b) tidak ada zona hambat

Hasil uji skrining ESBLs pada *Escherichia coli* menunjukkan 2 dari 14 isolat *Escherichia coli* yaitu S3 dan S24 tidak terdapat zona hambat di sekitaran disk antibiotik yang menandakan bahwa antibiotik tersebut tidak menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* atau *Escherichia coli* bersifat resisten terhadap antibiotik. Hasil uji resistensi dihitung diameter zona hambat yang terbentuk. Diameter zona hambat dapat dilihat pada tabel 5 berikut.

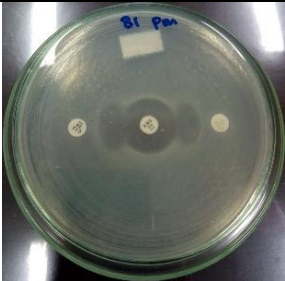
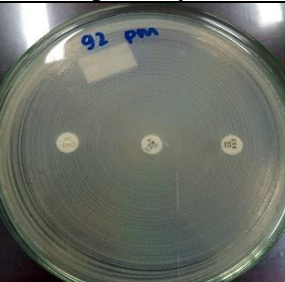
Tabel 5. Diameter zona hambat *Escherichia coli* terhadap antibiotik *ceftriaxone* dan *cefotaxime*

Kode Sampel	Diameter Zona Jernih (mm)		Interpretasi
	<i>Ceftriaxone</i>	<i>Cefotaxime</i>	
S1	29	30	Sensitive
S3	6	6	Resisten
S5	28	29	Sensitive
S8	27	29	Sensitive
S9	26	28	Sensitive
S11	26	30	Sensitive
S13	28	30	Sensitive
S14	27	27	Sensitive
S16	32	40	Sensitive
S17	27	29	Sensitive
S19	27	28	Sensitive
S23	28	28	Sensitive
S24	6	6	Resisten
S26	27	28	Sensitive

5.1.2.2. Uji Konfirmasi ESBL_s

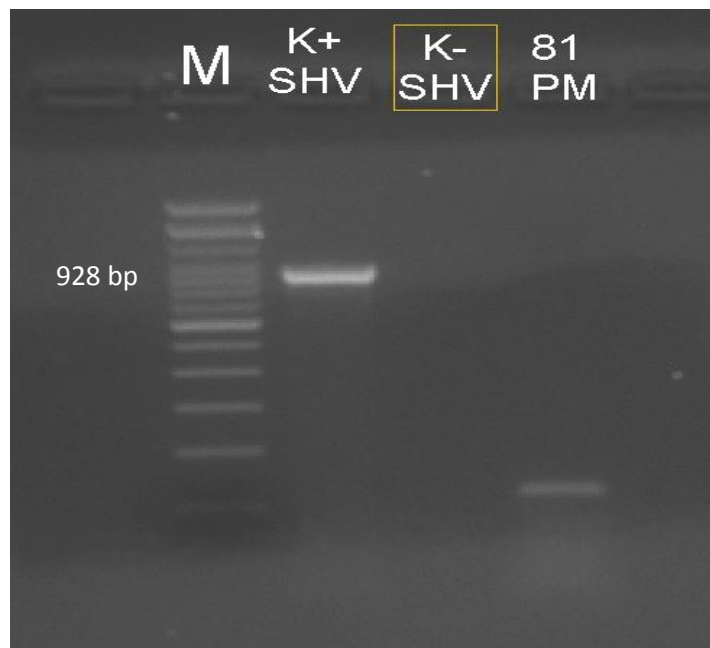
Dua sampel yang menunjukkan tidak terdapat zona hambat pada uji skrining yaitu sampel S3 dan S24 dilanjutkan dengan uji konfirmasi ESBL_s. Uji konfirmasi dilakukan menggunakan metode *Double Disc Synergy Test* (DDST). Hasil uji ESBL_s dapat dilihat pada Tabel 6 berikut.

Tabel 6. Hasil uji konfirmasi ESBL_s

Kode Sampel	Hasil uji ESBL _s	Interpretasi
S3	 <p>Nampak key hole</p>	Positif
S24	 <p>Tidak nampak key hole</p>	Negatif

5.1.3. Deteksi Gen SHV

Deteksi gen SHV dilakukan menggunakan metode PCR secara konvensional. Sampel yang positif menghasilkan ESBL_s pada uji konfirmasi yaitu sampel dengan kode S3 diekstraksi dan dilakukan uji PCR untuk mendeteksi gen SHV. Hasil uji PCR menunjukkan sampel kode S3 negatif gen SHV atau ESBL_s yang dihasilkan oleh sampel S3 tidak disandi oleh gen SHV.



Gambar 8. Hasil pemeriksaan PCR gen SHV

Hasil deteksi gen SHV dapat dilihat pada Tabel 7 berikut.

Tabel 7. Hasil deteksi gen SHV

No	Kode Sampel	Pemeriksaan PCR gen SHV
1.	S3 (81 PM)	Negatif (-)
2.	Kontrol (+) <i>K. Pneumoniae</i> ATCC 700603	Positif (+)
3.	Kontrol (-) <i>E.coli</i> ATCC 25922	Negatif (-)

5.3. Analisis Data

Hasil elektroforesis dianalisa menggunakan aplikasi gel analyzer 19.1 dan diperoleh hasil analisis pada Tabel 8 sebagai berikut.

Tabel 8. Hasil analisis panjang DNA menggunakan aplikasi gel analyzer 19.2.

Kode Sampel	Band	Rf	Raw Volume	Molecular Weight (bp)	Kesimpulan
Kontrol (+)	1	0,41	2912	933	-
Kontrol (-)	-	-	-	-	Negatif
S3	1	0,748	1703	167	Negatif