

**Akurasi MALDI -TOF MS untuk Identifikasi *Escherichia coli* sebagai  
Penyebab Infeksi Saluran Kemih pada Wanita Hamil di Beberapa  
Puskesmas di Makassar**

*The Accuracy MALDI -TOF MS to identify *Escherichia coli* as a Cause  
of Urinary Tract Infections in Pregnant Women at Several Health  
Centers in Makassar*



**NURLIANTI  
C195202001**



**PROGRAM STUDI MIKROBIOLOGI KLINIK  
PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**2024**

**Akurasi MALDI -TOF MS untuk Identifikasi *Escherichia coli* sebagai  
Penyebab Infeksi Saluran Kemih pada Wanita Hamil di Beberapa  
Puskesmas di Makassar**

*The Accuracy MALDI -TOF MS to identify *Escherichia coli* as a Cause of  
Urinary Tract Infections in Pregnant Women at Several Health Centers in  
Makassar*



**NURLIANTI**  
C195202001

Pembimbing 1:

**dr. Rizalinda Sjahril, M.Sc, Ph.D., Sp.MK, Subsp. Vir. (K)**

Pembimbing 2:

**dr. Baedah Madjid, Sp.MK, Subsp Vir. (K)**

**PROGRAM STUDI MIKROBIOLOGI KLINIK  
PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**2024**

**Akurasi MALDI -TOF MS untuk Identifikasi *Escherichia coli* sebagai  
Penyebab Infeksi Saluran Kemih pada Wanita Hamil di Beberapa Puskesmas  
di Makassar**

Karya Akhir

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Spesialis  
Program Studi Mikrobiologi Klinik

Disusun dan diajukan oleh

NURLIANTI

Kepada

PROGRAM STUDI MIKROBIOLOGI KLINIK  
PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN

2024

## LEMBAR PENGESAHAN

### KARYA AKHIR

#### Akurasi

**MALDI -TOF MS untuk Identifikasi *Escherichia coli*  
sebagai Penyebab Infeksi Saluran Kemih pada Wanita Hamil di  
Beberapa Puskesmas di Makassar**

Disusun dan diajukan oleh :

**NURLIANTI**

Nomor Pokok : C195202001

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis  
Pada Tanggal 26 Januari 2024

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

**Menyetujui**

**Komisi Penasehat**

Pembimbing Utama

dr. Rizalinda Sjahril, M.Sc., Ph.D., Sp.MK.,  
subsp. Vir. (K)

Pembimbing Anggota

dr. Baedah Madjid, Sp.MK., Subsp. Vir. (K)

Kepala Program Studi  
Mikrobiologi Klinik UNHAS

**Prof. dr. Mochammad Hatta, Ph.D., Sp.MK.,  
Subsp. Bakt. (K)**  
NIP. 19570416 198503 1 001

Dekan Fakultas Kedokteran UNHAS

**Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes., Sp.PD-KGH., Sp.GK.**  
NIP. 19680330 199603 2 001

## PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIP

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul " Akurasi MALDI -TOF MS untuk Identifikasi *Escherichia coli* sebagai Penyebab Infeksi Saluran Kemih pada Wanita Hamil di Beberapa Puskesmas di Makassar" adalah benar karya saya dengan arahan dari tim pembimbing dr. Rizalinda Sjahril, M.Sc., Ph.D., Sp.MK, Subsp. Vir. (K) sebagai Pembimbing Utama dan dr. Baedah Madjid, Sp.MK, Subsp. Vir. (K) sebagai Pembimbing Pendamping. Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam daftar pustaka tesis ini.

Sebagian dari isi tesis ini telah submit di *Journal of Gazzetta Medica Italiana Archivio per le Scienze Mediche*, sebagai artikel dengan judul "*Prevalence And Characteristics Of Urinary Tract Infections In Pregnant Women: A Focus On Age, Employment, And Hygiene Practices*". Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomi) dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 29 November 2024



## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur syukur penulis panjatkan kepada Allah Subhanawataalla atas segala berkat dan hidayah-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan tesis yang berjudul "Akurasi MALDI -TOF MS untuk Identifikasi *Escherichia coli* sebagai Penyebab Infeksi Saluran Kemih pada Wanita Hamil di Beberapa Puskesmas di Makassar".

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada para pembimbing dan penguji yang banyak membantu dalam penyusunan tesis ini

1. dr. Rizalinda Sjahril, M.Sc.,Ph.D., Sp. MK, Subsp. Vir (K) sebagai penasehat utama yang telah membimbing dan mengarahkan penulis dalam menyusun tesis ini.
2. dr. Baedah Madjid, Sp.MK, Subsp. Vir. (K) selaku anggota penasehat yang juga telah membimbing dalam menyusun tesis ini.
3. Prof. dr. Moch. Hatta, Ph.D., Sp.MK (K) selaku tim penilai yang telah meluangkan waktu dan memberikan saran demi perbaikan tesis ini.
4. Dr. dr. Ilhamjaya Patellongi, M.Kes selaku tim penilai yang telah meluangkan waktu dan memberikan saran demi perbaikan tesis ini.
5. dr. Yoeke Dewi Rasita, M.Med.Klin, Sp.MK selaku tim penilai yang telah meluangkan waktu dan memberikan saran demi perbaikan tesis ini.

Penulis persembahkan tesis ini sebagai rasa terima kasih yang tulus kepada ibunda tercinta dan suami tersayang penulis yang telah memberikan semangat selama penyusunan tesis ini. Penulis menyadari bahwa tesis ini tidak luput dari kesalahan, sehingga dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan saran dan kritik dari semua pihak.

Makassar 29 November 2024

Nurlianti

## ABSTRAK

NURLIANTI. *Akurasi MALDI-TOF MS untuk Identifikasi Escherichia coli sebagai Penyebab Infeksi Saluran Kemih pada Wanita Hamil di Beberapa Puskesmas di Makassar* (dibimbing oleh Rizalinda Sjahril dan Baedah Madjid).

Infeksi Saluran Kemih (ISK) pada wanita hamil merupakan salah satu masalah kesehatan yang umum, dengan prevalensi yang signifikan dan dapat menyebabkan komplikasi serius bagi ibu dan janin. *Escherichia coli* (*E. coli*) adalah patogen utama yang terlibat dalam ISK dan diperkirakan menyumbang 80-90% dari infeksi yang didapat di komunitas. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi akurasi metode *Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry* (MALDI-TOF MS) dalam mengidentifikasi *E. coli* dari sampel urin wanita hamil yang didiagnosis menderita ISK di beberapa puskesmas di Makassar. Penelitian meliputi pengambilan sampel urin secara steril dari wanita hamil yang memenuhi kriteria, diikuti dengan kultur urin pada media *Blood Agar* dan *MacConkey Agar*, dan identifikasi menggunakan VITEK 2 serta MALDI-TOF MS. Penelitian ini menunjukkan bahwa MALDI-TOF MS memiliki akurasi yang sangat tinggi dalam mengidentifikasi *E. coli* dengan hasil identifikasi yang konsisten dengan metode VITEK 2. Penelitian ini juga mencatat bahwa MALDI-TOF MS lebih efisien dan cepat dibandingkan dengan metode konvensional. Akurasi MALDI-TOF MS dalam mengidentifikasi bakteri *E. coli* pada pasien yang didiagnosis dengan infeksi saluran kemih adalah 100%. MALDI-TOF MS dapat digunakan sebagai metode diagnostik di laboratorium klinis karena akurasinya yang tinggi.

Kata kunci: infeksi saluran kemih, *escherichia coli*, wanita hamil, MALDI-TOF MS, VITEK 2



## ABSTRACT

NURLIANTI. The Accuracy of MALDI-TOF MS to Identify *Escherichia Coli* as a Cause of Urinary Tract Infections in Pregnant Women at Several Public Health Centers in Makassar (supervised by Rizalinda Sjahril and Baedah Madjid)

Urinary tract infections (UTIs) in pregnant women are a common health issue, with significant prevalence and potential to cause serious complications for both the mother and the fetus. *Escherichia coli* (*E. coli*) is the primary pathogen involved in UTIs, accounting for an estimated 80-90% of community-acquired infections. This study aims to evaluate the accuracy of the Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization. Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) method was used to identify *E. coli* from urine samples of pregnant women diagnosed with UTIs at several public health centers in Makassar. The study involved the sterile collection of urine samples from pregnant women meeting the criteria, followed by urine culture on Blood Agar and MacConkey Agar media, and identification using VITEK 2 and MALDI-TOF MS. The findings indicate that MALDI-TOF MS demonstrates a very high accuracy in identifying *E. coli*, with identification results consistent with those obtained from the VITEK 2 method. Additionally, the study notes that MALDI-TOF MS is more efficient and faster compared to conventional methods. The accuracy of MALDI-TOF MS in identifying *E. coli* in patients diagnosed with urinary tract infections is found to be 100%. Given its high accuracy, MALDI-TOF MS can be utilized as a diagnostic method in clinical laboratories.

**Keywords:** urinary tract infection, *escherichia coli*, pregnant women, MALDI-TOF MS, VITEK 2.



## DAFTAR ISI

|                                                            |      |
|------------------------------------------------------------|------|
| HALAMAN JUDUL .....                                        | iv   |
| LEMBAR PENGESAHAN.....                                     | v    |
| PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA .....   | vi   |
| UCAPAN TERIMA KASIH.....                                   | vii  |
| ABSTRAK.....                                               | viii |
| ABSTRACT .....                                             | ix   |
| DAFTAR TABEL .....                                         | xii  |
| DAFTAR GAMBAR.....                                         | xiii |
| DAFTAR LAMPIRAN .....                                      | xiv  |
| DAFTAR ISTILAH, RINGKASAN DAN LAMBANG.....                 | xv   |
| BAB 1 PENDAHULUAN .....                                    | 1    |
| 1.1 Latar Belakang.....                                    | 1    |
| 1.2 Rumusan Masalah .....                                  | 2    |
| 1.3 Pertanyaan Penelitian .....                            | 2    |
| 1.4 Tujuan Penelitian.....                                 | 2    |
| 1.4.1 Tujuan umum.....                                     | 2    |
| 1.4.2 Tujuan khusus.....                                   | 3    |
| 1.5 Manfaat Penelitian.....                                | 3    |
| 1.5.1 Manfaat keilmuan .....                               | 3    |
| 1.5.2 Manfaat terapan.....                                 | 3    |
| 1.6 Keterbaruan Penelitian.....                            | 3    |
| BAB 2 METODE PENELITIAN .....                              | 4    |
| 2.1 Metode Penelitian.....                                 | 4    |
| 2.1.1 Jenis penelitian .....                               | 4    |
| 2.1.2 Desain penelitian .....                              | 4    |
| 2.2 Waktu dan Tempat Penelitian .....                      | 4    |
| 2.2.1 Waktu penelitian .....                               | 4    |
| 2.2.2 Tempat penelitian.....                               | 4    |
| 2.3 Populasi dan Subjek penelitian .....                   | 5    |
| 2.3.1 Populasi penelitian.....                             | 5    |
| 2.3.2 Subyek penelitian .....                              | 5    |
| 2.3.3 Kriteria Subyek penelitian .....                     | 5    |
| 2.3.4 Jumlah subyek penelitian.....                        | 6    |
| 2.5 Cara pemilihan subyek penelitian.....                  | 6    |
| 2.6 Alur penelitian.....                                   | 7    |
| 2.7 Prosedur penelitian .....                              | 8    |
| 2.7.1 Biakan semi-kuantitatif pada lempeng agar darah..... | 8    |

|                                                                                              |          |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| 2.7.2 Biakan pada medium MacConkey Agar .....                                                | 8        |
| 2.7.3 Identifikasi koloni dengan metode Vitek 2 .....                                        | 9        |
| 2.7.4 Identifikasi koloni dengan metode MALDI-TOF MS: .....                                  | 9        |
| 2.7.5 Analisis data .....                                                                    | 10       |
| 2.8 Alat dan bahan penelitian .....                                                          | 10       |
| 2.8.1 Alat penelitian .....                                                                  | 10       |
| 2.8.2 Bahan penelitian .....                                                                 | 11       |
| 2.9 Aspek Etika Penelitian .....                                                             | 11       |
| BAB 3 HASIL PENELITIAN .....                                                                 | 12       |
| 3.1 Korelasi Hasil Mikroskopis dan Fenotipik .....                                           | 12       |
| 3.3 Hasil Pemeriksaan Kultur dengan MacConkey Agar (MCA) .....                               | 13       |
| 3.4 Hasil pemeriksaan biokimia .....                                                         | 14       |
| 3.5 Hasil Identifikasi dengan VITEK 2 dan MALDITOF-MS .....                                  | 15       |
| BAB 4 PEMBAHASAN .....                                                                       | 16       |
| BAB 5 PENUTUP .....                                                                          | 20       |
| 5.1 Kesimpulan .....                                                                         | 20       |
| 5.2 Saran .....                                                                              | 20       |
| DAFTAR PUSTAKA .....                                                                         | 21       |
| LAMPIRAN .....                                                                               | <b>S</b> |
| Lampiran 1. Jadwal Penelitian .....                                                          | 23       |
| Lampiran 2. Daftar Peneliti dan Biodata Peneliti Utama .....                                 | 24       |
| Lampiran 3. Rencana Biaya Penelitian .....                                                   | 25       |
| Lampiran 4. Permintaan Izin Kepala Dinas Kesehatan .....                                     | 26       |
| Lampiran 5. Kotamadya Makassar untuk Melakukan Penelitian di Beberapa<br>Puskesmas .....     | 27       |
| Lampiran 6. Formulir Izin Penelitian dari Kepala Dinas Kesehatan Kotamadya<br>Makassar ..... | 32       |
| Lampiran 7. Naskah Penjelasan untuk Subyek Penelitian .....                                  | 33       |
| Lampiran 8. Formulir Persetujuan Subyek Penelitian .....                                     | 34       |
| Lampiran 9. Fomulir Tabel Data Penelitian .....                                              | 35       |
| Lampiran 10. Rekomendasi Etik Penelitian .....                                               | 36       |

## DAFTAR TABEL

| Nomor urut                                                                                                  | Halaman |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| Tabel 1. Daftar alat penelitian .....                                                                       | 10      |
| Tabel 2. Daftar bahan penelitian .....                                                                      | 11      |
| Tabel 3. Pengelompokan mikroskopis melalui pewarnaan Gram langsung dari sampel urine .....                  | 12      |
| Tabel 4. Persentase hasil kultur sampel urin pada media Blood Agar (BA) $\geq 10^5$ .....                   | 12      |
| Tabel 5. Persentase hasil pemeriksaan kultur pada media MCA .....                                           | 13      |
| Tabel 6. Deteksi bakteri yang kemungkinan adalah <i>E. coli</i> (N=100) oleh VITEK 2 dan MALDI-TOF MS ..... | 15      |

## DAFTAR GAMBAR

| Nomor urut                                                                                                                                                                                            | Halaman |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| Gambar 1. Desain Penelitian .....                                                                                                                                                                     | 4       |
| Gambar 2. Alur Penelitian .....                                                                                                                                                                       | 7       |
| Gambar 3. Hasil sampel urine yang dikultur pada media Agar Darah .....                                                                                                                                | 13      |
| Gambar 4. Hasil dari sampel urine yang dibiakkan pada media Agar<br>MacConkey Kiri tumbuh koloni merah muda (fermentasi laktosa);<br>Kanan tumbuh koloni tidak berwarna (tidak fermentasi laktosa)... | 14      |
| Gambar 5. Hasil pemeriksaan biokimia isolat bakteri dari urin ibu hamil<br>dengan ISK .....                                                                                                           | 14      |

## DAFTAR LAMPIRAN

| Nomor urut                                                                                   | Halaman |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| Lampiran 1. Jadwal Penelitian.....                                                           | 23      |
| Lampiran 2. Daftar Peneliti dan Biodata Peneliti Utama.....                                  | 24      |
| Lampiran 3. Rencana Biaya Penelitian .....                                                   | 25      |
| Lampiran 4. Naskah Permintaan Izin Kepala Dinas Kesehatan .....                              | 26      |
| Lampiran 5. Kotamadya Makassar untuk Melakukan Penelitian di Beberapa<br>Puskesmas.....      | 27      |
| Lampiran 6. Formulir Izin Penelitian dari Kepala Dinas Kesehatan Kotamadya<br>Makassar ..... | 32      |
| Lampiran 7. Naskah Penjelasan untuk Subyek Penelitian .....                                  | 33      |
| Lampiran 8. Formulir Persetujuan Subyek Penelitian.....                                      | 34      |
| Lampiran 9. Fomulir Tabel Data Penelitian.....                                               | 35      |
| Lampiran 10. Rekomendasi Etik Penelitian .....                                               | 36      |
| Lampiran 11. Hasil Tes Turinitin.....                                                        |         |

## DAFTAR ISTILAH, RINGKASAN DAN LAMBANG

| Singkatan/Lambang | Arti dan penjelasan     |
|-------------------|-------------------------|
| ISK               | Infeksi Saluran Kemih   |
| ASB               | Asimpomatik BAKteriuria |
| CFU               | Coloni Formion Unit     |
| PMN               | Polimorfonukleat        |
| LPB               | Lapangan Pandang Besar  |
| LPK               | Lapangan Pandang kecil  |
| LE                | Leukosit Esterase       |
| ICU               | Intensive Care Unit     |



## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Infeksi saluran kemih (ISK) pada wanita hamil adalah infeksi bakteri yang paling umum diderita wanita hamil sebagai konsekuensi kehamilan, yang bisa menyebabkan komplikasi pada ibu dan janin (Amiri et al., 2015; Azami et al., 2019., Bhara, 2021; Ansaldi & de Tejada, 2022; Tang, 2020), paling banyak disebabkan oleh *E. coli* yang dikenal sebagai uropathogenic *Escherichia coli* (*E. coli*) (UPEC) (Moblely S.M 2009; Rachel R 2011; Agarwal, J 2012; Shah, C 2019).

*Escherichia coli* yang menyebabkan sebagian besar ISK, dianggap hanya mewakili sebagian dari galur yang menjajah usus besar, *E. coli* adalah penyebab utama dari seluruh spektrum ISK, terhitung lebih dari 80%-90 % dari infeksi yang di dapat dari komunitas. Strain *E. coli* yang menyebabkan ISK disebut uropathogenic *E. coli* (UPEC) (Moblely S.M 2009; Rachel R 2011; Agarwal, J 2012; Shah, C 2019).

Studi di negara berkembang menunjukkan bahwa ISK biasanya hadir pada kunjungan antenatal pertama dan kurang dari 1% wanita menderita bakteriuria pada awal kehamilan (Orji O 2021). Wanita hamil merupakan bagian dari kelompok yang berisiko terkena infeksi saluran kemih (ISK), prevalensi sekitar 2% -10% . Dan 95% yang didiagnosis dokter dengan gejala sistitis. Diperkirakan 40% wanita dewasa akan mengalami gejala sistitis selama hidup mereka, dan *E. coli* akan diidentifikasi sebagai agen etiologi pada 75 hingga 80% kasus ini. Empat puluh hingga lima puluh persen wanita akan mengalami lebih dari satu ISK (Rosana Y 2020). ISK pada kehamilan berkontribusi terhadap morbiditas dan mortalitas ibu dan perinatal yang signifikan. Komplikasi ibu termasuk pielonefritis terbuka pada 25% – 40% wanita yang sebelumnya tidak menunjukkan gejala saat kehamilan berlangsung, dan pada 1% – 2% pada mereka dengan infeksi simtomatik (Orji O 2021).

MALDI-TOF MS adalah teknologi rapid mass spectrometry yang dikembangkan pada akhir tahun 1980-an dengan sensitivitas yang relatif tinggi terhadap berbagai jenis sampel. Dalam beberapa tahun terakhir, analisis protein berdasarkan technique matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) telah diterapkan dan dikenal sebagai metode yang cepat, murah, andal dan akurat untuk analisis laboratorium rutin dan telah digunakan untuk mengidentifikasi mikobakteri, nokardia, ragi dan anaerob, isolasi dari media

padat spesimen klinis. Selain itu, ia menghasilkan hasil akhir lebih cepat daripada metode konvensional dan metode molekuler ( Pavlovic M 2013;Li Y 2019;Tang M 2020;Nomura, F. 2015). Saat ini, ada beberapa penelitian untuk mengevaluasi kemandirian identifikasi bakteri anaerob dengan metode MALDI-TOF MS. Tujuan dari meta-analisis saat ini adalah untuk menentukan efektivitas spektrometri massa sebagai metode diagnostik untuk bakteri anaerob dengan mencari yang terkait publikasi dalam literatur (Li Y, 2019). Banyak penelitian telah melaporkan deteksi langsung dan identifikasi patogen bakteri dari sampel urin menggunakan MALDI-TOF MS (Tang M, 2019).

MALDI-TOF MS memiliki beberapa keterbatasan karena biaya pembelian dan pemeliharaan instrumen tinggi, serta sulit untuk membedakan beberapa spesies Enterobacteriaceae yang terkait erat seperti *Escherichia* dan *Shigella*, juga metode ini sulit mendeteksi resistensi antimikroba. Juga metode ini sukar memisahkan spesies dari genus *Avibacterium* (Tang M, 2019 ; Alispahic M, 2014).

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan hal tersebut di atas, maka rumusan masalah penelitian ini adalah: “Bagaimanakah akurasi metode MALDI-TOF MS untuk identifikasi *uropathogenic Escherichia coli* pada urin wanita hamil yang didiagnosis menderita ISK di beberapa puskesmas di Makassar?

## **1.3 Pertanyaan Penelitian**

Apakah metode MALDI-TOF MS akurat untuk identifikasi *uropathogenic Escherichia coli* pada urin wanita hamil yang didiagnosis menderita ISK di beberapa puskesmas di Makassar?

## **1.4 Tujuan Penelitian**

### **1.4.1 Tujuan umum**

Untuk mengetahui akurasi, MALDI-TOF MS untuk identifikasi *uropathogenic Escherichia coli* sebagai penyebab infeksi saluran kemih pada wanita hamil di beberapa puskesmas di Makassar.

#### **1.4.2 Tujuan khusus**

Untuk mengetahui akurasi metode MALDI-TOF MS untuk identifikasi *uropathogenic Escherichia coli* pada urin wanita hamil yang didiagnosis menderita ISK di beberapa puskesmas di Makassar.

### **1.5 Manfaat Penelitian**

#### **1.5.1 Manfaat keilmuan**

1. Meningkatkan wawasan peneliti di bidang mikrobiologi tentang peran identifikasi bakteri dan pertimbangan untuk memilih menggunakan media yang lebih tepat.
2. Data awal dalam skrining infeksi saluran kemih pada wanita hamil

#### **1.4.3 Manfaat terapan**

1. Melalui uji kesesuaian identifikasi bakteri dapat membantu mencari penyebab infeksi sehingga pemberian antibiotika lebih tepat.
2. Menilai kesesuaian alat identifikasi sebagai pertimbangan dalam memilih media.

### **1.6 Keterbaruan Penelitian**

Penelitian ini belum pernah dilakukan di Kota Makassar walaupun pernah dilakukan di Indonesia.

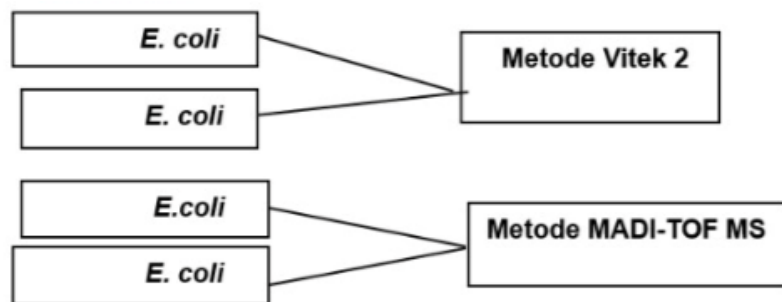
## BAB 2 METODE PENELITIAN

### 2.1 Metode Penelitian

#### 2.1.1 Jenis penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian uji diagnostik untuk menentukan akurasi metode MALDI-TOF MS pada identifikasi *Escherichia coli* yang diisolasi dari urin wanita hamil penderita infeksi saluran kemih di beberapa puskesmas di Makassar.

#### 2.1.2 Desain penelitian



Gambar 1. Desain Penelitian

### 2.2 Waktu dan Tempat Penelitian

#### 2.2.1 Waktu penelitian

Pengambilan data dilakukan selama 6 bulan atau sampai jumlah sampel tercukupi, setelah mendapat persetujuan etik dan izin penelitian.

#### 2.2.2 Tempat penelitian

1. Pengambilan dan pengumpulan urin dilakukan pengumpulan sampel dan data dilaksanakan di Puskesmas Tamalanrea, Puskesmas Antara, Puskesmas Kassi-kassi, Puskesmas Jongaya, Puskesmas Tamalanrea Jaya di Kota Makassar
2. Isolasi dan identifikasi *E. coli* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Klinik Rumah Sakit Universitas Hasanuddin, Makassar.

## 2.3 Populasi dan Subjek penelitian

### 2.3.1 Populasi penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah semua urin wanita hamil yang terdiagnosis infeksi saluran kemih di puskesmas (Puskesmas Tamalanrea, Puskesmas Antara, Puskesmas Kassi-kassi, Puskesmas Jongaya, Puskesmas Tamalanrea Jaya) di Kota Makassar.

### 2.3.2 Subyek penelitian

Subyek dalam penelitian ini adalah semua urin wanita hamil yang terdiagnosis infeksi saluran kemih di Puskesmas Tamalanrea, Puskesmas Antara, Puskesmas Kassi-kassi, Puskesmas Jongaya, Puskesmas Tamalanrea Jaya di Kota Makassar, yang memenuhi kriteria penelitian.

### 2.3.3 Kriteria Subyek penelitian

#### Kriteria inklusi subyek penelitian

1. Urin wanita hamil yang datang untuk *antenatal care* di Puskesmas Tamalanrea, Puskesmas Antara, Puskesmas Kassi-kassi, Puskesmas Jongaya, Puskesmas Tamalanrea Kota Makassar.
2. Urin wanita hamil terdiagnosis menderita ISK
3. Urin wanita hamil yang belum mengkonsumsi antibiotik.
4. Urin dengan jumlah bakterial count  $\geq 10^5$  CFU/mL.
5. Urin wanita hamil yang menyetujui urinnya dipakai sebagai sampel penelitian dengan menandatangani surat persetujuan mengikuti penelitian.

#### Kriteria Eksklusi Subyek penelitian

1. Urin wanita hamil yang menderita diabetes mellitus
2. Urin wanita hamil yang menderita flour albus
3. Urin wanita hamil yang menderita urolithiasis
4. Urin Wanita hamil yang tumbuh 3 jenis koloni yang berbeda atau lebih pada biakan di medium agar darah

### 2.3.4 Jumlah subyek penelitian

Perhitungan besar sampel menggunakan rumus sampel S.K.Lwanga dan S.Lemeshow:

$$n = \frac{z_{1-\alpha/2}^2 P(1-P)}{d^2}$$

Keterangan:

n = besar sampel

1- $\alpha$  = *confidence level* (95%)

P = *anticipated population proportion* (20%)

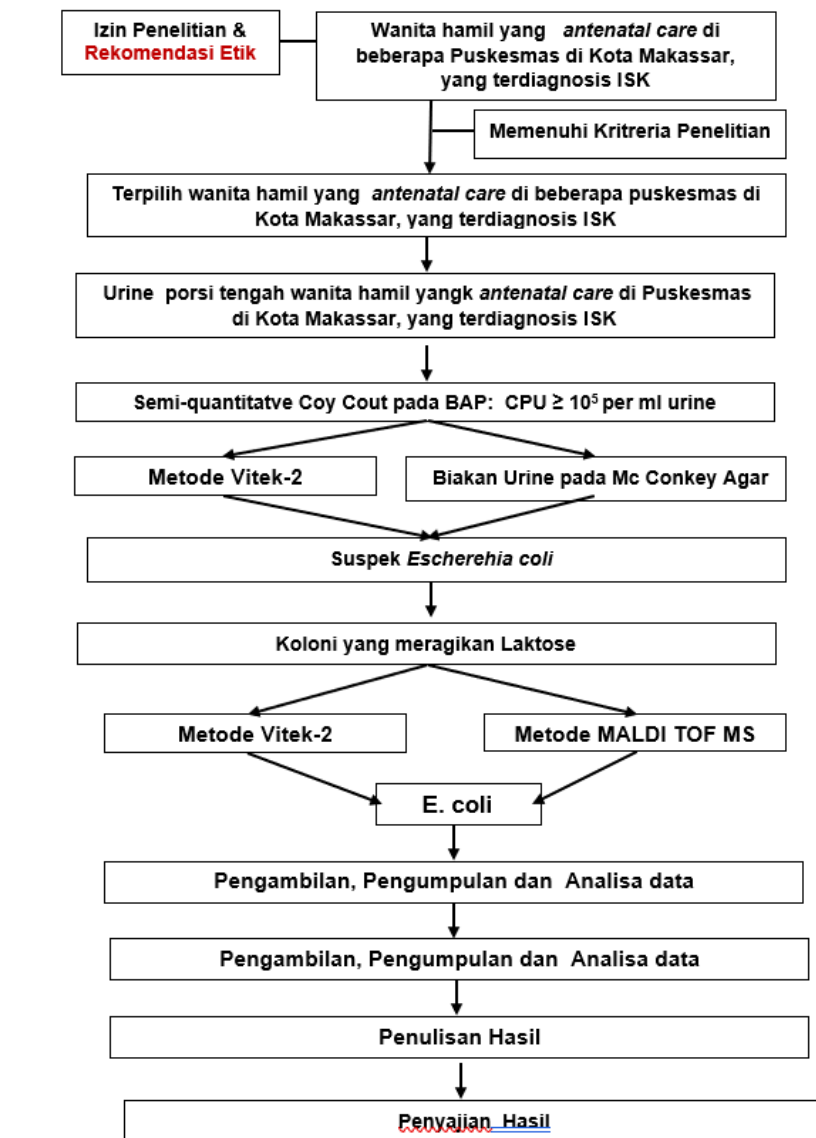
d = *absolute precision required* (10%)

Besar sampel dari perhitungan rumus tersebut didapatkan minimal 97 sampel atau dibulatkan menjadi 100 sampel.

### 2.5 Cara pemilihan subyek penelitian

Pengambilan subyek dilakukan menggunakan teknik consecutive sampling. Semua wanita hamil yang melakukan antenatal care di Puskesmas (Puskesmas Tamalanrea, Puskesmas Antara, Puskesmas Kassi-kassi, Puskesmas Jongaya, Puskesmas Tamalanrea ) Kota Makassar kurun waktu Agustus-Desember 2023, dilakukan pengambilan sampel urin pada setiap hari kerja.

## 2.6 Alur penelitian



Gambar 2. Alur Penelitian

## 2.7 Prosedur penelitian

Setelah mendapat rekomendasi etik dan izin penelitian, dilakukan pemilihan wanita hamil yang datang untuk *antenatal care* di di, Puskesmas Kassi-kassi, Puskesmas Tamalanrea jaya, Puskesmas jongaya, Puskesmas Antara, Puskesmas Tamalate Kota Makassar. Setelah itu dipilih wanita hamil yang datang antenatal care dengan ISK yang memenuhi kriteria subyek penelitian.

Dari wanita hamil terpilih diambil secara steril 10 ml urin porsi tengah dan disimpan dalam *container* tertutup scrup yang steril. Semua *container* urin dimasukkan ke dalam ice box dengan es dan dibawa ke Laboratorim Mikrobiologi Klinik Rumah Sakit Pendidikan Unhas. Urin dalam setiap container dicampur rata dengan menggunakan *vortex*.

### 2.7.1 Biakan semi-kuantitatif pada lempeng agar darah

Diambil satu *loop* 0,1 uL urin dengan sengkeli steril terkalibrasi, lalu dilakukan biakan semi-kuantitatif pada lempeng agar darah yang kering. Inkubasi lempeng agar darah secara aerobik pada temperature 37°C selama 18-24 jam. Koloni yang tumbuh dihitung, bila >100 koloni berarti jumlah bakteri per ml adalah  $\geq 10^5$  (CFU  $\geq 10^5$ /ml urin), yang berarti terbukti subyek menderita ISK. Dilakukan pemeriksaan mikroskopis urin:

1. Urin dalam *container* dicampur rata menggunakan *vortex*.
2. Dibuat preparate hapus urin pada kaca benda dengan meneteskan kira-kira 0,1 ml urin ke atas kaca benda yang bersih dan steril, dikeringkan dan difiksasi.
3. Dilakukan pewarnaan Gram pada preparat tersebut.
4. Setelah itu preparat dilihat di bawah mikroskop dengan pembesaran 10 X 100.
5. Bila pada gambaran mikroskopis preparate gram dari urin terlihat kokkobasil atau basil uniform, maka bisa diduga penyebab ISK pada subyek adalah *Escherechia coli*.

### 2.7.2 Biakan pada medium MacConkey Agar

1. Diambil satu *loop* 1 uL urin dengan sengkeli steril terkalibrasi, lalu dilakukan *streaking* mulai dari zoba satu sampai di zona empat pada permukaan MacConkeyagar yang kering.
2. Inkubasi MacConkey agar secara aerobik pada temperature 37°C selama 18-24 jam.

3. Bila tumbuh koloni bulat, berukuran besar dengan tepi rata dan permukaan datar dan licin, berwarna pink tua, maka bisa diduga bakteri penyebab ISK pada subyek adalah *Escherichia coli* yang *lactose fermented*.
4. Buat suspensi McFarland 5-6 dengan larutan buffer dari isolated colonies pada permukaan MacConkey agar.

### 2.7.3 Identifikasi koloni dengan metode Vitek 2

Prosedur identifikasi Koloni bakteri dengan Vitek 2 :

1. Gunakan isolate murni dengan masa inkubasi tidak lebih dari 42 jam
2. Siapkan 1 tabung untuk setiap isolat
3. Setiap tabung diisi dengan 3 ml larutan NaCl 0,45 % pH 5,0
4. Ambil koloni bakteri, buat suspensi larutan NaCl dan homogenisasi
5. Untuk kekeruhan inokulum dengan menggunakan alat Densichek dengan cara: Tabung inokulum yang akan diukur dibersihkan terlebih dahulu pada bagian luarnya dengan tissue, masukkan tabung inokulum ke dalam lubang pada densichek, tunggu selama 2 detik
6. Angka hasil pengukuran akan muncul dalam satuan McFarland. Bakteri Gram negative dan positif = 0,5 — 0,63 McFarland.
7. Buka software Vitek 2 pada monitor dan lakukan penginputan data sampel
8. Selanjutnya, masukkan informasi kaset vitek dengan lakukan barcode pada masing masing kaset vitek dan sesuaikan dengan data sampel yang telah diinput sebelumnya
9. Kaset yang sudah berisi kartu dan inokulum dimasukkan ke ruang pengisian dan tekan "START FILL" pada layar monitor alat, dan tunggu selama kurang lebih 2 menit.
10. Selanjutnya pindahkan kaset yang sudah berisi kartu dan inokulum ke ke incubator, Jika selesai, maka alarm berbunyi, tanda incubator akan berkedip-kedip kaset dapat dikeluarkan. Hasil akan tercetak secara otomatis.

### 2.7.4 Identifikasi koloni dengan metode MALDI-TOF MS:

1. Persiapan Sampel: Proses dimulai dengan pengumpulan sampel mikroba dari pasien atau lingkungan. Sampel kemudian disiapkan untuk analisis, biasanya dengan mengaplikasikannya ke pelat target MALDI dan menutupinya dengan larutan matriks. Langkah ini penting untuk desorpsi dan ionisasi sampel selama penyinaran laser yang akan datang.

2. **Penyinaran Laser dan Ionisasi:** Sampel yang disiapkan di pelat target dikenai penyinaran laser, yang menyebabkan desorpsi dan ionisasi molekul yang ada dalam sampel. Hal ini menghasilkan pembentukan ion-ion bermuatan positif.
3. **Analisis Waktu Terbang:** Ion-ion bermuatan positif dipercepat dalam medan listrik dan kemudian memasuki tabung penerbangan, di mana mereka melakukan perjalanan dalam jarak tertentu berdasarkan rasio massa-ke-charge ( $m/z$ ) mereka. Waktu penerbangan ini direkam dan digunakan untuk menentukan rasio massa-ke-charge dari ion-ion tersebut.
4. **Generasi Spektrum Massa:** Waktu penerbangan ion-ion dikonversi menjadi spektrum massa, yang mewakili distribusi massa ion dalam sampel. Spektrum massa ini kemudian digunakan untuk analisis lebih lanjut.
5. **Perbandingan Basis Data dan Identifikasi:** Spektrum massa yang dihasilkan dibandingkan dengan spektrum referensi yang disimpan dalam basis data. Perbandingan ini memungkinkan identifikasi mikroorganisme atau biomolekul yang ada dalam sampel berdasarkan kesamaan spektrum massa.
6. **Interpretasi Hasil:** Mikroorganisme atau biomolekul yang diidentifikasi kemudian diinterpretasikan dalam konteks tujuan klinis atau penelitian. Hal ini mungkin melibatkan penentuan spesies mikroorganisme, deteksi biomarker spesifik, atau penilaian profil resistensi antimikroba. (Huo, et al., 2019)

### **2.7.5 Analisis data**

**Dilakukan pengumpulan data, dan Analisa data dengan menggunakan rumus untuk menentukan akurasi metode MALDI-TOF MS.**

## **2.8 Alat dan bahan penelitian**

### **2.8.1 Alat penelitian**

Tabel 1. Daftar alat penelitian

| No. | Nama alat                                 | Merek/spesifikasi | Jumlah |
|-----|-------------------------------------------|-------------------|--------|
| 1.  | Ose 1 ul                                  | Biologix          | 100    |
| 2.  | Ose 10 ul                                 | Biologix          | 100    |
| 3.  | Wadah penampung urin steril bertutup ulir | Lab ware          | 500    |
| 4.  | Cawan petri                               | CORDIAL           | 500    |

|     |                         |                     |     |
|-----|-------------------------|---------------------|-----|
| 5.  | Handscoon               | E-care              | 200 |
| 6.  | Timbangan analitik      | Radwag              | 2   |
| 7.  | Inkubator               | FALC ,MEMMERT       | 1   |
| 8.  | Autoklaf                | SANYO,HIRAYAMA      | 1   |
| 9.  | <i>Laminar air flow</i> | CLEAN BENCHM        | 1   |
| 10. | Vortex                  | MAXI MIX6           | 1   |
| 11. | Eppendorf               | Sigma Aldrich Brand |     |
| 12. | Vitek 2                 | Vitek 2 compact     | 1   |
| 13. | MALDI-TOF MS            | MS Vitek Biomerieux | 1   |

### 2.8.2 Bahan penelitian

Tabel 2. Daftar bahan penelitian

| No. | Nama bahan                 | Merek/spesifikasi                                     | Jumlah |
|-----|----------------------------|-------------------------------------------------------|--------|
| 1.  | Deionized water (waterone) | Onemed                                                | 1      |
| 2   | Media Blood Agar           | Blood agar base for microbiology Merck (500 gram)     | 1      |
| 3   | Media MacConkey Agar       | MacConkey Agar base for microbiology Merck (500 gram) | 1      |

### 2.9 Aspek Etika Penelitian

1. Diharapkan tidak ada pelanggaran etik pada penelitian ini, karena:
2. Pada semua rujukan yang digunakan pada tulisan ini disertai sitasi nama penulis jurnal atau nama penulis atau editor buku yang dirujuk.
3. Mendapat izin penelitian dari Dinas Kesehatan Kota Makassar.
4. Mendapat rekomendasi etik
5. Mendapat persetujuan wanita hamil yang terpilih sebagai subyek penelitian dengan menandatangani lembar *consent*, setelah mendapat penjelasan lengkap tentang penelitian ini.