

**UJI KONFIRMASI *ESCHERICHIA COLI* PENGHASIL ESBL PADA  
INFEKSI SALURAN KEMIH IBU HAMIL MENGGUNAKAN  
DOUBLE DISK SYNERGY TEST DAN METODE AUTOMATIS**

***THE CONFIRMATION TEST OF ESBL-PRODUCING  
ESCHERICHIA COLI IN URINARY TRACT INFECTIONS OF  
PREGNANT WOMEN USING DOUBLE DISK SYNERGY TEST  
AND AUTOMATED METHOD***

**IAN ASTARINA MAS'UD**

**P062192037**



**PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK**

**SEKOLAH PASCASARJANA**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2023**

**UJI KONFIRMASI *ESCHERICHIA COLI* PENGHASIL ESBL PADA  
INFEKSI SALURAN KEMIH IBU HAMIL MENGGUNAKAN  
DOUBLE DISK SYNERGY TEST DAN METODE AUTOMATIS**

***THE CONFIRMATION TEST OF ESBL-PRODUCING  
ESCHERICHIA COLI IN URINARY TRACT INFECTIONS OF  
PREGNANT WOMEN USING DOUBLE DISC SYNERGY TEST  
AND AUTOMATED METHOD***

**IAN ASTARINA MAS'UD**

**P062192037**



**PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK**

**SEKOLAH PASCASARJANA**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2023**

**UJI KONFIRMASI *ESCHERICHIA COLI* PENGHASIL ESBL  
PADA INFEKSI SALURAN KEMIH IBU HAMIL  
MENGUNAKAN DOUBLE DISK SYNERGY TEST DAN  
METODE AUTOMATIS**

Tesis

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi Ilmu Biomedik

Disusun dan diajukan oleh

IAN ASTARINA MAS'UD

P062192037

Kepada

**PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK**

**SEKOLAH PASCASARJANA**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2023**

## LEMBAR PENGESAHAN TESIS

UJI KONFIRMASI ESCHERICHIA COLI PENGHASIL ESBL PADA INFEKSI  
SALURAN KEMIH IBU HAMIL MENGGUNAKAN DOUBLE DISK SYNERGY  
TEST DAN METODE AUTOMATIS

Disusun dan diajukan oleh

**IAN ASTARINA MAS'UD**  
P062192037

Telah dipertahankan di hadapan panitia ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Magister Program Studi Ilmu Biomedik  
Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin  
pada tanggal 27 Desember 2023  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

dr. Rizalinda Sjahril., M.Sc., Ph.D, Sp.MK, Vir(K)  
NIP. 196909181996032001

Dr. dr. Ilhamjaya Patellongi., M.Kes  
NIP. 195801281989031002

Ketua Program Studi  
Magister Ilmu Biomedik

Prof. dr. Rahmawati M, Ph.D., Sp.PD-KHOM., FINA'  
NIP. 196802181999032002

Dekan Sekolah Pascasarjana  
Universitas Hasanuddin

Prof. dr. Budu, Ph.D., Sp.M(K), M.Med.Ed  
NIP. 196612311995031009

**PERNYATAAN KEASLIAN TESIS  
DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA**

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul “Uji Konfirmasi *Escherichia coli* Penghasil ESBL Pada Infeksi Saluran Kemih Ibu Hamil Menggunakan Double Disk Synergy Test dan Metode Automatis” adalah benar karya saya dengan arahan dari tim pembimbing (dr.Rizalinda Sjahril., M.Sc., Ph.D, Sp.MK, Vir(K) sebagai Pembimbing Utama dan Dr.dr. Ilhamjaya Patellongi., M.Kes 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 dipublikasikan di Jurnal (Malaysian Journal of Microbiology, Scopus Quartil 4) sebagai artikel dengan judul “Profile of Antimicrobial Resistance in *Escherichia Coli* Isolate Among Pregnant Women with Urinary Tract Infections in Makassar City”. 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 ekonomis) dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 27 Desember 2023



  
IAN ASTARINA MAS'UD  
P062192037

## Ucapan Terima Kasih

### *Bismillahirrahmanirrahim*

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah Subhanahu wa ta'ala karena atas rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penelitian yang saya lakukan dapat terlaksana dengan sukses dan tesis ini dapat terampungkan atas bimbingan, diskusi dan arahan dr.Rizalinda Sjahril., M.Sc., Ph.D, Sp.MK, Vir(K) sebagai Pembimbing Utama dan Dr.dr. Ilhamjaya Patellongi., M.Kes sebagai Pembimbing Pendamping serta tim penguji yaitu Dr. dr. Yuyun Widaningsih, M. Kes, Sp.PK, Dr. dr. Irfan Idris, M. Kes dan Dr. Rosana Agus, M. Sc. Saya mengucapkan berlimpah terima kasih kepada mereka. Penghargaan yang tinggi juga saya sampaikan kepada puskesmas dan klinik pratama pelayanan primer di Kota Makassar yang telah mengizinkan kami untuk melaksanakan penelitian di lapangan, dan kepada Rumah Sakit Universitas Hasanuddin Makassar (RS UNHAS) atas kesempatan untuk menggunakan fasilitas dan peralatan di Laboratorium mikrobiologi RS UNHAS.

Kepada Yayasan Aksa Mahmud / Bosowa Education Universitas Bosowa, saya mengucapkan terima kasih atas beasiswa pendidikan yang diberikan selama menempuh program pendidikan magister. Ucapan terima kasih juga saya ucapkan kepada pimpinan Universitas Hasanuddin dan Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin yang telah memfasilitasi saya menempuh program magister serta para dosen dan rekan-rekan dalam tim penelitian.

Akhirnya, kepada kedua orang tua (Dr. H. Mas'ud Muhammadih, M.Si dan Almh dr. Syamrina Karim, M. Kes) dan saudara tercinta saya mengucapkan limpah terima kasih dan sembah sujud atas doa, pengorbanan dan motivasi mereka selama saya menempuh pendidikan. Penghargaan yang besar juga saya sampaikan kepada seluruh keluarga besar Karim's Family, keluarga besar Fakultas Kedokteran Universitas Bosowa, sahabat serta rekan-rekan saya yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu atas motivasi dan dukungan yang tak ternilai.

Penulis,


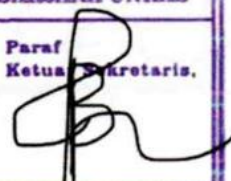
Ian Astarina Mas'ud

## ABSTRAK

**IAN ASTARINA MAS'UD.** *Uji Konfirmasi Escherichia Coli Penghasil ESBL pada Infeksi Saluran Kemih Ibu Hamil Menggunakan Double Disk Synergy Test dan Metode Automatis (dibimbing oleh Rizalinda Sjahril dan Ilhamjaya Patellongi)*

Infeksi saluran kemih (ISK) pada ibu hamil dapat menyebabkan masalah yang serius jika tidak ditangani. *Escherichia coli* (*E. coli*) adalah penyebab utama terjadinya ISK dan mampu menghasilkan *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL). Oleh karena itu, *antibiotic susceptibility testing* (AST) perlu diujikan. Penelitian ini bertujuan untuk menunjukkan data resistensi antimikroba untuk isolat *E. coli* dari wanita hamil yang terdiagnosis ISK di Kota Makassar. Penelitian ini menggunakan metode deskriptif *cross-sectional* dengan menggunakan metode *Vitek 2 Compact* sebagai metode yang diujikan dan *double disk synergy test* (DDST) yang merupakan *gold standard* untuk mendeteksi sensitivitas antibiotik dan mendeteksi ESBL terhadap *E. coli* menggunakan antibiotik *ceftazidime* (CAZ), *ceftriaxone* (CRO) dan *amoxicillin clavulanat* (AMC). Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan membandingkan uji *Vitek 2 Compact* dan DDST terhadap CAZ maupun CRO tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ ). Antibiotik CAZ ditemukan 1 isolat memproduksi enzim ESBL pada kedua metode tersebut dengan tingkat sensitifitas, spesifisitas, PPV dan NPV pada antibiotik ini adalah 100%, 91,7%, 25%, dan 100% sedangkan antibiotik CRO ditemukan 4 isolat menghasilkan ESBL dengan nilai sensitifitas, spesifisitas, PPV dan NPV masing-masing 100%, 97,1%, 75% dan 100%. Penelitian ini menunjukkan bahwa metode *Vitek 2 Compact* adalah salah satu alternatif pemeriksaan sensitivitas antibiotik dan mampu mendeteksi enzim ESBL dengan hasil yang lebih cepat dan sederhana daripada metode DDST.

**Kata kunci:** *Vitek 2 compact, DDST, Infeksi saluran kemih, ibu hamil*



 <b>GUGUS PENJAMINAN MUTU (GPM) SEKOLAH PASCASARJANA UNHAS</b>	
Abstrak ini telah diperiksa.	Paraf Ketua Sekretaris.
Tanggal : _____	

## ABSTRACT

**IAN ASTARINA MAS'UD.** *The Confirmation Test of ESBL-Producing Escherichia Coli in Urinary Tract Infections of Pregnant Women Using Double Disc Synergy Test and Automated Method* (supervised by **Rizalinda Sjahril dan Ilhamjaya Patellongi**)

Urinary tract infections (UTIs) during pregnancy can be a serious concern if left untreated. One of the common causes of UTIs is *Escherichia coli* (*E. coli*), which can produce extended- spectrum beta-lactamases (ESBLs). Therefore, it is important to conduct antibiotic susceptibility testing (AST) to determine the appropriate treatment. This study aimed to provide antimicrobial resistance data for *E. coli* isolates from pregnant women with UTI in Makassar City. The study used a descriptive cross-sectional method and compared the Vitek 2 Compact method and the double disc synergy test (DDST) for detecting antibiotic sensitivity and detecting ESBL on antibiotics ceftazidime (CAZ), ceftriaxone (CRO) and amoxicillin clavulanate (AMC). The results showed that compared to Vitek 2 Compact test and DDST against CAZ or CRO, there was no significant difference ( $p = <0.05$ ). One isolate produced ESBL enzyme in both methods with the level of sensitivity, specificity, PPV and NPV on this antibiotic were 100%, 91.7%, 25%, and 100%, respectively, while four isolates produced ESBL with the value of sensitivity, specificity, PPV and NPV on antibiotic CRO being 100%, 97.1%, 75% and 100%, respectively. The Vitek 2 Compact method was found to be an alternative to antibiotic sensitivity testing and was able to detect ESBL enzymes with more rapid and efficient results than the DDST method.

**Keywords:** *vitek 2 compact, DDST, urinary tract infections, pregnant women*

 <b>GUGUS PENJAMINAN MUTU (GPM) SEKOLAH PASCASARJANA UNHAS</b>	
Abstrak ini telah diperiksa.  Tanggal : _____	Paraf Ketua / Sekretaris. 



**DAFTAR ISI**

HALAMAN SAMBUNG DEPAN .....	i
HALAMAN JUDUL .....	ii
HALAMAN PENGANTAR .....	iii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS .....	v
UCAPAN TERIMA KASIH .....	vi
ABSTRAK .....	vii
ABSTRACT .....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xv
BAB I.....	1
PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang Masalah .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian .....	5

1.4	Manfaat Penelitian .....	6
BAB II .....		6
TINJAUAN PUSTAKA .....		6
2.1	Definisi Infeksi Saluran Kemih .....	6
2.2	Klasifikasi Infeksi Saluran Kemih (ISK) .....	7
2.3	Epidemiologi Infeksi Saluran Kemih (ISK).....	10
2.4	Etiologi Infeksi Saluran Kemih .....	15
2.5	Patofisiologi Infeksi Saluran Kemih .....	16
2.6	Faktor Resiko dan Mikroorganisme Patogen .....	16
2.7	Patogenesis dan patofisiologi ISK.....	21
2.8	Manifestasi klinis.....	23
2.9	Kriteria Diagnosis ISK.....	25
2.10	Pemeriksaan Dipstik Urin.....	20
2.11	ISK dan Pengobatan Antibiotik pada Kehamilan .....	21
2.12	Resisten Antimikroba .....	31
2.13	Cephalosporin .....	36
2.14	Mekanisme Resistensi Bakteri .....	30
2.15	Bakteri Penghasil ESBL.....	43
2.16	Klasifikasi ESBL.....	45
2.17	Konfirmasi ESBL.....	50

2.18 Sumber-Sumber Kesalahan Pada Tahap Pra Analitik, Analitik Dan Pasca Analitik.....	52
2.19 Kerangka Teori .....	60
2.20 Kerangka Konsep .....	61
BAB III .....	62
METODE PENELITIAN.....	62
3.1 Rancangan Penelitian.....	62
3.2 Waktu dan Lokasi Penelitian.....	62
3.3 Populasi dan Sampel.....	62
3.4 Kriteria Sampel .....	63
3.5 Alat dan Bahan .....	63
3.6 Prosedur penelitian.....	64
3.7 Alur Penelitian .....	68
3.8 Definisi Operasional.....	68
3.9 Analisis Statistik.....	71
3.10 Etika Penelitian .....	71
BAB IV.....	73
HASIL.....	73
4.1 Hasil Penjaminan Mutu Pemeriksaan.....	73
4.2 Hasil Analisis Data Kuantitatif.....	73

BAB V.....	84
PEMBAHASAN.....	84
BAB VI.....	89
PENUTUP.....	89
6.1 Kesimpulan.....	89
6.2 Saran.....	89
DAFTAR PUSTAKA.....	91

## DAFTAR TABEL

Tabel 1 Faktor Predisposisi ISK	10
Tabel 2 Sepuluh Bakteri Terbanyak Instalasi Rawat Inap.	11
Tabel 3 Pola Jenis Bakteri Rawat Jalan Spesimen Urin.	14
Tabel 4 Faktor resiko terkait bakteriuria pada kehamilan.	17
Tabel 5 Perubahan saluran kemih pada kehamilan.	19
Tabel 6 Manifestasi klinis pada infeksi saluran kemih.	24
Tabel 7 Antibiotik yang digunakan pada ISK selama kehamilan.	30
Tabel 8 Beberapa antimikroba dan mekanisme resistensi dengan perantara plasmid.	32
Tabel 9 Komposisi Media Mac Conkey	39
Tabel 10 Tingkat Identifikasi.	60
Tabel 11 Tingkat Identifikasi.	63
Tabel 12 Catatan Terkait dengan Taksa GN Tertentu.	49
Tabel 13 Definisi Operasional	69
Tabel 14 Penjaminan mutu alat dan bahan dalam penelitian	73
Tabel 15 Hasil Perbandingan pengujian antibiotik ceftazidime (CAZ) dengan 2 metode	79
Tabel 16 Distribusi antibiotik ceftazidime (CAZ) berdasarkan tingkat sensitivitas dengan metode DDST	79

Tabel 17 Distribusi antibiotik ceftazidime (CAZ) berdasarkan tingkat sensitivitas dengan metode vitek 2 compact	79
Tabel 18 Hasil Perbandingan pengujian antibiotik ceftriaxone (CRO) dengan 2 metode	80
Tabel 19 Distribusi antibiotik ceftriaxone (CRO) berdasarkan tingkat sensitivitas dengan metode DDST	81
Tabel 20 Distribusi antibiotik ceftriaxone (CRO) berdasarkan tingkat sensitivitas dengan metode vitek 2 compact	81
Tabel 21 Tingkat sensitivitas dan spesifitas antibiotik CAZ menggunakan metode DDST dan vitek 2 compact	82
Tabel 22 Tingkat sensitivitas, spesifitas, PPV (positive predictive value) dan NPV (negative predictive value) antibiotik CRO menggunakan metode DDST dan vitek 2 compact	82

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Anatomi Saluran Kemih Manusia. ....	6
Gambar 2 Mekanisme kerja antibiotik pada bakteri. ....	31
Gambar 3 Dinding sel bakteri Gram positif dan Gram negatif dan masuknya antibiotik melalui porin pada dinding bakteri Gram negatif. <b>Kesalahan! Bookmark tidak ditentukan.</b>	
Gambar 4 Bakteri memperoleh gen resisten antibiotik. ....	32
Gambar 5 Pertumbuhan <i>E. coli</i> pada agar Mac Conkey .....	38
Gambar 6 Cawan petri dan antibiotik. ....	42
Gambar 7 VITEK 2 Compact Instrument dan Workstation .....	43
Gambar 8 Kaset Kompak VITEK 2 Berisi 10 Kartu dan Tabung Suspensi dan Pemindai Kode Batang untuk Entri Data. ....	44
Gambar 9 Kartu Identifikasi Kolorimetri VITEK 2 GN dan VITEK 2 AST.....	44
Gambar 10 Kerangka Teori .....	60
Gambar 11 Kerangka Konsep .....	61
Gambar 12 Interpretasi Zona inhibisi. ....	87
Gambar 13 Alur Penelitian.....	68
Gambar 14 Isolat <i>E. coli</i> pada subkultur media MacConkey Agar.....	76
Gambar 15 Isolat <i>E. coli</i> pada pengujian sensitivitas dan ESBL metode Double Disk Synergy Test .....	77

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang Masalah

Infeksi Saluran Kemih (ISK) merupakan infeksi yang sering didapatkan dalam komunitas dan rumah sakit. Infeksi ini disebabkan oleh adanya *Escherichia coli* (*E. coli*) dalam tubuh. *E. coli* adalah salah satu bakteri patogen yang menyebabkan ISK. Insiden tertinggi pada wanita muda sampai usia pertengahan, dan pada laki-laki meningkat sesuai dengan bertambahnya usia.(Soedarto, 2015; Kalinderi et al., 2018) ISK merupakan infeksi yang paling sering terjadi pada ibu hamil dan dapat meningkatkan faktor resiko morbiditas dan mortalitas pada ibu dan janin. ISK pada ibu hamil biasanya tidak bergejala, sebanyak 30% ibu hamil yang tidak mendapatkan pengobatan meningkatkan resiko pielonefritis akut dan berbagai komplikasi ibu dan janin seperti bakteremia, preeklamsia, hipertensi, gagal ginjal, kematian janin intrauterin, kelahiran prematur, dan pertumbuhan janin terhambat. ISK pada wanita hamil sering dimanifestasikan sebagai bakteriuria asimtomatik.(Kalinderi et al., 2018); Rosana et al., 2020) Berdasarkan hasil laporan pada tahun 2007, terdapat 10,5 juta kasus ISK pada pasien rawat jalan dan sekitar dua hingga tiga kasus ISK pada pasien rawat inap di Amerika Serikat.(Nazmi et al., 2017)

Data jurnal S. Nemin AM (2020: 1) menunjukkan bahwa ISK merupakan salah satu dari sepuluh penyakit terbanyak di Indonesia.



Menurut data Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, terdapat 90 hingga 100 kasus per 100.000 penduduk atau sekitar 180.000 kasus per tahun. Sedangkan data dari Dinas Kesehatan Provinsi Sulawesi Selatan pada Rumah Sakit dan Puskesmas perawatan pada tahun 2008 sebanyak 379 kasus (27%), pada tahun 2009 sebanyak 456 kasus (29%) dan tahun 2010 sebanyak 346 kasus atau sebesar 27%.(S.Nemin, 2020) Bakteriuria asimtomatik ditemukan pada 10,5% dari 715 wanita hamil berdasarkan sampel yang dikumpulkan pada delapan puskesmas di Jakarta, Indonesia tahun 2015-2017.(Rosana et al., 2020)

Salah satu cara pengobatan ISK dengan memberikan antibiotik pada pasien. Antibiotik adalah suatu antimikroba substansi yang diperoleh dari zat yang berasal dari suatu mikroorganisme atau sintetik yang dapat menghambat kerja dari suatu mikroorganisme lain. Uji sensitivitas antibiotik digunakan untuk menguji sensitivitas antibiotik terhadap suatu bakteri dengan tujuan untuk mengetahui daya kerja/efektivitas dari suatu antibiotik dalam membunuh bakteri.(Mochtar & Noegroho, 2015)

Pola bakteri dan kepekaan antibiotik merupakan faktor penting dalam menentukan terapi yang baik. RSUD Dr. Soetomo Surabaya dan RSUP Dr. Kariadi Semarang didukung data dari Departemen Kesehatan Republik Indonesia pada tahun 2000-2004 membuktikan bahwa terdapat kuman multiresisten antibiotik seperti MRSA (*Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus*) dan bakteri penghasil ESBL (*Extended Spectrum Beta Lactamase*). Selain bakteri yang resisten terhadap antibiotik, juga

ditemukan sebanyak 30% hingga 80% penggunaan antibiotik tidak berdasarkan indikasi. (Mochtar & Noegroho, 2015)

Angka kejadian resistensi antibiotik semakin meningkat di benua Asia, termasuk Indonesia. Penelitian mengenai *Extended Spectrum Beta Lactamase* (ESBL) di pulau Sulawesi belum banyak dilaporkan terutama di Sulawesi Selatan. Penelitian di pulau Jawa menunjukkan prevalensi ESBL mencapai 58,42% pada pasien yang menjalani rawat inap di rumah sakit, sedangkan pada penelitian yang telah dilakukan di RSUP. H. Adam Malik Medan, didapatkan hasil dari 91 isolat *E. coli*, 53 dinyatakan positif ESBL. (Fahirah Aarsal, 2019)

*Escherichia Coli* dan *Klebsiella Penumoniae* merupakan salah satu bakteri penghasil ESBL yang paling sering ditemukan. Bakteri penghasil ESBL merupakan salah satu faktor yang dapat menyebabkan terjadinya infeksi *Multidrug Resistant Organism* (MDRO) yang resisten terhadap salah satu atau beberapa golongan obat antimikroba. (Nazmi et al., 2017) Saat ini, kejadian MDRO meningkat akibat penggunaan antibiotik yang tidak sesuai di kalangan masyarakat sebab sangat mudahnya diperoleh tanpa resep dari dokter.

Meningkatnya kasus resistensi antibiotik dapat menyebabkan peningkatan biaya pengobatan, pengobatan yang tidak efektif, masa perawatan yang lebih lama, dan menyebabkan prognosis yang lebih buruk. *Antibiotik Susceptibility Testing* (AST) harus dilakukan untuk menentukan

antibiotik yang tepat untuk pengobatan. Pemeriksaan kultur urin biasanya dilakukan oleh laboratorium mikrobiologi klinik dengan menggunakan media seperti *Blood Agar* (BA), *Mac Conkeys Agar* (MA) atau *Cysteine Lactose Electrolyte Deficient agar* (CLED) sebagai bahan isolat. Setelah kultur urin maka dilakukan tes konfirmasi identifikasi menggunakan tes biokimia atau tes khusus yang membutuhkan waktu hampir 48 jam untuk mengidentifikasi dan menghasilkan uji kepekaan antimikroba. (Anushka Bajoria Surender Kaur, Shantaram K Gautam, 2019)

Mesin otomatisasi dalam hal ini metode *vitek 2 compact* sangat membantu dalam menegakkan diagnosis resistensi antibiotik karena penggunaan dan pelaksanaan yang mudah dan praktis namun menggunakan biaya yang lebih mahal dibandingkan metode *double disk synergy test* (DDST) yang selama ini dijadikan acuan sebagai *gold standard* dengan biaya minimum namun memerlukan waktu pengerjaan yang lebih lama dan kompleks.

Identifikasi uropatogen yang memiliki spesifitas, sensitivitas dan menggunakan waktu sesingkat mungkin adalah hal yang diharapkan untuk mempercepat waktu pemberian antibiotik yang tepat. Berdasarkan uraian latar belakang ini, maka penelitian tesis ini berfokus pada **“Uji Konfirmasi *Escherichia Coli* Penghasil ESBL Pada Infeksi Saluran Kemih Ibu Hamil Menggunakan Double Disk Synergy Test Dan Metode Otomatis”**

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan pada latar belakang maka, maka rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. bagaimanakah uji performa resistensi bakteri *Escherichia Coli* dengan menggunakan metode Double Disk Synergy Test (DDST)?,
2. bagaimanakah uji performa resistensi bakteri *Escherichia Coli* dengan menggunakan teknik AST metode Vitek 2 compact?, dan
3. bagaimanakah perbandingan tingkat spesifitas, sensitivitas dan waktu pengerjaan uji resistensi bakteri *Escherichia Coli* dengan menggunakan metode Double Disk Synergy Test (DDST) dan teknik AST metode Vitek 2 compact?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini terdiri atas dua bagian, yakni tujuan umum dan tujuan khusus sebagai berikut;

### 1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui metode pemeriksaan resistensi bakteri penghasil ESBL (*Escherichia Coli*) dengan metode *Double Disk Synergy Test* (DDST) dan Teknik AST metode *Vitek 2 compact* serta jenis antibiotik yang telah resisten.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Mengetahui uji performance resistensi bakteri *Escherichia coli* dengan menggunakan metode *Double Disk Synergy Test* (DDST),

- b. Mengetahui uji performance resistensi bakteri *Escherichia Coli* dengan menggunakan teknik AST metode *Vitek 2 compact*, dan
- c. Mengetahui perbandingan tingkat spesifitas, sensitivitas dan waktu pengerjaan uji resistensi bakter *Escherichia Coli* dengan menggunakan metode *Double Disk Synergy Test* (DDST) dan teknik AST metode *Vitek 2 compact*.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

Manfaat penelitian yakni manfaat akademik dan manfaat praktis sebagai berikut;

##### **1.4.1 Manfaat Akademik**

Menambah pengetahuan baru tentang metode pemeriksaan resistensi antibiotik menggunakan metode *Double Disk Synergy Test* (DDST) dan Teknik AST metode *Vitek 2 compact* dan membandingkan tingkat spesifitas, sensitivitas dan waktu pengerjaan dua metode tersebut

##### **1.4.2 Manfaat Praktis**

Adanya pengetahuan mengenai pemeriksaan resistensi antibiotik dengan kedua metode tersebut memudahkan dalam terapi pengobatan ISK akibat bakteri *E. coli* bagi dokter sehingga meminimalkan biaya dan masa pengobatan pasien terdiagnosis ISK

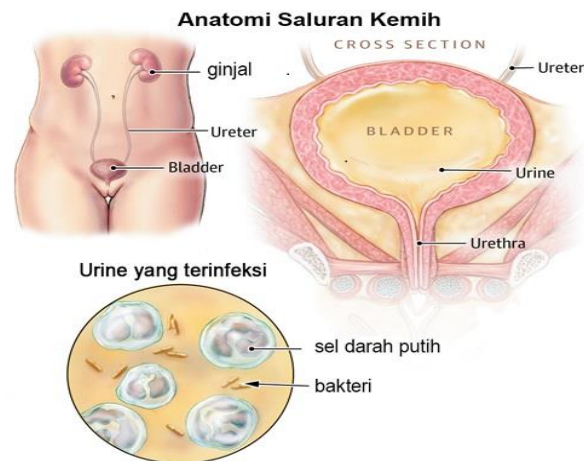
## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

Bagian ini kita akan membahas tentang pengertian infeksi saluran kemih, jenis-jenisnya, epidemiologi, etiologi, dan teori yang mendasari usulan tersebut;

#### 2.1 Definisi Infeksi Saluran Kemih

Infeksi saluran kemih (ISK) adalah infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme dalam urin. Penyakit ini dapat menginfeksi ginjal, ureter, kandung kemih, dan uretra. Faktor-faktor yang mempengaruhi ISK, antara lain usia, jenis kelamin, prevalensi bakteriuria, dan faktor predisposisi yang dapat mengubah bentuk saluran kemih, termasuk ginjal. Wanita pada umumnya sering menderita ISK karena memiliki urethra yang pendek dan dekat dengan anus. Faktor resiko lainnya akibat aktifitas seksual sehingga memudahkan transmisi masuknya mikroorganisme patogen kedalam vagina. Dalam kondisi normal, jumlah mikroorganisme dalam urin biasanya  $10^2$ - $10^4$  bakteri/ml. Namun, jika jumlah bakteri pada urin pancar tengah (midstream urine) lebih dari  $10^5$  bakteri/ml dipastikan terdiagnosis infeksi saluran kemih. (Kalinderi et al., 2018; S.Nemin, 2020; Kong, 2004)



Gambar 1 Anatomi Saluran Kemih Manusia.(Kong, 2004)

Pasien yang terdiagnosis infeksi saluran kemih sering kali memiliki gejala yang sesuai dengan lokasi dan tingkat keparahan infeksi, namun bisa juga tidak menunjukkan gejala sama sekali. Menstruasi, demam, nyeri pinggang, sering mual dan muntah (sering dikaitkan dengan pielonefritis akut), dan disuria, urgensi buang air kecil, ketidaknyamanan suprapubik, dan hematuria (biasanya terkait dengan sistitis).(S.Nemin, 2020)

Infeksi Saluran Kemih (ISK) adalah keadaan akibat adanya invasi bakteri. Bakteri yang paling sering menginfeksi adalah *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, dan *Pseudomonas aeruginosa*.(S.Nemin, 2020) ISK dapat mengenai semua umur dan wanita lebih sering terinfeksi dibandingkan pria dengan angka populasi umum kurang lebih 5-15%.(S.Nemin, 2020)

Sebagian kecil ISK disebabkan oleh jamur dan virus sedangkan bakteri merupakan penyebab terbesar kasus ISK. Jika jumlah bakteri yang tumbuh dalam kultur urin melebihi  $10^5$  Colony Forming Unit (CFU/ml), maka

dianggap bakteriuria signifikan. Bakteriuria asimtomatik, disebut juga bakteriuria signifikan meskipun tidak ada indikasi klinis adanya gejala infeksi saluran kemih (*convert bacteriuria*). (S.Nemin, 2020) Bakteriuria asimptomatik (*Asymptomatic bacteriuria/ASB*) didefinisikan sebagai pertumbuhan bakteri pada sampel kultur urin yang mencapai  $>10^5$  CFU/mL pada sampel tanpa gejala dari saluran kemih. (Adnan, 2019) Pasien dengan gejala bakteriuria berat dalam persentase klinisnya disebut menderita piuria jika ditemukan  $>10$  neutrofil/ lapangan pandang. Bakteriuria adalah ditemukannya bakteri dalam urin sedangkan piuria adalah ditemukannya sel darah putih dalam urin. Kedua hal tersebut selalu dikaitkan dengan ISK. (S.Nemin, 2020; Ginanjar & Rachman, 2014; Abou Heidar et al., 2019)

Infeksi saluran kemih pada ibu hamil saat ini dianggap sebagai infeksi bakteri yang bersifat umum dengan peningkatan resiko morbiditas dan mortalitas ibu dan bayi (perinatal). (Kalinderi et al., 2018)

## **2.2 Klasifikasi Infeksi Saluran Kemih (ISK)**

Klasifikasi ISK pada umumnya terbagi berdasarkan gejala klinis, hasil pemeriksaan laboratorium dan penemuan mikrobiologis. (Mochtar & Noegroho, 2015) Secara klinik Infeksi saluran kemih (ISK) dibagi menjadi empat yaitu: (Kalinderi et al., 2018; S.Nemin, 2020; Mochtar & Noegroho, 2015; Grabe et al., 2020)

1. Infeksi saluran kemih tanpa komplikasi (*simple/ uncomplicated urinary tract infection*), yang didefinisikan sebagai ISK tanpa



komplikasi penyebab dan tanpa adanya gangguan terhadap struktur atau fungsi anatomi sistem saluran kemih.

2. Infeksi saluran kemih dengan komplikasi (*complicated urinary tract infection*), khususnya jika ditemukan ISK dengan adanya kelainan anatomi atau fungsi yang mengubah aliran urin, seperti batu ginjal, kista ginjal, tumor ginjal, gangguan aliran urin, kehamilan, dan penggunaan kateter urin yang menetap, baik ada atau tidak adanya kondisi *immunocompromise*, seperti diabetes.
3. Infeksi Saluran Kemih Berulang (ISK), yaitu ISK berulang yang terjadi dua kali setiap enam bulan atau lebih, dengan atau tanpa akibat.
4. Urosespsis mengacu pada kegagalan organ yang mengancam jiwa yang disebabkan oleh respon host terhadap infeksi yang dimulai pada organ genital pria atau sistem saluran kemih.

Pemeriksaan penunjang untuk penegakan diagnosis, masa penatalaksanaan, serta gejala infeksi saluran kemih adalah hal yang membedakan antara ISK terkomplikasi dan tidak terkomplikasi. (S.Nemin, 2020)

Infeksi saluran kemih pada kehamilan diklasifikasikan sebagai asimtomatik dan simtomatik. Bakteriuria asimtomatik didefinisikan sebagai isolasi bakteri yang ditemukan minimal  $1 \times 10^5$  CFU per mL dari kultur urin, tanpa adanya tanda atau gejala ISK. ISK simtomatik dibagi menjadi infeksi

saluran bawah dan infeksi saluran atas, Yaitu:(Ginanjar & Rachman, 2014);  
Geo et al., 2005; Nicolle et al., 2019)

## A. ISK Bawah

Perbedaan gender dalam presentasi klinis ISK bagian bawah, yaitu:

### A.1 Perempuan

- Manifestasi klinis dari infeksi kandung kemih dengan bakteriuria yang signifikan disebut sistitis.
- Sistitis bakterial disebut juga sindrom uretra akut (SUA) merupakan manifestasi klinis dari ISK disebabkan mikroorganisme steril. Studi terbaru tentang SUA menunjukkan bahwa mikroba anaerobik adalah penyebabnya.

### A.2 Laki-laki

Presentasi klinis ISK bawah pada laki-laki mungkin sistitis, prostatitis, epididymitis, dan urethritis.

## B. ISK Atas

- Pielonefritis Akut (PNA). Pielonefritis akut adalah kondisi peradangan parenkim ginjal yang berhubungan dengan infeksi.
- Pielonefritis kronik (PNK). Penyakit yang dapat disebabkan infeksi sejak masa kanak-kanak atau infeksi bakteri yang berkepanjangan dapat menyebabkan pielonefritis kronis. Perkembangan jaringan ikat di parenkim ginjal, yang ditandai

dengan jenis pielonefritis kronis tertentu, sering dikaitkan dengan obstruksi saluran kemih dan refluks vesikoureteral, dengan atau tanpa bakteriuria kronis. Jaringan ikat parenkim ginjal tidak pernah terbentuk pada orang dengan bakteriuria kronis tanpa gejala tanpa adanya kondisi predisposisi.

Bakteriuria asimtomatik umumnya terjadi pada 2-15% dari wanita hamil dan merupakan faktor risiko utama pada gejala ISK selama kehamilan. Prevalensi ISK simtomatik selama kehamilan sangat sedikit, sekitar 1-2% dari semua kehamilan. Di antara ISK simtomatik, sistitis didefinisikan sebagai bakteriuria signifikan terkait invasi mukosa kandung kemih, sedangkan pielonefritis didefinisikan sebagai bakteriuria signifikan dengan peradangan terkait parenkim ginjal, kaliks dan pelvis ginjal. Gejala utama sistitis adalah disuria, urgensi, sering buang air kecil dan pasien yang terkena mungkin datang dengan nyeri tekan suprapubik. Pielonefritis biasanya disertai demam, nyeri pinggang, mual dan muntah. Jika bakteriuria asimtomatik tidak diobati, 20-40% kasus berkembang menjadi ISK akut, seperti pielonefritis dan kemungkinan dapat menyebabkan komplikasi kehamilan, termasuk kelahiran prematur pada bayi 20-50% kasus. (Kalinderi et al., 2018)

### **2.3 Epidemiologi Infeksi Saluran Kemih (ISK)**

ISK tergantung oleh beberapa faktor seperti usia, gender, prevalensi bakteriuria, dan faktor predisposisi yang menyebabkan perubahan struktur saluran kemih termasuk ginjal. Perempuan lebih rentan terkena ISK

dibandingkan laki-laki pada usia muda atau lebih dari 65 tahun. Frekuensi bakteriuria asimtomatik yang lebih tinggi pada perempuan. Prevalensi 1% selama usia sekolah dan meningkat menjadi 5% saat periode aktifnya aktivitas seksual. Pervalensi infeksi asimtomatik meningkat mencapai 30%, baik laki-laki maupun perempuan meningkat bila disertai faktor predisposisi pada table dibawah.(Ginanjar & Rachman, 2014; Matuszkiewicz-rowińska et al., 2015)

Tabel 1 Faktor Predisposisi ISK(Ginanjar & Rachman, 2014)

Litiasis
Obstruksi saluran kemih
Penyakit ginjal polikistik
Nekrosis papilar
Diabetes mellitus pasca transplantasi ginjal
Nefropati analgesic
Penyakit sikle-cell
Senggama
Kehamilan dan peserta KB dengan tablet progesterone
Kateterisasi

Tabel 2 menunjukkan 10 jenis bakteri berdasarkan tingkatannya yang ditemukan dari hasil pengumpulan spesimen urin dan darah pada lima rumah sakit, yaitu unit rawat inap: RSUD Dr. Saiful Anwar Malang, Cipto Mangunkusumo Hospital Jakarta, Hasan Sadikin Hospital Bandung, Dr. Soetomo Surabaya, dan Sanglah General Hospital Denpasar.(Mochtar &

Noegroho, 2015)

Tabel 2 Sepuluh Bakteri Paling Sering Ditemui di Rumah Sakit. (Mochtar & Noegroho, 2015)

Bakteri	Persen
<i>Escherichia coli</i>	32.1
<i>Pseudomonas spp</i>	17.0
<i>Klebsiella spp</i>	14.5
<i>Acinetobacter spp</i>	9.1
<i>Enterobacter spp</i>	7.3
Others Gram Pos	7.3
Others Gram Neg	4.8
<i>Staphylococcus spp</i>	4.2
<i>Proteus spp</i>	3.6
<b>Total</b>	<b>100.0</b>

Data tabel 2 menunjukkan bahwa bakteri *Escherichia Coli* mendapatkan urutan tertinggi sebanyak 32,1%, disusul oleh *Pseudomonas spp* sebanyak 17%, sedangkan urutan ketiga dan keempat bakteri terbanyak ditemukan yaitu *Klebsiella spp* (14,5%), *Acinetobacter spp* (9,1%) dan diikuti oleh berbagai jenis bakteri lainnya. Berbeda pada tabel 2, data pada tabel 3 memperlihatkan pola penyebaran bakteri terbanyak menyebabkan ISK pada pasien rawat jalan yang berasal dari lima data rumah sakit tersebut.

Tabel 3 Pola Jenis Bakteri Rawat Jalan Spesimen Urin.(Mochtar & Noegroho, 2015)

No	Nama Kuman	Persentase
1	<i>Escherichia coli</i>	61.7
2	<i>Klebsiella pneumonia</i>	16.1
3	<i>Staphylococcus coagulase negative</i>	13
4	Lain-Lain	9.2

Pada tabel 2 dan 3 tersebut memperlihatkan bahwa hasil jenis bakteri dari specimen urin yang telah menjadi sampel sebanyak 61,7% *Escherichia Coli*, kedua bakteri *Klebsiella pneumonia* 16,1%, urutan ketiga *staphylococcus coagulase negative* 13% dan bakteri lainnya yaitu 9,2%.

Ibu hamil dengan bakteriuria asimtomatik memiliki angka sebesar 10,2%, sedikit lebih tinggi dibandingkan angka 2–10% yang dilaporkan oleh Perhimpunan Uroginekologi Indonesia. Angka ini melampaui angka di Thailand (10,0%), Ghana (7,3%), Brunei (4,1%), dan Sri Lanka (3,6%), namun lebih rendah dibandingkan angka yang dilaporkan di India dan Nigeria, masing-masing sebesar 30,5%. (Rosana et al., 2020; Neal, 2008; Glaser & Schaeffer, 2015)

#### 2.4 Etiologi Infeksi Saluran Kemih

Bakteri adalah penyebab paling utama terjadinya ISK namun tidak dipungkiri bahwa virus, dan jamur juga dapat menyebabkan penyakit tersebut. Bakteri gram negatif adalah penyebab ISK yang paling umum. Bakteri tersebut antara lain yang floranya banyak terdapat di usus manusia, seperti *Escherichia coli*, *Proteus sp.*, *Klebsiella*, dan *Enterobacter*. Bakteriuria asimtomatik yang ditemukan dari 715 ibu hamil atau 10,5%

yang dilakukan oleh Rosana Y, Ocviyanti D, Halim M menunjukkan hasil bahwa *E coli* adalah faktor etiologi yang paling umum yaitu sebanyak 26,7% selanjutnya ditemukan *Klebsiella pneumoniae* (20%), *Streptococcus agalactiae* (9%) *Enterobacter cloaca* (5%) *Enterococcus faecalis* (5%) *Staphylococcus saprophyticus* 4% *Acinetobacter baumannii* 4%, dan mikroba lainnya. (Kalinderi et al., 2018; Rosana et al., 2020; Geo et al., 2005)

## **2.5 Patofisiologi Infeksi Saluran Kemih**

Perubahan hormonal dan anatomi menyebabkan terjadinya ISK pada kehamilan. Usian kehamilan sekitar tujuh minggu (trimester pertama) ureter mulai melebar disebabkan meningkatnya hormon progesteron yang mengakibatkan relaksasi otot polos. Usia kehamilan 22-26 minggu tekanan akibat semakin membesarnya janin dalam rahim dapat memperburuk keadaan yang mengakibatkan hidronefrosis dalam kehamilan. Selain itu, peningkatan volume vesika urinaria dan penurunan konsentrasi urin disebabkan oleh peningkatan volume plasma yang terjadi selama kehamilan. Retensi urin dan refluks uretero-vesika dapat meningkatkan terjadinya obstruksi yang dapat menyebabkan ISK. Perbedaan pH, osmolaritas urin, dan glikosuria yang disebabkan karena kehamilan dapat menyebabkan pertumbuhan bakteri dan ISK.(Kalinderi et al., 2018)

## **2.6 Faktor Resiko dan Mikroorganisme Patogen**

Faktor resiko bakteriuria pada kehamilan paling sering adalah jika penderita memiliki riwayat ISK sebelumnya dan menjadi salah satu faktor terbesar terjadinya infeksi simtomatik pada bakteriuria asimtomatik.

Hidroureter, hidronefrosis adalah anatomi yang paling umum sementara refluks vesiko-ureter adalah kelainan fungsional yang paling umum pada kehamilan yang menjadi predisposisi ISK. Selanjutnya, mikroorganisme patogen yang terkait dengan bakteriuria simtomatik dan asimtomatik adalah: *Escherichia coli*, terhitung hingga 86% kasus, *Staphylococcus saprophyticus*, *Klebsiella sp*, *Enterobakter sp*, *Proteus sp*, *Enterokokus sp*, *Streptokokus grup B*, dll.(Kalinderi et al., 2018)

Tabel 4 Faktor resiko terkait bakteriuria pada kehamilan.(Kalinderi et al., 2018; Norrby, 2012)

---

Risk factors:

Previous UTI

Gender

Anatomic urinary tract abnormalities

Functional urinary tract abnormalities

Diabetes mellitus (DM)

Sickle cell disease

Low socioeconomic status



## Multiparity and Pregnancy

Increased frequency of sexual activity

## Cateter

---

Bakteri di daerah periuretra vagina dan bagian distal uretra dapat berkembang biak selama aktivitas seksual jika *personal hygiene* kurang. Aktifitas seksual dapat menyebabkan perpindahan bakteri ke uretra baik pada wanita maupun pria. Namun, wanita yang hamil lebih mungkin terkena pielonefritis karena perubahan anatomi dan fungsi saluran kemih, termasuk ginjal yang lebih panjang, laju filtrasi glomerulus yang lebih tinggi (sekitar 30% - 50%), *hidroureteronefrosis* (akibat relaksasi otot polos di ureter), dan perubahan yang disebabkan oleh hormon progesteron yang menyebabkan retensi urin dan refluks vesikoureter dan kompresi mekanis kandung kemih dan ureter oleh rahim yang lebih besar. Pertumbuhan bakteri dan infeksi yang meningkat karena stasis urin dan tidak adanya sistem anti-refluks alami. Perubahan biokimia dalam urin wanita hamil, seperti peningkatan kadar glukosa, asam amino, dan produk pemecahan hormon, yang meningkatkan pH urin, merupakan faktor risiko tambahan.(Glaser & Schaeffer, 2015; Norrby, 2012; Foxman, 2014)

Tabel 5 Perubahan saluran kemih selama masa kehamilan.(Glaser & Schaeffer, 2015)

<b>Perubahan Saluran Kemih Selama Masa Kehamilan</b>	
Ginjal	Panjang ginjal dan laju filtrasi glomerulus meningkat 30% –50%
Sistem Kaliks	Peristaltik sistem kaliks menurun
Ureter	Peristaltik ureter menurun Terjadinya Obstruksi dikarenakan pertumbuhan janin
Vesika Urinaria	Bagian anterior dan superior vesika urinaria terjadi penekanan akibat pertumbuhan janin Terjadinya relaksasi otot polos Kapasitas vesika urinaria meningkat

Obstruksi saluran kemih (batu saluran kemih, striktur, hiperplasia prostat, penggunaan kateter) atau kondisi *imunokompromais* (diabetes) merupakan faktor risiko infeksi saluran kemih (ISK). Kelainan anatomi dan kelainan fungsional merupakan keadaan dimana urine tidak dapat dikeluarkan seluruhnya pada proses buang air kecil akibat kelainan neurogenik. Diabetes tidak terkontrol memiliki risiko tinggi terjadinya ISK. Pada penyakit diabetes melitus, faktor imun, perubahan fisiologis, dan adhesi bakteri pada sel uroepitel merupakan mekanisme yang paling rentan yang dapat menyebabkan ISK. Kelainan leukosit polimorfonuklear dalam

migrasi, fagositosis, kerusakan intraseluler, dan kemotaksis merupakan contoh faktor imunitas. Peningkatan kadar glukosa dalam urin berpotensi menekan aktivitas leukosit dan polimorfonuklear. Karena pengosongan kandung kemih yang tidak tuntas akibat neuropati otonom (*neurogenic bladder*) menyebabkan kuman dapat tumbuh dan berkembang biak di kandung kemih. (Kong, 2004; Glaser & Schaeffer, 2015; Foxman, 2014; Geerlings et al., 1999) Prosedur pemasangan kateter dapat menyebabkan kuman masuk ke kandung kemih sehingga terjadi invasi mikroorganisme, riwayat pemasangan kateter dapat meningkatkan risiko ISK empat kali lebih besar. (Norrby, 2012; Foxman, 2014)

Penggunaan diuretik, antibiotik, banyak minum, waktu pengumpulan urin yang tidak tepat, dan adanya bakteriofag adalah faktor yang dapat menimbulkan hasil negatif palsu pada pasien ISK. Jika faktor tersebut dapat dilakukan pengambilan sampel ulang maka sebaiknya diarahkan untuk pengambilan sampel kedua (Ginanjar & Rachman, 2014; Foxman, 2014)

Pemeriksaan gold standard untuk mendeteksi bakteriuria adalah kultur urin. ISK dinyatakan jika terdapat 1 jenis koloni dengan jumlah koloni  $10^5$  CFU. Penggunaan dipstick urin dan leukosit esterase dapat digunakan untuk melihat protein, sel darah merah, dan sel darah putih namun pengujian ini kurang akurat sehingga dapat menyebabkan hasil negatif palsu. Nitrit positif menunjukkan adanya bakteri gram negative, seperti *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Proteus* and *Enterobacter* karena organisme tersebut mengubah nitrat urin menjadi nitrit sedangkan pada gram positif

menunjukkan hasil nitrit negatif. Deteksi leukosit esterase yang meningkat menunjukkan bahwa sel darah putih pada urin memiliki jumlah yang tinggi seperti pada penyakit pyuria. Namun pada fase awal infeksi dan jika tidak mencapai suatu ambang batas tertentu leukosit esterase akan menunjukkan hasil negative. Pemeriksaan urin dengan menggunakan mikroskop juga dapat digunakan untuk mendeteksi adanya bakteri. Jika jumlah sel epitel skuamosa >15-20/LPB maka kemungkinan akibat urin terkontaminasi dan harus mengumpulkan sampel urin yang baru. (Kalinderi et al., 2018; Nicolle et al., 2019)

## **2.7 Patogenesis dan patofisiologi ISK**

Saluran kemih secara fisiologis bersifat steril. Virulensi bakteri yang menginfeksi, inokulasi, dan variabel inang adalah faktor yang saling berhubungan. Inokulasi adalah langkah pertama dalam proses ISK. Penjelasan yang paling banyak diterima mengenai infeksi adalah kuman naik dari anus ke perineum dan bermigrasi ke uretra dan kandung kemih. Gagasan alternatifnya adalah pengurangan laktobasilus penghasil peroksida dapat meningkatkan kerentanan terhadap kolonisasi patogen enterik yang lebih besar, sementara modifikasi penghalang glikosaminoglikan di urothelium dapat meningkatkan risiko infeksi enteropatogenik. (Ginanjar & Rachman, 2014; Norrby, 2012) Uropatogen berhasil dieliminasi atau kolonisasi bergantung pada interaksi antara *host* dan patogen pada kandung kemih. (Mandrachia et al., 2000)

Patogenesis bakteriuri asimtomatik menjadi bakteriuri simtomatik

dengan presentasi klinis ISK tergantung dari patogenitas bakteri dan status pasien sendiri (*host*), yaitu:(Ginanjar & Rachman, 2014; Norrby, 2012; Foxman, 2014)

a. Faktor Penjamu (*host*)

Pengosongan urin pada vesika urinaria dapat menghilangkan mikroorganisme patogen yang terdapat dalam buli-buli secara efektif. Jika kandung kemih tidak dikosongkan sepenuhnya, sisa urin mungkin tertinggal dan menyebabkan penyakit neurogenik, refluks vesikoureteral, atau penyumbatan.

Mediator kemotaktik yang dihasilkan oleh bakteri patogen yang menempel pada dinding sel uroepitel memicu respon inflamasi. Leukosit polimorfonuklear akan dipusatkan ke tempat infeksi oleh IL-6 dan IL-8, yang akan menimbulkan respon inflamasi lokal. Piuria disebabkan oleh leukosit di tempat infeksi.(Abou Heidar et al., 2019)

b. Virulensi Bakteri

Tanda pertama infeksi saluran kemih adalah menempelnya bakteri pada sel epitel sistem saluran kemih. Selanjutnya terjadi penghancuran sel, peradangan, dan infiltrasi bakteri pada jaringan uroepitel. Beberapa adhesi bakteri mendeteksi reseptor uroepitel dan mendorong kolonisasi. Patogen pada uroepitel mempunyai perlengketan pada mekanisme perlekatannya. Ketika uropatogen memasuki ginjal, dapat menyebabkan racun yang merusak jaringan yang memasuki sirkulasi melalui epitel tubulus ginjal (bakteremia).(Flores-Mireles et al., 2015)

Organ pili, *fimbriae*, atau *non-fimbriae* menentukan apakah bakteri atau mikroba lain dapat menempel pada organ tersebut. Saat ini, sejumlah adhesi telah dikenali, termasuk adhesi M, adhesi G, *curli adhesion*, *fimbriae* (tipe 1, P, dan S), adhesi *non-fimbrial* (DR haemagglutinin atau komponen DFA golongan darah DR), dan *adhesi fimbrial*. adhesi (AFA-1 dan AFA-III).

Pili tipe I merupakan pili yang sensitif terhadap mannose sangat penting dalam invasi dan kolonisasi kandung kemih. Perkembangan koloni ginjal dipengaruhi oleh pili tipe P. Gen *pap* (*pyelonephritis associated pili*) mengkode pili ini. Globosida yang mengandung glikolipid diikat oleh pili adhesin tipe P (*papG*). Dengan berinteraksi dengan TLR4 untuk menurunkan ekspresi reseptor imunoglobulin polimer (PIGR) dan menghalangi pengangkutan imunoglobulin A melalui lamina propria dan sel epitel luminal ginjal, *PapG* memodifikasi respon imun sekretori antibodi lokal. Penekanan imunoglobulin Melalui transit ke sistem saluran kemih, *Escherichia coli* mampu menghindari mekanisme pertahanan inang. (Flores-Mireles et al., 2015)

## 2.8 Manifestasi klinis

Disuria atau rasa tidak nyaman saat berkemih, nyeri suprapubik, frekuensi berkemih yang meningkat, dan urgensi merupakan gejala ISK bagian bawah (sistitis). Sistitis biasanya menyerang wanita yang aktif secara seksual 24-48 jam setelah melakukan hubungan seksual. terutama jika pengosongan kandung kemih pasca senggama tidak terjadi

setelahnya.(Norrby, 2012) Pielonefritis umumnya memiliki gejala berupa demam, menggigil, dan rasa tidak nyaman pada punggung. Berbeda dengan proses intra-abdomen akut seperti radang usus buntu, pankreatitis, dan kolestitis, gejala nonseptik termasuk anoreksia, lesu, mual, dan muntah juga dapat menyertai diagnosis.(Norrby, 2012; Timothy et al., 2018)

Tabel 6 Manifestasi klinis ISK.(Norrby, 2012)

<b>Manifestasi klinis ISK</b>	
<b>Tipe ISK</b>	<b>Manifestasi</b>
Sistitis	Peningkatan frekuensi berkemih  sensasi terbakar atau panas sebelum dan sesudah buang air kecil  Nyeri area suprapubik  Hematuria atau urin keruh
Pielonefritis	Demam  Menggigil  Nyeri pada panggul/pinggang  Gejala sistitis jarang dikeluhkan
Urosepsis	Demam

	Menggigil
	Syok sepsis

## 2.9 Kriteria Diagnosis ISK

- a. Kategori 1: Infeksi saluran kemih mungkin tidak terjadi jika CFU/ml kurang dari  $10^4$  (pengecualian: jika CFU/ml kurang dari  $10^4$  dalam urin yang diperoleh langsung melalui tusukan suprapubik atau sistoskopi).
- b. Kategori 2:  $10^4 - 10^5$  CFU per ml. Mintalah spesimen urin kedua dan ulangi penghitungan koloni jika pasien tidak menunjukkan gejala tanda-tanda infeksi saluran kemih. Identifikasi pasien dan lakukan pengujian kerentanan jika pasien menunjukkan tanda-tanda infeksi saluran kemih. Jika terdapat leukosituria atau terdapat gejala, jumlah bakteri dalam kisaran ini sangat menandakan adanya infeksi saluran kemih. Jika terdapat ketidakpastian mengenai jumlah, kualitas, atau pentingnya gejala, kumpulkan sampel urin lagi dan lakukan pemeriksaan kembali.
- c. Kategori 3:  $> 10^5$  CFU per ml. Pengujian kerentanan dan identifikasi harus dilanjutkan. Pada semua pasien, bahkan pada wanita yang tidak memiliki gejala, jumlah bakteri ini merupakan indikasi kuat adanya infeksi saluran kemih.

Jika sampel urin dari kategori 2 dan 3 mengandung lebih dari dua jenis bakteri, kontaminasi mungkin terjadi. (Vandepitte J. et al., 2010; Chu & Lowder, 2018)



## 2.10 Pemeriksaan Dipstik Urin

Pemeriksaan nitrit dan leukosit esterase dengan menggunakan carik celup pada sampel urin disebut dengan pemeriksaan dipstick (commercial reagen strip), yang digunakan untuk penunjang ISK. Tes leukosit esterase untuk mengetahui adanya peradangan saluran kemih, sedangkan tes strip nitrit adalah alat skrining cepat untuk sistitis, pielonfritis, menilai pengobatan antibiotik, dan mengawasi individu yang berisiko tinggi terkena ISK. Meskipun kultur urin tetap menjadi pendekatan utama untuk mengidentifikasi infeksi saluran kemih, kedua tes ini dapat digunakan sebagai alat skrining untuk spesimen kultur urin dalam upaya menghemat pengeluaran.(Finnegan, 2015) Pemeriksaan yang paling umum dilakukan pada puskesmas Kota Makassar adalah pemeriksaan tes nitrit dan tes leukosit esterase. Mengenai sensitivitas dan spesifisitas diagnostiknya, tes laboratorium lain untuk bakteriuria asimtomatik, seperti tes leukosit esterase dan reduksi nitrit, masih diperdebatkan.(Kalalo et al., 2018)

### a. Nitrit

Tes nitrit menentukan apakah bakteri dapat mengubah nitrat menjadi nitrit. Dengan bereaksi dengan *paraarsanilic acid* atau *sulfanilamide* pada pH asam menghasilkan senyawa *diazonium*, yang selanjutnya bereaksi dengan senyawa *tetrahidrobenzoquinolin* menghasilkan warna merah muda, nitrit dapat diidentifikasi melalui reaksi Greiss. Jika hasilnya berwarna merah muda maka dianggap positif.(Finnegan, 2015)

b. Leukosit esterase (LE)

Tes leukosit esterase mampu mengidentifikasi esterase pada monosit dan sel darah putih granulositik, seperti neutrofil, eosinofil, dan basofil. Jenis leukosit yang paling umum, neutrofil, terkait dengan penyakit akibat bakteri. Senyawa *acid indoxyl* dan *indoxyl* terbentuk ketika *acid ester* dihidrolisis oleh LE. Senyawa ini bercampur dengan garam diazonium pada strip pad untuk menghasilkan warna ungu. Respons LE menghasilkan hasil +1, +2, dan +3 dan membutuhkan waktu dua menit. (Mandrachia et al., 2000; Finnegan, 2015)

### 2.11 ISK dan Pengobatan Antibiotik pada Kehamilan

Antibiotik adalah senyawa alami maupun buatan, yang mempunyai kemampuan untuk menghambat atau menghentikan aktivitas biokimia suatu organisme, terutama ketika terjadi infeksi. beberapa kelompok antibiotik, antara lain: (Geo et al., 2005; Soleha, 2015)

1. Antibiotik yang menghambat perkembangan dinding sel bakteri, seperti kelompok glikopeptida dan  $\beta$ -laktam. Vankomisin adalah contoh antibiotik glikopeptida, sedangkan penisilin dan sefalosporin adalah antibiotik  $\beta$ -laktam.
2. Molekul membran sel bakteri dirusak oleh antibiotik yang termasuk dalam kelas peptida yang mencakup lantionin (nisin dan subtilin, misalnya).
3. Antibiotik yang termasuk dalam kategori makrolida mencegah bakteri mensintesis protein.

4. Antibiotik golongan aminoglikosida berfungsi menghambat proses translasi.
5. Menghambat interaksi kodon-antikodon antara mRNA dan tRNA adalah cara obat tetrasiklin mempengaruhi ribosom bakteri.

Proses berikut dapat menimbulkan resistensi bakteri:(Geo et al., 2005; Chatim et al., 2018)

1. Berkurangnya ketersediaan antibiotik untuk target porin pada membran luar
2. enzimatis  $\beta$ -laktamase ( $\beta$ -laktamase)
3. Modifikasi/perlindungan resistensi target terhadap tetrasiklin, kuinolon, dan  $\beta$ -laktam
4. Ketidakmampuan mengaktifkan antibiotik
5. Aliran keluar aktif antibiotik

Tujuan dasar tes sensitivitas antimikroba adalah untuk mengidentifikasi bakteri penyebab penyakit yang cenderung menunjukkan resistensi antibiotik atau kapasitas antibiotik untuk menghentikan pertumbuhan bakteri yang tumbuh secara in vitro untuk mengidentifikasi antibiotik tersebut sebagai pilihan pengobatan yang memungkinkan.(Geo et al., 2005; CLSI, 2019)

Persalinan prematur, ketuban pecah dini, dan kejadian berat badan lahir rendah (BBLR) semuanya dapat meningkat secara signifikan pada ibu hamil dengan bakteriuria asimtomatik. Perawatan antibiotik dapat

mengurangi kemungkinan terjadinya kejadian tersebut. Pielonefritis, *maternal sepsis*, hipertensi dan/atau preeklamsia, anemia selama kehamilan, infeksi cairan ketuban, dan endometritis pasca melahirkan adalah beberapa masalah lain yang mungkin timbul. (Ginanjar & Rachman, 2014; Kalalo et al., 2018; Mclsaac et al., 2005)

Pengobatan antibiotik diberikan pada ibu hamil pada saat terdiagnosis bakteriuria walaupun tidak memiliki gejala. Penggunaan antibiotik ampisilin dan amoksisilin pada kasus *E. coli* menunjukkan hasil resisten sebanyak 20-40% sehingga dapat digantikan menggunakan antibiotik Fosfomycin. Wanita hamil dengan bakteriuria asimtomatik harus diberikan pengobatan antibiotik selama 7 hari sedangkan pada kasus infeksi berulang diberikan pengobatan antibiotik selama 10-14 hari. Khususnya, *streptokokus grup B* (GBS) umumnya dikaitkan dengan transmisi vertikal dari ibu ke bayi, dan pengobatan ibu dengan antibiotik intravena intrapartum diperlukan ketika bakteriuria GBS terdeteksi selama kehamilan. Profilaksis yang adekuat yaitu penisilin (agen tertentu), ampisilin atau cefazolin, diberikan > 4 jam sebelum melahirkan. *Escherichia coli* sebagai penyebab ISK tersering menunjukkan hasil sensitiv terhadap antibiotik Ceftriaxone, nitrofurantoin, dan amoxicillin-klavulanat sedangkan pada antibiotik jenis ampicillin, cefadroxil, dan amoxicillin didapatkan hasil resisten. (Kalinderi et al., 2018; Kalalo et al., 2018)

Kasus ISK yang sering berhubungan dengan hubungan seksual dapat digunakan antibiotik postcoital. Dalam kasus pielonefritis pada pasien rawat

inap dan antibiotik diberikan melalui intravena selama 48 jam bersamaan dengan pemberian antipiretik sampai pasien tidak mengalami demam. Setelah itu, antibiotik oral harus dilanjutkan selama 10-14 hari. Penggunaan antibiotik yang tidak perlu dalam praktik klinis sehari-hari harus dihindari dan bakteriuria asimtomatik tidak boleh diobati pada orang dewasa. Perawatan khusus hanya boleh diberikan pada kehamilan dan eradikasi bakteriuria harus dikonfirmasi kembali dengan kultur urin kedua 1-2 minggu setelah pemberian antibiotik selesai. (Kalinderi et al., 2018)

Tabel 7 Antibiotik yang digunakan pada ISK selama kehamilan. (Kalinderi et al., 2018)

Antibiotiks	Key points
Amoxicillin	If susceptible
Ampicillin	If susceptible
Fosfomycin	Alternative of amoxicillin-ampicillin
Cephalexin	Least preferred option
Trimethoprim	Avoid in first trimester (folate antagonist)
Nitrofurantoin	Avoid at 36 weeks (haemolysis in the newborn)

Berikut ini adalah beberapa prinsip dasar pengujian kerentanan antimikroba: (Geo et al., 2005)

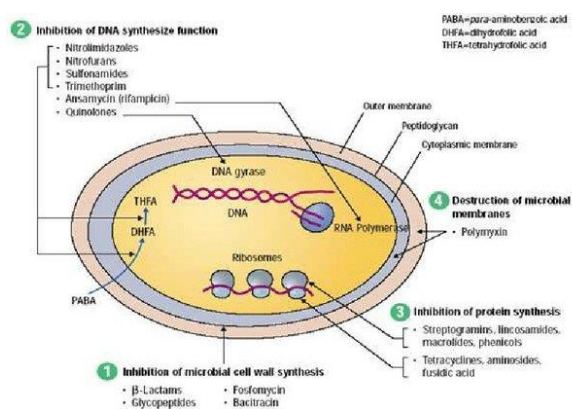
1. Merupakan teknik yang mengukur seberapa baik satu atau lebih antimikroba bekerja melawan inokulum bakteri.
2. Merupakan teknik yang mencari mekanisme resistensi tertentu pada inokulum bakteri dan menemukannya secara langsung.

3. Merupakan teknik unik yang digunakan untuk mengukur bagaimana mikroorganisme dan antibiotik berinteraksi. (Al-Ani et al., 2015)

## 2.12 Resistensi Antimikroba

Antibiotik diproduksi oleh bakteri, jamur, dan organisme lain yang memiliki kemampuan mengganggu aktivitas mikroorganisme lain. Dalam kebanyakan kasus, zat ini memiliki kemampuan untuk membunuh bakteri (bakterisida) atau mencegah pertumbuhan bakteri atau kuman lain (bakteriostatik). Antibiotik tertentu mempunyai aktivitas yang luas terhadap beberapa spesies bakteri, sementara antibiotik lain mempunyai spektrum yang lebih sempit dan lebih ditargetkan terhadap spesies bakteri tertentu. (Bezoen et al., 2000)

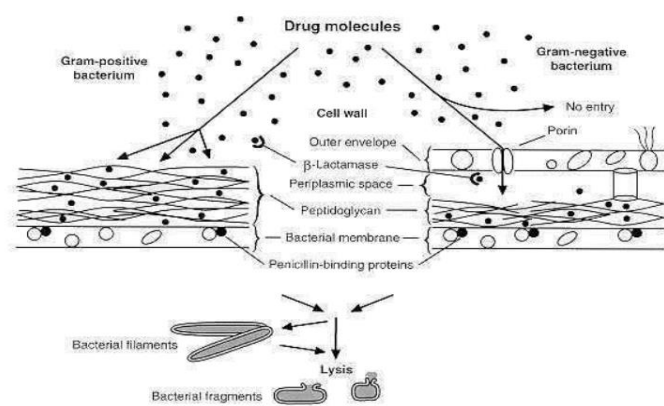
Penghambatan produksi dinding sel adalah salah satu dari lima cara kerja antibiotik. fungsi membran plasma terhambat. penghambatan transkripsi materi genetik dan sintesis protein translasi. gangguan metabolisme folat. gangguan sintesis asam nukleat. (Geo et al., 2005; Peterson, 1996)



Gambar 2 Mekanisme kerja antibiotik pada bakteri. (Peterson, 1996)

### 2.12.1 Penghambatan pada sintesis dinding sel

Demi menjaga bentuk sel dan mengendalikan tekanan osmotik internal, bakteri memiliki lapisan luar yang disebut dinding sel. Berbeda dari bakteri Gram-negatif, bakteri Gram-positif memiliki struktur dinding sel yang berbeda. Dinding sel bakteri Gram-negatif terdiri dari lipopolisakarida, lipoprotein, fosfolipid, dan protein, sedangkan dinding sel bakteri Gram-positif mengandung peptidoglikan, teikhoat, atau asam teikuronat, serta selubung yang terbuat dari protein dan polisakarida. Lapisan peptidoglikan merupakan tempat kerja antibiotik pada dinding sel bakteri. Karena lapisan ini sangat penting untuk melestarikan kehidupan bakteri dalam lingkungan hipotonik, rusak atau hilangnya lapisan ini akan mengakibatkan hilangnya kekakuan dinding sel dan akhirnya kematian. (Geo et al., 2005; Bezoen et al., 2000; Peterson, 1996)



Gambar 3 Proses masuknya antibiotik pada bakteri Gram positif dan Gram negatif. (Peterson, 1996)

Obat antibiotik golongan  $\beta$ -laktam secara selektif memblokir pembuatan dinding sel bakteri, semua antibiotik  $\beta$ -laktam efektif melawan bakteri yang masih dalam fase pertumbuhan. Pengikatan obat pada protein pengikat penisilin (PBPs=Penicillin-binding proteins) pada permukaan sel bakteri memulai fase pertama kerja antibiotik ini. Setelah obat menempel pada satu atau lebih reseptor, reaksi transpeptidasi akan terhambat dan selanjutnya sintesis peptidoglikan akan terhambat. Tahap selanjutnya adalah inaktivasi dan hilangnya inhibitor enzim autolitik pada dinding sel. Hasilnya adalah aktivasi enzim litik yang akan menyebabkan lisis bakteri. Resistensi terhadap penisilin disebabkan oleh terbentuknya enzim penghancur penisilin, yaitu enzim  $\beta$ -laktamase. Enzim ini akan menyebabkan terbukanya cincin  $\beta$ -laktam pada penisilin dan sefalosporin, sehingga merusak aktivitas antimikroba. Produksi peptidoglikan akan ditekan setelah obat menempel pada satu atau lebih reseptor, yang juga akan menghambat proses transpeptidasi. Fase berikutnya melibatkan inhibitor enzim autolitik dinding sel menjadi tidak aktif dan kehilangan efeknya. Akibatnya, enzim litik diaktifkan, menyebabkan lisis bakteri. Perkembangan enzim yang disebut  $\beta$ -laktamase, yang memecah penisilin, menyebabkan resistensi penisilin. Cincin  $\beta$ -laktam pada penisilin dan sefalosporin akan terbuka karena enzim ini, sehingga menghilangkan sifat antibakterinya. (Geo et al., 2005; Chatim et al., 2018; Peterson, 1996)



### **2.12.2 Penghambatan pada fungsi membran plasma.**

Dalam sel hidup, sitoplasma dibatasi oleh membran sitoplasma, yang mengatur komposisi internal sel, bertindak sebagai mekanisme transpor aktif, dan berkontribusi pada penghalang permeabilitas selektif. Ion dan makromolekul akan keluar dari sel jika fungsi integritas membran sel terganggu, sehingga akan menyebabkan kerusakan dan akhirnya kematian sel. Membran sitoplasma sel hewan tidak sama dengan membran sitoplasma bakteri dan jamur, dan beberapa zat serta obat lebih mudah merusaknya. Misalnya, bakteri gram negatif dengan lipid bermuatan positif pada permukaannya rentan terhadap efek polimiksin B. Karena sifat antagonisnya terhadap  $Mg^{2+}$  dan  $Ca^{2+}$ , polimiksin dapat secara kompetitif menghilangkan  $Mg^{2+}$  atau  $Ca^{2+}$  dari gugus fosfat bermuatan negatif dalam lipid membran. Polimiksin ini mengganggu permeabilitas membran, menyebabkan disintegrasi kation dan asam nukleat dan akhirnya kematian sel. Karena polimiksin dapat berikatan dengan ligan berbeda di jaringan tubuh dan berbahaya bagi ginjal dan sistem saraf, polimiksin biasanya tidak digunakan secara sistemik. (Geo et al., 2005; Thenmozhi et al., 2014)

### **2.12.3 Penghambatan berbasis sintesis asam nukleat.**

Rifampisin mencegah perkembangan bakteri dengan menempel pada RNA polimerase yang bergantung pada DNA. Komponen yang menunjukkan selektivitas dalam mengidentifikasi wilayah promotor selama transkripsi DNA dikaitkan dengan rantai polipeptida dari enzim polimerase. Rifampisin menghambat sintesis RNA bakteri dengan secara selektif

mempengaruhi langkah awal pengikatan subunit RNA polimerase, yang bersifat nonkovalen dan kuat. Perubahan RNA polimerase yang disebabkan oleh mutasi kromosom mengakibatkan resistensi terhadap rifampisin. DNA girase dihambat oleh semua kuinolon dan fluorokuinolon, yang mencegah sintesis DNA bakteri. (Geo et al., 2005; Chatim et al., 2018; Bezoen et al., 2000)

#### **2.12.4 Penghambatan pada sintesis protein.**

Cara kerja antibiotik golongan ini secara pasti masih belum diketahui. Mamalia mengandung ribosom 30S, sedangkan bakteri memiliki ribosom 70S. Obat antimikroba dapat menurunkan sintesis protein pada ribosom bakteri tanpa mempengaruhi ribosom mamalia, yang dapat dijelaskan oleh komponen yang berbeda, susunan kimia, dan spesialisasi fungsional dari setiap jenis ribosom. Beberapa ribosom di sepanjang untai RNA, yang dikenal sebagai polisom, membaca pesan pada mRNA secara bersamaan selama produksi protein mikroba normal. (Geo et al., 2005; Bezoen et al., 2000)

#### **2.12.5 Penghambatan pada metabolisme folat.**

Biosintesis tetrahidrofolat berfungsi sebagai pengangkut potongan karbon yang diperlukan untuk produksi DNA, RNA, dan protein dinding sel, trimetoprim dan sulfonamid memiliki efek penghambatan pada metabolisme folat. (Geo et al., 2005; Thenmozhi et al., 2014)

Pembentukan dinding sel bakteri (peptidoglikan), struktur sel yang unik pada sel bakteri dan tidak terdapat pada sel mamalia, secara khusus

dihambat oleh antibiotik beta laktam. Karena menunjukkan toksisitas selektif, antibiotik beta laktam adalah pilihan terbaik untuk membunuh kuman invasif tanpa menyebabkan kerusakan pada sel inang. (Geo et al., 2005; Bezoen et al., 2000; Gonzalez-Estrada & Radojicic, 2015)

### 2.13 Cephalosporin

Produk sampingan fermentasi *Cephalosporium acremonium* adalah sefalosporin. Banyak antibiotik yang aktif melawan bakteri gram positif dan gram negatif serta resisten terhadap beta-laktamase diproduksi oleh jamur *Cephalosporium*. Antibiotik ini memiliki kemiripan dengan penisilin. Cephalosporin bekerja melalui mekanisme yang hampir sama dengan penisilin: (1) menempel pada protein pengikat penisilin (PBPS), yang berfungsi sebagai reseptor obat pada bakteri; (2) mencegah transpeptidasi peptidoglikan, yang mencegah sintesis dinding sel bakteri; dan (3) mengaktifkan enzim autolitik pada dinding sel yang menyebabkan kerusakan dan akhirnya mengakibatkan kematian sel bakteri. (Thenmozhi et al., 2014; Gonzalez-Estrada & Radojicic, 2015)

Perkembangan resistensi terhadap *cephalosporin* dapat disebabkan oleh banyak faktor: (1) kurangnya penetrasi obat ke dalam bakteri; (2) tidak adanya PBPS untuk obat tertentu; (3) degradasi obat oleh beta-laktamase; dan (4) timbulnya beta-laktamases khusus selama pengobatan pada batang gram-negatif tertentu (strain *Enterobacter*, *Serratia*, *Pseudomonas*), dan (5) ketidakmampuan mengaktifkan enzim autolitik pada dinding sel. (Thenmozhi et al., 2014; Castanheira et al., 2021)

Sejumlah jenis *cephalosporin*, termasuk *cefotaxime*, *ceftriaxone*, dan *cefepime* mempunyai penetrasi yang baik ke dalam sistem saraf pusat dan oleh karena itu membantu dalam mengobati infeksi pada sistem saraf pusat, termasuk meningitis. *Cephalosporin* juga mampu melewati plasenta dan terdapat dalam jumlah tinggi di cairan sinovial dan perikardial. Selain itu, hasil penetrasi yang lebih baik akan diperoleh dengan injeksi sistemik *cephalosporin* generasi ketiga ke dalam aqueous humor. Tiga "generasi" atau kelompok *cephalosporin* utama dipisahkan terutama berdasarkan jangkauan aksi antibakterinya. (Bezoen et al., 2000; Thenmozhi et al., 2014)

### 2.13.1 Cephalosporin Generasi Pertama

*Cefadroxil*, *cefazolin*, *cephalexin*, *cephalothin*, *cefapirin*, dan *cefadrin* merupakan contoh *cephalosporin* generasi pertama yang mempunyai aktivitas moderat terhadap bakteri gram negatif dan aktivitas baik terhadap bakteri gram positif. Selain itu, juga bekerja dengan baik melawan bakteri yang rentan atau resisten terhadap *penisilin*. Karena bekerja melawan bakteri penghasil *penisilinase*, *penisilin* mempunyai keunggulan. Kebanyakan strain *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus*, seperti *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus viridans*, dan *Streptococcus pyogenes*, dapat dibasmi oleh kelompok ini. (Geo et al., 2005; Bezoen et al., 2000; Thenmozhi et al., 2014)

Obat oral digunakan untuk pengobatan infeksi jaringan lunak, selulitis, luka ringan akibat *Staphylococcus*, dan infeksi saluran kemih. Meskipun obat-obatan intravena digunakan untuk mengobati infeksi yang disebabkan

oleh bakteri seperti *Kleibsiella pneumoniae*, obat-obatan tersebut tidak efektif dalam mengobati meningitis karena rendahnya penetrasi obat tersebut ke dalam sistem saraf pusat. (Geo et al., 2005; Bezoen et al., 2000; Thenmozhi et al., 2014)

### 2.13.2 Cephalosporin Generasi Kedua

Kategori ini meliputi *cefachlor*, *cefamandol*, *cefonisid*, *ceforanid*, *cefoxitin*, *cefmetazol*, *cefotetan*, *cefuroxime*, *cefprozil*, *lorakarbef*, dan *cefpodoxime*. Obat ini mencakup spektrum luas bakteri gram negatif, termasuk *Enterobacter*, *Kleibsiella*, dan *Proteus* indole positif, namun seringkali kurang efektif melawan bakteri gram positif dibandingkan generasi pertama. Namun jika menyangkut *enterococcus* atau *Pseudomonas aeruginosa*, antibiotik ini kurang efektif. (Geo et al., 2005; Bezoen et al., 2000; Thenmozhi et al., 2014)

### 2.13.3 Cephalosporin Generasi Ketiga

Kelompok generasi ketiga terdiri dari *cefixime*, *moxalactam*, *cefotaxime*, *ceftriaxone*, *cefoperazone*, *ceftazidime*, dan *ceftizoxime*. Kerja *cephalosporin* generasi ketiga kuat terhadap bakteri gram negatif tetapi buruk terhadap bakteri gram positif. Hal ini disebabkan oleh resistensi obat terhadap beta-laktamase dan kemampuannya untuk melawan selubung bakteri gram negatif. Obat ini efektif melawan kuman, termasuk *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Haemophilus*, *Neisseria*, dan *Pseudomonas aeruginosa*.

## 2.14 Mekanisme Resistensi Bakteri

Obat antimikroba tidak bekerja melawan semua jenis kuman. Sejumlah elemen bergabung untuk menghasilkan spektrum aktivitas masing-masing obat, dengan mekanisme kerja obat utama yang paling berpengaruh. Demikian pula, resistensi obat bukanlah fenomena universal yang melibatkan obat dan mikroba. Terlepas dari faktor genetik yang mendasarinya, situasi berikut menyebabkan perubahan mendasar pada kerentanan bakteri terhadap antimikroba: (Thenmozhi et al., 2014; Gonzalez-Estrada & Radojicic, 2015; Levy, 1998)

1. Sintesis enzim seperti *penisilinase*, *sefalosporinase*, *fosforilase*, *adenilase*, dan *asetilase* yang mampu mendegradasi antibiotik.
2. Modifikasi permeabilitas obat sel bakteri.
3. Peningkatan jumlah senyawa alami yang melawan pengobatan.
4. Modifikasi kuantitas atau susunan zat yang mengikat obat pada targetnya pada sel bakteri.

Resistensi dapat menyebar dengan cepat dan luas di antara spesies bakteri yang sama serta antar genera ketika plasmid digunakan (faktor R). Mikroorganisme yang resisten terhadap plasmid mampu menghasilkan enzim dan mengalami perubahan struktural pada selnya akibat mutasi. (Geo et al., 2005; Levy, 1998)

### 2.14.1 Resistensi akibat mutasi.

Mutasi yang menyebabkan resistensi antibiotik juga terjadi secara spontan. Hal ini terjadi secara acak dan tidak dipengaruhi oleh obat-obatan atau lingkungan seleksi kecuali antibiotik tersebut merupakan mutagen yang dapat mempercepat laju mutasi. Satu pasangan basa dalam urutan nukleotida gen sering diubah oleh mutasi. (Geo et al., 2005; Peterson, 1996; Thenmozhi et al., 2014; Gonzalez-Estrada & Radojicic, 2015; Levy, 1998)

Struktur sel bakteri diubah oleh mutasi kromosom. Modifikasi ini termasuk pada ribosom, yang berfungsi sebagai "*target site*", dinding sel atau membran plasma, yang membuat sel kebal terhadap obat-obatan, reseptor permukaan, dan hilangnya dinding sel bakteri, yang mengakibatkan pembentukan bakteri. Bentuk L (juga dikenal sebagai "*spheroplast*"). Penggunaan antibiotik yang ekstensif dan berkepanjangan merupakan proses seleksi yang memungkinkan strain mutan berkembang biak dan akhirnya mengambil alih populasi. (Geo et al., 2005; Peterson, 1996; Thenmozhi et al., 2014; Gonzalez-Estrada & Radojicic, 2015; Levy, 1998)

### 2.14.2 Resistensi dengan perantaraan plasmid.

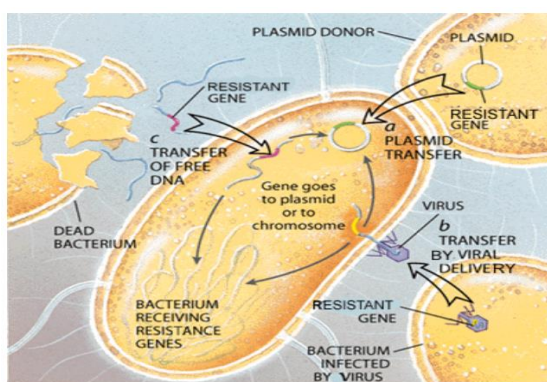
Selama tahun 1960-an, plasmid R diidentifikasi dan sejak itu berkembang biak secara luas dalam komunitas bakteri komensal dan patogen. Unsur genetik ekstrachromosomal dengan kemampuan replikasi independen disebut plasmid. Gen yang mengkode resistensi antibiotik

biasanya ditemukan pada plasmid. Isolat klinis sering menunjukkan resistensi yang dimediasi plasmid. Mobilitas gen pada plasmid lebih tinggi dibandingkan gen pada kromosom. Akibatnya, gen resistensi yang ditemukan pada plasmid dapat berpindah antar sel yang berbeda. Resistensi yang dimediasi plasmid biasanya dikaitkan dengan produksi protein yang berfungsi sebagai enzim untuk memecah obat atau mengubahnya menjadi bentuk yang tidak bersifat bakteristatik atau bakterisidal. Lihat Gambar 4 di bawah untuk contohnya. (Geo et al., 2005; Levy, 1998)

Tabel 8 Antibiotik tertentu dan mekanisme resistensi yang dimediasi oleh

Jenis antimikroba	Mekanisme resistensi Perantaraan plasmid
Antibiotik $\beta$ -laktam : penisilin, sefalosporin	$\beta$ - laktamase
Aminoglikosida	N-asetilase, fosforilase
Kloramfenikol	Asetil transferase
Streptomisin, spektinomisin	Fosforilase
Tetrasiklin	Perubahan sistem transport
Eritromisin	Perubahan "ribosom binding site"

plasmid. (Levy, 1998)



Gambar 4 Gen resistensi antibiotik diperoleh oleh bakteri. (Levy, 1998)



### 2.14.3 Reistensi dengan perantaraan transposon.

Dua jenis transposon adalah transposon kompleks dan *insertion sequence*. Struktur yang terbuat dari DNA yang disebut transposon memiliki kemampuan untuk bergerak melintasi DNA suatu organisme. Selain berasal dari kromosom bakteri, struktur ini dapat ditemukan pada plasmid dan bakteriofag. Biasanya hanya terdiri dari gen transposase, *insertion sequence*= IS (*simple transposon*) adalah elemen DNA bergerak yang ditemukan pada bakteri. Memotong titik DNA dan berpindah ke posisi baru memungkinkan struktur ini mengubah urutan DNA-nya sendiri. Penghapusan, inversi, duplikasi, dan fusi replikasi terjadi akibat IS, sehingga mengubah struktur genom.(Levy, 1998)

Transposon komprehensif dapat terjadi tidak hanya di dalam plasmid tetapi juga di dalam bakteri. Transposon terdiri dari gen yang memutasi enzim sehingga mereka dapat memodifikasi DNA sendiri dan berpindah ke lokasi lain. Komponen transposon mengandung satu gen atau lebih dengan fungsi berbeda. Transposon yang memiliki gen resistensi akan menyisipkan dirinya ke plasmid lain jika melakukan hal tersebut. Artinya jika plasmid dapat menyusun kembali dirinya menjadi yang baru atau jika transposon dapat menyisipkan dirinya ke dalam plasmid dan menyebabkan replikasi atau penyisipan ke dalam kromosom, maka plasmid tersebut menjadi resisten terhadap tindakan antibiotik.(Levy, 1998)

## 2.15 Bakteri Penghasil ESBL

Jika antibiotik dengan dosis tertinggi tidak mampu menghentikan perkembangan bakteri, maka bakteri tersebut dianggap resisten. Pertumbuhan mikroba tersebut dan penggunaan antibiotik yang tidak tepat menyebabkan terjadinya resistensi antibiotik. Faktor tambahan yang berkontribusi terhadap kondisi ini adalah resistensi antibiotik yang disebabkan oleh mutasi atau gen resistensi yang didapat. Transfer gen yang dimediasi plasmid adalah salah satu dari beberapa cara yang digunakan bakteri untuk mengembangkan resistensi antibiotik. Terletak pada kromosom atau plasmid, gen yang mengatur sintesis  $\beta$  laktamase adalah. Betalaktamase adalah enzim yang diangkut oleh plasmid. Istilah Extended Spectrum  $\beta$  laktamase (ESBL) mengacu pada bakteri yang menghasilkan enzim betalaktamase. (Ruh et al., 2019)

Golongan *aztreonam* dan antibiotik *cephalosporin* generasi pertama, kedua, dan ketiga semuanya dapat dihidrolisis oleh enzim ESBL, tetapi tidak dapat dihidrolisis oleh *karbapenem* atau *sefamisin*. Sensitif terhadap inhibitor seperti *asam klavulanat*, *sulbactam* dan *tazobactam*. Mereka berkembang dari mutasi gen dan menghasilkan code primordial TEM-1, TEM-2, atau SHV-1  $\beta$  laktamase dengan perubahan konfigurasi asam amino pada enzim tersebut. (Numanovic et al., 2013; Vinet & Zhedanov, 2011)

Banyak bakteri sekarang termasuk ESBL. ESBL telah terdeteksi pada bakteri selain *Enterobacteriaceae*, termasuk spesies *Pseudomonas*,

spesies *Stenotrophomonas*, spesies *Acinetobacter*, spesies *Vibrio*, dan spesies *Haemophilus*. Enzim ESBL ini paling sering diproduksi oleh bakteri *enterobacteriaceae*, antara lain *Klebsiella pneumoniae* dan *Escherichia coli*. Bakteri ini biasanya menyebabkan bakteremia dan infeksi saluran kemih (ISK).

a. *Escherichia coli*

Bakteri oportunistik yang disebut *Escherichia coli* sering kali muncul sebagai flora normal di usus besar manusia. Ada dua spesies dalam genus *Escherichia coli*: *Escherichia coli* dan *Escherichia hermannii*. Kolesistitis, diare, bakteremia, infeksi saluran kemih, dan infeksi klinis lainnya seperti meningitis pada bayi baru lahir, dan pneumonia adalah beberapa di antara banyak penyakit bakteri yang disebabkan oleh *E. coli*. (Rupp et al., 2003; Thenmozhi et al., 2014)

Bakteri *Escherichia coli*, yang menyebabkan ESBL, diyakini sangat terkait dengan penggunaan kateter, terutama pada pasien dengan infeksi saluran kemih (ISK), serta penggunaan obat-obatan yang tidak rasional, terutama *cephalosporin* dan *penisilin* generasi pertama. (Rupp et al., 2003; Thenmozhi et al., 2014)

b. *Klebsiella sp.*

*Klebsiella* adalah genus bakteri gram negatif berbentuk batang yang termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae*. dimana membran sel diambil dari kapsul polisakarida. *Klebsiella* adalah bakteri normal yang ditemukan di usus besar manusia. Mayoritas bakteri enterik tidak menginfeksi

inangnya saat masih berada di usus besar. Namun, bakteri bisa berubah menjadi patogen jika inangnya berubah atau jika kondisi tertentu memungkinkan bakteri masuk ke bagian tubuh lain. Misalnya, bakteri ini dapat membentuk koloni pada kulit, faring, dan sistem pencernaan. Selain itu, mereka dapat menghasilkan koloni pada luka terbuka yang steril dan urin. Kuman di daerah orofasial dapat menginfeksi melalui penggunaan intubasi endotrakeal, penghancuran sistem imunitas, dan penggunaan antimikroba yang tidak dapat dibenarkan. Penggunaan antibiotik spektrum luas secara berlebihan pada pasien rawat inap akan meningkatkan kemungkinan timbulnya resistensi terhadap banyak obat, yang dapat menyebabkan produksi ESBL. (Rupp et al., 2003; Thenmozhi et al., 2014)

#### **2.16 Klasifikasi ESBL**

Bakteri gram negatif seperti *E. coli* dan *Klebsiella spp.*, khususnya, telah mengembangkan resistensi yang tinggi terhadap *cephalosporin* generasi ketiga, yang menghasilkan produksi *Extended Spectrum Beta-Lactamases*. dimana bakteri tersebut mampu menghidrolisis dan memecah antibiotik secara enzimatis. Mutasi dari infeksi sebelumnya memfasilitasi transfer plasmid, yang merupakan cara penularan bakteri yang menghasilkan enzim ESBL. (Rupp et al., 2003; Castanheira et al., 2021)

Berdasarkan komposisi nukleotida dan asam amino penyusunnya klasifikasi ESBL terdiri dari: (Thenmozhi et al., 2014; Castanheira et al., 2021)

1. *ESBLs* kelas A yaitu:
  - a. Pada bakteri gram negatif, beta laktamase tipe TEM adalah jenis beta laktamase yang paling umum. termasuk TEM-10, TEM-12, dan TEM 26 yang sering ditemui di Amerika.
  - b. *K. pneumoniae* diketahui mengandung konsentrasi tertinggi beta laktamase tipe SHV 1, hingga 20% di antaranya terlibat dalam resistensi *ampisilin* yang dimediasi plasmid. Meskipun terdapat lebih dari 60 variasi SHV yang diketahui, SHV-5 dan SHV-12 adalah jenis yang paling sering ditemui, dan kebanyakan ditemukan di Amerika Serikat dan Eropa.
  - c. Dibandingkan dengan substrat oxymino-beta-laktam lainnya (*ceftazidime, ceftriaxone, atau cefepime*), CRO-M beta laktamase memiliki aktivitas resistensi yang lebih tinggi terhadap *sefotaksim*.
  - d. Jenis ini dan jenis TEM atau SHV tidak berhubungan. Terdapat hampir empat puluh varietas CRO-M yang berbeda. Strain *E. coli* dan *Salmonella enterica* sering kali termasuk jenis ini. Yang tingkat penyebarannya paling tinggi adalah CRO-M-2, CRO-M-3, dan CRO-M-14. Sebaliknya, *E. coli* adalah sumber utama CRO-M-15.
2. *ESBL* di kelas B. Enzim yang juga dikenal sebagai metalo-laktamase sangat berbahaya.
3. *ESBL* di kelas C. Juga dikenal sebagai Enzim AmpC yang dimediasi oleh plasmid. Jenis ini tahan terhadap bakteri gram negatif dan bertanggung jawab atas perluasan spektrum sefalosporin. AmpC beta

laktamase memiliki kemampuan untuk menonaktifkan sefamisin dan tidak dihambat oleh penghambat beta laktam, seperti asam klavulanat, yang membedakannya dari bentuk ESBL lainnya.

4. ESBL Kelas D. beta laktamase tipe OXA. Varietas ini dibedakan berdasarkan aktivitas hidrolitik tingkat tinggi dan penghambatan *asam klavulanat* yang rendah. Yang paling sering terdeteksi di Perancis dan Turki adalah *Pseudomonas aeruginosa*.

Terdapat beberapa metode untuk mendeteksi ESBL, yaitu:(Thenmozhi et al., 2014; Lewis & Allen, 2001):

#### 2.17. Identifikasi Bakteri Metode Kultur Agar MacConkey

Agar MacConkey dikembangkan pada awal tahun 1900an oleh Alfred Theodore MacConkey, asisten ahli bakteriologi di Liverpool Universal Laboratory di Inggris. Agar MacConkey merupakan media pertumbuhan mikroorganisme spesifik pada bakteri Gram negatif dan memiliki kemampuan untuk membedakan bakteri Gram negatif berdasarkan metabolisme laktosa. Koloni bakteri yang dapat memfermentasi laktosa berwarna merah atau merah muda, sedangkan koloni yang bening atau tidak berwarna menunjukkan tidak dapat memfermentasi laktosa.(Jung & Hoilat, 2022; Allen, 2013)

*Enterobacteriaceae* dan *Pseudomonas* adalah mikroorganisme batang gram negatif *non-fastidious* yang dapat diisolasi menggunakan medium agar MacConkey. Bakteri gram positif dan gram negatif, termasuk *Pasteurella* dan *Neisseria*, tidak dapat tumbuh dengan cepat di media

karena adanya kristal violet dan garam empedu di dalamnya. Sebaliknya, bakteri Gram negatif dapat berkembang biak di MacConkey karena dinding selnya yang tahan garam empedu. PH medium turun ( $\text{pH} < 6,8$ ) ketika laktosa difermentasi oleh bakteri. PH akan turun dan bakteri akan menyerap warna merah netral, memberikan warna merah muda kemerahan pada koloni. Bakteri fermentasi yang mampu memfermentasi laktosa dengan kuat menghasilkan asam dan mengendapkan garam empedu (koloni akan tampak berwarna merah muda). Lingkaran merah muda tidak akan terbentuk di sekitar koloni; sebaliknya, bakteri dengan fermentasi laktosa yang buruk akan tumbuh pada agar MacConkey berwarna merah muda. (Allen, 2013) Strain MacConkey dari *E. Coli* memiliki karakteristik yang bentuknya yang bulat, ukurannya yang kecil, warnanya yang merah, tepinya rata, permukaannya cembung dengan ketinggian semi-mukoid kering, dan fermentasi laktosa. *E. Coli* enteroinvasif (EIEC) adalah *E. Coli* O124, yang tidak mencerna laktosa dan menyebabkan diare mirip dengan Shigellosis atau disentri. Morfologi koloni *Enterobacteria* dan *Klebsiella spp.* adalah peningkatan mukoid (koloni lengket/basah). *Salmonella*, *Proteus*, *Yersinia*, dan *Pseudomonas* termasuk mikroorganisme yang tidak mampu mencerna laktosa tanpa menyebabkan perubahan pH sehingga menghasilkan koloni berwarna putih atau tidak berwarna. (Jung & Hoilat, 2022; Rahayu et al., 2018) Berikut ini daftar komposisi Agar MacConkey:

Tabel 9. Komposisi Media MacConkey.(Allen, 2013)

Komposisi Agar MacConkey	
<i>Peptone</i>	17.0 g
<i>Proteose peptone atau Polypeptone</i>	3.0 g
<i>Lactose</i>	10.0 g
<i>NaCl</i>	5.0 g
<i>Crystal Violet</i>	1.0 g
<i>Neutral Red</i>	30.0 g
<i>Bile Salts</i>	1.5 g
<i>Agar</i>	13.5 g
<i>Distilled Water</i>	Tambahkan sampai 1 L

---

Sesuaikan pH menjadi 7.1 +/- 0.2. Panaskan untuk melarutkan agar.

Sterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit.

---





Gambar 5. Koloni *E. coli* pada media agar MacConkey.(Allen, 2013)

## 2.17 Konfirmasi ESBL

### 2.17.1 Metode Double Disk Synergy Test (DDST)

Metode ini pertama kali diperkenalkan pada tahun 1988 oleh Jarlier dkk. Ditemukan menggunakan media Mueller-Hinton Agar (MHA). Screening dengan metode uji sinergi double disc memiliki tingkat kesulitan yang minim serta menggunakan alat dan bahan yang relatif sederhana. DDST merupakan metode yang dapat mendeteksi ESBL nya, namun metode sinergi double disk mempunyai sensitivitas yang sangat baik sekitar 79% hingga 96%. Kurangnya sensitivitas ini disebabkan oleh fakta bahwa DDST bukanlah prosedur standar. (Lewis & Allen, 2001; Rupp et al., 2003; Giriapur et al., 2011)

Asam klavulanat mempunyai kemampuan menghambat ESBL kelas A. Menguji bakteri yang dicurigai dengan antibiotik golongan *cephalosporin* generasi ketiga baik dosis tunggal maupun bersama dengan asam klavulanat dapat mengidentifikasi hal ini. Jika hasil dari kombinasi tersebut menghasilkan zona inhibisi yang lebih luas dibandingkan dengan antibiotik sefalosporin generasi ketiga dosis tunggal,

maka hal tersebut menunjukkan hasil positif terhadap ESBL. (Manual, 2005)

Teknik Double Disk Synergy Test (DDST), yang menggunakan disk antibiotik untuk memberikan kategori kualitatif dengan evaluasi sensitivitas, menengah, dan resisten, dapat digunakan untuk melakukan tes konfirmasi *E. coli* ESBL. (OXOID, Basingstoke, United Kingdom). (Vinet & Zhedanov, 2011) Media Mueller Hinton Agar (MHA) permukaannya dioles seluruhnya dengan isolat *E. Coli* setelah permukaannya digosok secara hati-hati dalam cawan petri. Setelah itu, *paper disk* yang mengandung antibiotik dimasukkan ke dalam MHA dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C. Interpretasi data menggunakan pengukuran diameter zona hambat yang direkomendasikan oleh *Clinical and Laboratory Standards Institute*. (Giriapur et al., 2011; Manual, 2005)

Cefpodoxime dan ceftazidime menunjukkan sensitivitas terbesar untuk mendeteksi ESBL. Penggunaan lebih dari satu antibiotik, seperti ceftazidime, cefotaxime, ceftriaxone, aztreonam dan cefpodoxime, secara signifikan meningkatkan sensitivitas deteksi ESBL. (Ruh et al., 2019; Numanovic et al., 2013; Vinet & Zhedanov, 2011)

Medium yang digunakan pada metode DDST dapat berupa disk difusi Mueller-Hinton agar (MHA), medium *broth* berupa pengenceran agar yang ditambahkan kaldu Mueller-Hinton (CAMHB). Metode pertumbuhan atau suspensi koloni yang tumbuh setara dengan standar 0,5 McFarland. Media diinkubasi 35°C pada udara terbuka, metode disk difusi diperlukan waktu 24 jam sedangkan metode pengenceran 16 sampai 20 jam. Isolat kontrol

untuk *Escherichia coli* sesuai standar dari *American type culture collection* adalah tipe 25922 sedangkan pada *E. coli* penghasil  $\beta$ -lactam/ $\beta$  lactamase inhibitor menggunakan tipe 35218.(Giriyapur et al., 2011; Testing, 2013; Queenan et al., 2004; Tauran et al., 2018)

Jumlah disk difusi maksimal 12 disk pada pelat agar ukuran 150 mm dan 6 disk pada pelat agar ukuran 100 mm, disk harus ditempatkan tidak kurang dari 24 mm dari tengah ke tengah. Setiap diameter zona harus dapat diukur dengan jelas. Zona tumpang tindih menyebabkan pengukuran yang akurat. Pastikan diameter zona hambat sesuai, termasuk diameter disk. Pegang cawan Petri beberapa inci di atas latar belakang hitam yang diterangi dengan cahaya yang dipantulkan. Zona tepi harus dianggap sebagai area yang tidak menunjukkan pertumbuhan yang jelas dan zona yang terjadi pertumbuhan dapat dideteksi dengan mata telanjang. Abaikan pertumbuhan koloni kecil yang samar yang hanya dapat dideteksi dengan lensa pembesar di tepi zona pertumbuhan yang terhambat. Strain *Proteus* spp. dapat tumbuh berkelompok ke area zona terhambat di sekitar agen antimikroba tertentu. Abaikan selubung tipis kelompok *Proteus* spp. Pada zona inhibisi yang terbentuk dengan jelas. Dengan trimetoprim dan sulfonamida antagonis dalam medium memungkinkan sedikit pertumbuhan kelompok *Proteus* spp; oleh karena itu, abaikan sedikit pertumbuhan  $\leq 20\%$  dan ukur margin yang terlihat jelas untuk menentukan diameter zona.(Testing, 2013; Castanheira et al., 2021)

Regimen dosis amoxicillin-clavulanat 20/10 µg diperlukan untuk mencapai paparan obat plasma (pada orang dewasa dengan fungsi ginjal dan hati normal) yang menjadi dasar. Amoxicillin-klavulanat dikatakan resisten jika zona inhibisi berdiameter  $\leq 13$ mm, intermitten jika zona inhibisi dalam *range* 14-17mm dan sensitive jika zona inhibisi memiliki ukuran  $\geq 18$ mm. Regimen antibiotik yang digunakan untuk isolat *E. coli* yaitu Cefpodoxime 10µg, Ceftazidime 30µg, Aztreonam 30µg, Cefotaxime 30µg, Cefepime 30 µg atau Ceftriaxone 30 µg. Penggunaan lebih dari satu antibiotik meningkatkan tingkat sensitifitas pada saat mendeteksi kemungkinan ESBL. Hasil diameter pada zona antibiotik diindikasikan menghasilkan ESBL jika memiliki diameter zona Cefpodoxime  $\leq 17$ mm, Ceftazidime  $\leq 22$ mm, Aztreonam  $\leq 27$ mm, Cefotaxime  $\leq 27$ mm, Ceftriaxone  $\leq 25$ mm, Cefepime  $\leq 31$ mm dan jika antibiotik tersebut dikombinasikan dengan asam klavulanat maka akan terjadi peningkatan zona inhibisi sebanyak  $\geq 5$ mm. (Testing, 2013; Queenan et al., 2004; Castanheira et al., 2021)

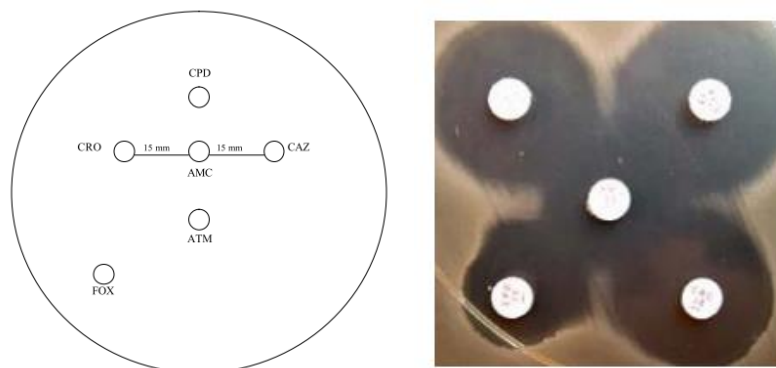
Cara Penyediaan DDST (Giriyapur et al., 2011; Manual, 2005; Testing, 2013):

1. Menyiapkan suspensi bakteri dari organisme yang akan diuji yang kekeruhannya sesuai standar 0,5 McFarland.
2. Inokulasi cawan petri Mueller-Hinton agar dengan suspensi tersebut sesuai dengan pedoman NCCLS M100-S10 (M2) untuk pengujian difusi cakram.

3. Meletakkan paper disk yang berisi amoxicillin- asam clavulanate pada posisi tengah cawan petri.
4. Menempatkan antibiotik lainnya dengan jarak 15mm dari tepi cawan petri dan jarak tiap antibiotik. Pastikan terbentuk sudut 90° antara amoxicillin- asam clavulanate dengan antibiotik lainnya.
5. Inkubasi 35 °C selama 18-24 jam dan catat diameter zona untuk semua sefalosporin sesuai dengan pedoman NCCLS.

Interpretasi(Numanovic et al., 2013; Manual, 2005):

1. Mendata semua ukuran zona pada antibiotik.
2. Mengobservasi potensi dari zona hambat (peningkatan zona hambat) dari salah satu antibiotik cefodoxime, cefotaxime atau cefepime Ketika dikombinasikan dengan asam klavulanat (catatlah apakah obat tersebut menghambat ESBL pada LIS).
3. *Escherichia coli* dianggap resisten terhadap cefodoxime disk 10 g jika zona inhibisi 17 mm. Cefotaxime 30 g jika zona hambat 27 mm dan Amoxicillin-klavulanat disk 20/10µg resisten jika zona inhibisi  $\leq 13$ mm.
4. Jika terjadi ukuran zona hambat yang minimal dari salah satu antibiotik cefodoxime, cefotaxime atau cefepime bila dikombinasikan dengan asam klavulanat yang telah diamati, maka ulangi pemeriksaan identifikasi isolat dan lakukan pengujian ulang.



Gambar 6 Cawan petri dan antibiotik.(Manual, 2005)

### 2.17.2 Tes metode Vitek 2 compact

Sistem otomatis untuk mengidentifikasi mikroorganisme yang menampilkan fenotipik isolat yang diselidiki dan dapat menilai kerentanan atau resistensi isolat terhadap antibiotik adalah teknik *Vitek 2 compact*. *Vitek 2 compact* mewakili metode yang sangat sensitive untuk mendeteksi ESBL pada isolat klinis namun dapat memberikan hasil yang tidak konsisten dalam antibiogram dan mengandalkan hasil yang telah diketahui mengenai mekanisme resistensi dari standar CLSI sehingga masih dibutuhkannya pemeriksaan metode *double disk synergi* untuk mengkonfirmasi. Produksi berlebihan TEM dan SHV - $\beta$  laktamase pada bakteri dengan ESBL juga dapat memberikan hasil negatif palsu pada uji konfirmasi fenotipik.(Numanovic et al., 2013; Vinet & Zhedanov, 2011; Testing, 2013)

Sistem mikrobiologi otomatis VITEK 2 memanfaatkan teknologi berbasis pertumbuhan. Tersedia tiga model sistem: *VITEK 2 compact*, *VITEK 2*, dan *VITEK 2 XL*. Format-format ini bervariasi dalam hal kapasitas dan otomatisasi. Gram Positif (GP), Gram Negatif (GN), Gram Positif (GP),

Jamur (YST), dan Gram positif batang pembentuk spora (BCL) adalah beberapa spesies yang dapat diidentifikasi menggunakan pendekatan ini. Dalam VITEK 2, proses biokimia, konsumsi karbon substrat, dan aktivitas enzim diukur menggunakan kartu reagen kolorimetri yang diinterpretasikan secara otomatis. (Pincus, 2010).



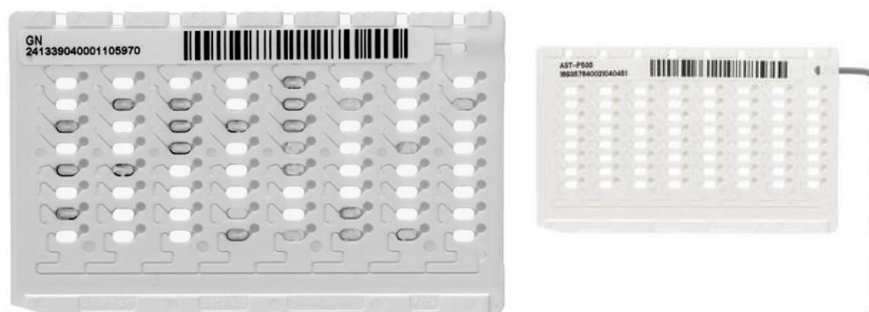
Gambar 7 VITEK 2 Compact Instrument dan Workstation. (Pincus, 2010)

Terdapat 64 lubang pada kartu reagen, dan substrat dapat masuk ke dalam masing-masing lubang. Substrat ini digunakan untuk mengukur proses metabolisme seperti pertumbuhan dengan adanya inhibitor, pengasaman, alkalinisasi, dan hidrolisis enzim. Setiap kartu memiliki tabung transfer inokulasi. *Bar codes* pada kartu dapat dihubungkan sebelum atau setelah kartu dimasukkan ke dalam sistem. Kode-kode ini memberikan informasi tentang jenis produk, nomor, tanggal kedaluwarsa, dan identifikasi sampel. (Pincus, 2010)



Gambar 8 Kaset Kompak VITEK 2 Berisi 10 Kartu dan Tabung Suspensi dan Pemindai Kode Batang untuk Entri Data. (Pincus, 2010)

Berdasarkan hasil pewarnaan Gram pada isolat bakteri, kartu dipilih untuk digunakan dalam uji identifikasi bakteri. Bakteri aerob Gram positif, seperti kokus dan batang tanpa spora, ditangani oleh kartu GP, sedangkan bakteri aerob Gram negatif, seperti terlihat pada Gambar 9, ditangani oleh kartu GN. *Corynebacterium sp.* dan mikroba anaerobik diidentifikasi menggunakan kartu ANC. Bakteri Gram positif pembentuk spora diidentifikasi menggunakan kartu BCL. VITEK 2 menggunakan dua kartu untuk setiap pemeriksaan: satu untuk identifikasi bakteri dan yang lainnya untuk tes sensitivitas antibiotik. (Pincus, 2010; Tauran et al., 2018)



Gambar 9 Kartu Identifikasi Kolorimetri VITEK 2 GN dan VITEK 2 AST. (Pincus, 2010)

Botol kultur BacT/ALERT FA Plus digunakan oleh VITEK 2 untuk membudidayakan bakteri anaerobik dan aerob, serta jamur. Keberadaan mikroorganisme ditemukan dengan metode kolorimetri dan refleksi cahaya. Karbon dioksida (CO<sub>2</sub>) diproduksi oleh bakteri yang sedang tumbuh sebagai hasil metabolisme substrat. 30 mL medium kompleks dan 1,6 g *adsorbent polymeric bead* membentuk BacT/Alert FA Plus. Netralisasi antibiotik merupakan penggunaan yang berguna untuk *adsorbent polymeric*



*bead*. Penisilin, glisilsiklin, poliena, makrolida, triazol, echinocandins, cefazolin, cefoxitin, ceftraxone, aminoglikosida, fluoroquinolones, lincosamide, glikopeptida, dan oksazolidinon termasuk di antara antibiotik yang dapat dinetralkan menggunakan *adsorbent polymeric bead*. Meskipun *ceftazidime* dan *cefepime* tidak dapat dinetralkan, *cefotaxime* dan *ceftriaxone* dapat dinetralkan. (Pincus, 2010; Tauran et al., 2018)

Lapisan optik yang menyalurkan oksigen dan menghentikan pencampuran media ada di setiap kartu. Dengan menggunakan ruang hampa, suspensi mikroorganisme ditambahkan ke kartu identitas untuk inokulasi. Setelah tabung berisi suspensi mikroorganisme dimasukkan ke dalam rak yang telah ditentukan dan kartu identitas ditempatkan pada slot yang berdekatan, tabung suspensi diisi dengan tabung transfer. Sumur kartu akan secara otomatis mengaspirasi suspensi bakteri. Maksimum 15 tes dapat ditampung dalam kaset. Menggunakan respon uji biokimia yang memakan waktu sekitar 15 menit, identifikasi bakteri dievaluasi secara visual. (Pincus, 2010)

Kartu identifikasi Gram-negatif VITEK 2 (GN) menggunakan aktivitas enzim, konsumsi karbon, dan aktivitas biokimia untuk secara otomatis mengidentifikasi bakteri Gram-negatif *non fastidious* yang memfermentasi atau tidak memfermentasi laktosa. Terdapat 47 tes biokimia dan 1 kontrol negatif pada kartu GN. Temuan identifikasi bakteri akan selesai dalam waktu kurang dari sepuluh jam. (Pincus, 2010)

Biopattern yang tidak diketahui dibandingkan dengan database

respons untuk setiap takson dan perhitungan probabilitas numerik dilakukan. Tingkat identifikasi kualitatif yang berbeda ditetapkan berdasarkan perhitungan probabilitas numerik. Tingkat yang berbeda dan informasi terkait ditunjukkan pada tabel 10.(Pincus, 2010)

Tabel 10 Tingkat Identifikasi.(Pincus, 2010)

ID Message Confidence Level	Choices	% Probability	Comments
Excellent	1	96 to 99	N/A
Very Good	1	93 to 95	N/A
Good	1	89 to 92	N/A
Acceptable	1	85 to 88	N/A
Low Discrimination	2 to 3	Sum of choices = 100; after resolution to one choice, percent probability reflects the number associated with the selected choice.	2 to 3 taxa exhibit the same biopattern. Separate by supplemental testing.
Unidentified Organism	> 3 or 0	N/A	Either > 3 taxa exhibit the same biopattern or Very atypical biopattern. Does not correspond to any taxon in the database. Check Gram stain and purity.

### 2.17.3 Kartu GN

Kartu GN digunakan untuk mengidentifikasi otomatis 135 taksa dari basil Gram negatif fermentasi dan non-fermentasi yang paling signifikan. Daftar spesies yang diklaim ditunjukkan pada tabel 11 dan catatan informasi yang muncul dengan taksa tertentu ditunjukkan pada tabel 12.(Pincus, 2010)

Tabel 11 Tingkat Identifikasi.(Pincus, 2010)

<b>Enterobacteriaceae</b>	<b>Non-Enterobacteriaceae</b>
<i>Buttiauxella agretis</i>	<i>Achromobacter xylosoxidans</i> ssp. <i>dentrificans</i>
<i>Cedecea daviase</i>	<i>Achromobacter xylosoxidans</i> ssp. <i>xylosoxidans</i>
<i>Cedecea lapagei</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	<i>Acinetobacter haemolyticus</i>
<i>Citrobacter braakii</i>	<i>Acinetobacter junii</i>
<i>Citrobacter farmeri</i>	<i>Acinetobacter lwoffii</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Actinobacillus ureae</i>
<i>Citrobacter koseri</i>	<i>Aeromonas hydrophila/Aeromonas</i> <i>caviae</i>
<i>Citrobacter sedlakii</i>	<i>Aeromonas salmonicida</i>
<i>Citrobacter youngae</i>	<i>Aeromonas sobria</i>
<i>Edwardsiella hoshinae</i>	<i>Aeromonas veronii</i>
<i>Edwardsiella tarda</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i> ssp. <i>faecalis</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Bordetella bronchiseptica</i>
<i>Enterobacter amnigenus 1</i>	<i>Bordetella trematum</i>
<i>Enterobacter amnigenus 2</i>	<i>Brevundimonas diminuta/ vesicularis</i>
<i>Enterobacter asburiae</i>	<i>Brucella melitensis</i>
<i>Enterobacter cancerogenus</i>	<i>Budvicia aquatica</i>

<b>Enterobacteriaceae</b>	<b>Non-Enterobacteriaceae</b>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Burkholderia cepacia</i> group
<i>Enterobacter gergoviae</i>	<i>Burkholderia gladioli</i>
<i>Enterobacter intermedius</i>	<i>Burkholderia mallei</i>
<i>Enterobacter sakazakii</i>	<i>Burkholderia pseudomallei</i>
<i>Escherichia coli</i>	CDC group EF-4 ( <i>Pasteurella</i> )
<i>Escherichiae coli</i> O157	CDC group EO-2 ( <i>Psychrobacter</i> )
<i>Escherichiae fergusonii</i>	<i>Chromobacterium violaceum</i>
<i>Escherichiae hermannii</i>	<i>Chryseobacterium gleum</i>
<i>Escherichiae vulneris</i>	<i>Chryseobacterium indologenes</i>
<i>Ewingella americana</i>	<i>Chryseobacterium meningosepticum</i>
<i>Hafnia alvei</i>	<i>Comamonas testosteroni</i>
<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Delftia acidovorans</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ssp. <i>ozaenae</i>	<i>Francisella tularensis</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ssp. <i>pneumoniae</i>	<i>Mannheimia haemolytica</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ssp. <i>rhinoscleromatis</i>	<i>Methylobacterium</i> spp.
<i>Kluyvera ascorbata</i>	<i>Moraxella</i> group
<i>Kluyvera cryocrescens</i>	<i>Myroides</i> spp.
<i>Leclercia adecarboxylata</i>	<i>Ochrobactrum anthropi</i>

Enterobacteriaceae	Non-Enterobacteriaceae
<i>Moellerella wisconsensis</i>	<i>Oligella ureolytica</i>
<i>Morganella morganii</i> ssp. <i>morganii</i>	<i>Pasteurella aerogenes</i>
<i>Morganella morganii</i> ssp. <i>sibonii</i>	<i>Pasteurella multocida</i>
<i>Pantoea agglomerans</i>	<i>Pasteurella pneumotropica</i>
<i>Pantoea</i> spp.	<i>Photobacterium damsela</i>
<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
<i>Proteus vulgaris</i> group/ <i>Proteus penneri</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Providencia alcalifaciens</i>	<i>Pseudomonas alcaligenes</i>
<i>Providencia rettgeri</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Providencia rustigianii</i>	<i>Pseudomonas luteola</i>
<i>Providencia stuartii</i>	<i>Pseudomonas mendocina</i>
<i>Rahnella aquatilis</i>	<i>Pseudomonas oryzae</i>
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>
<i>Salmonella choleraesuis</i> ssp. <i>arizonae</i>	<i>Pseudomonas putida</i>
<i>Salmonella</i> group	<i>Pseudomonas stutzeri</i>
<i>Salmonella</i> ser. <i>Gallinarum</i>	<i>Ralstonia mannitolilytica</i>
<i>Salmonella</i> ser. <i>Paratyphi A</i>	<i>Ralstonia paucula</i>
<i>Salmonella typhi</i>	<i>Ralstonia pickettii</i>

Enterobacteriaceae	Non-Enterobacteriaceae
<i>Serratia ficaria</i>	<i>Rhizobium radiobacter</i>
<i>Serratia fonticola</i>	<i>Shewanella putrefaciens</i>
<i>Serratia liquefaciens</i> group	<i>Sphingobacterium multivorum</i>
<i>Serratia marcescens</i>	<i>Sphingobacterium spiritivorum</i>
<i>Serratia odorifera</i>	<i>Sphingobacterium thalpophilum</i>
<i>Serratia plymuthica</i>	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>
<i>Serratia rubidaea</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Shigella</i> group	<i>Vibrio alginolyticus</i>
<i>Shigella sonnei</i>	<i>Vibrio cholerae</i>
<i>Yersinia enterocolitica</i> group	<i>Vibrio fluvialis</i>
<i>Yersinia pestis</i>	<i>Vibrio hollisae</i>
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	<i>Vibrio metschnikovii</i>
<i>Yersinia ruckeri</i>	<i>Vibrio mimicus</i>
<i>Yokenella regensburgei</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
	<i>Vibrio vulnificus</i>

Tabel 12 Catatan Terkait dengan Taksa GN Tertentu. (Pincus, 2010)

Note	Taxa
Confirm by serological tests	<i>Escherichia coli</i> O157 <i>Francisella tularensis</i> <i>Salmonella</i> group <i>Salmonella</i> ser. <i>Gallinarum</i> <i>Salmonella</i> ser. <i>Paratyphi</i> A <i>Salmonella typhi</i> <i>Shigella</i> group <i>Shigella sonnei</i>
Highly pathogenic organism	<i>Brucella melitensis</i> <i>Burkholderia mallei</i> <i>Burkholderia pseudomallei</i> <i>Escherichia coli</i> O157 <i>Francisella tularensis</i> <i>Vibrio cholerae</i> <i>Yersinia pestis</i>

Basis data sifat mikroba akan dibandingkan dengan respon biokimia mikroorganisme yang diteliti. Jika pola identifikasi yang berbeda tidak diketahui, tabel mikroorganisme potensial akan ditampilkan. Jika pengujian lebih lanjut diperlukan, maka akan direkomendasikan pada lembar hasil. Hasil dalam persentase kemungkinan akan disediakan oleh program. 99% sampai 96% dianggap sangat baik, 93% sampai 95% dianggap sangat baik, 89% sampai 92% dianggap baik, dan 85% sampai 88% dianggap dapat diterima. Keberadaan dua hingga tiga taksa dengan pola yang sama dianggap diskriminasi rendah, dan lebih dari tiga taksa dianggap Organisme Tak Dikenal. (Pincus, 2010)

#### **2.17.4 Alur Kerja Penggunaan Vitek 2 Compact.**

Hanya dengan tiga tahap pemeriksaan, teknologi terkini Vitek 2 compact semakin mudah digunakan. Hasil identifikasi dan sensitivitas antibiotik dapat diperoleh dengan mudah, serta telah divalidasi dan diinterpretasikan sesuai dengan bakuan (standar) internasional dikenal dengan nama CLSI. Kartu *Vitek 2 compact* berisi tes ESBL yang memantau kerentanan *Escherichia coli* dan spesies *Klebsiella* untuk cefepime, ceftazidime dan cefotaxime tunggal maupun saat dikombinasikan dengan asam klavulanat. (Numanovic et al., 2013; Testing, 2013; Pincus, 2010; Prihatini, Aryati, 2007)

Tiga langkah tersebut adalah: pemasukan data melalui sistem barcode, penyisipan kartu ke dalam alat (instrumen), dan penyiapan dan standardisasi kekeruhan inokulum (standardisasi). Selain itu, program akan

melakukan semua hal berikut secara otomatis: penanaman (inokulasi), pemasakan (inkubasi), pembacaan, validasi (validasi), dan interpretasi (interpretasi) data. Bahkan ujian yang sudah selesai dapat secara otomatis mencetak temuannya, dan sistem akan segera membuang kartu ID/AST (*Identification/Antimicrobial Sensitivity Test*) ke tempat sampah. Selain itu, terdapat hubungan langsung (linking) antara temuan pemeriksaan dengan *Laboratory Information System* (LIS). Tidak ada bahan kimia lebih lanjut yang diperlukan, selain larutan garam steril dan kartu *Vitek 2 compact*. (Prihatini, Aryati, 2007)

### **Antimicroba Sensitivity Test (AST)**

Kartu AST adalah untuk menguji kerentanan antimikroba dan deteksi resistensi yang cepat dan akurat pada bakteri dan ragi yang relevan secara klinis dengan kartu uji sekali pakai yang lengkap untuk digunakan dengan instrumen VITEK 2. Deteksi resistensi yang cepat untuk membantu diagnosis yang akurat dan perawatan yang cepat dan efektif. Kartu AST mengandung antimikroba terliofilisasi sehingga menghasilkan data secara otomatis sesuai dengan data Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI). (Pincus, 2010; Negativos et al., n.d. ;Diorio de Souza et al., 2021)

Ketika seorang pasien datang dengan penyakit karena organisme menular, mengetahui pilihan pengobatan terbaik membutuhkan lebih dari identifikasi spesies, terutama karena banyak organisme menjadi resisten terhadap antimikroba. Pengujian Kerentanan Antimikroba (AST) dan



deteksi resistensi juga penting untuk membuat keputusan perawatan pasien terbaik.

Kartu AST memberikan hasil deteksi resistensi untuk kokus Gram-positif yang penting secara klinis, basil dan ragi Gram-negatif. Sistem ini terbukti cepat dan akurat. Hasil AST bakteri tersedia dalam waktu 4 jam dan hasil AST ragi hanya dalam 13 jam. Rangkaian kartu VITEK 2 AST menawarkan sejumlah antimikroba dan tes resistensi (ESBL, cefoxitin, resistensi aminoglikosida tingkat tinggi, resistensi klinidamisin yang dapat diinduksi, dll). Kartu AST VITEK 2 ditawarkan untuk berbagai organisme: *Enterobacteriaceae*, Non-fermenter, *Staphylococci*, *Enterococci*, *Streptococci* (termasuk *S. pneumoniae*, *S. viridans* dan *Streptococci* beta-hemolitik), *Yeast*. Pengujian antibiotik pada ESBL yaitu Cefepime (FEP), Cefotaxime (CRO), Ceftazidime (CAZ), dan Asam klavulanat (CA). Untuk galur positif ESBL, interpretasi tes harus dilaporkan sebagai resisten terhadap semua penisilin, sefalosporin, ceftazidime, cefepime, cefotaxime dan aztreonam baik dikombinasikan dengan asam klavulanat maupun tidak. (Pincus, 2010; Negativos et al., n.d. ; Diorio de Souza et al., 2021)

## **2.18 Sumber-Sumber Kesalahan Pada Tahap Pra Analitik, Analitik Dan Pasca Analitik**

Asal muasal kesalahan yang sering terjadi di laboratorium klinik ditampilkan pada bagian ini. Di laboratorium, prosedur evaluasi sampel dimulai dari tahap pra, analitis, dan pasca analisis. Setiap tahapan proses perlu dilakukan dengan benar dan sesuai dengan standar operasional

prosedur (SOP) agar dapat menghasilkan temuan pemeriksaan laboratorium yang akurat dan berkualitas. Mulai dari menyiapkan pasien untuk pengumpulan sampel yang representatif hingga pengumpulan, pemrosesan, pengiriman, dan analisis sampel hingga memberikan temuan pemeriksaan pasien kepada dokter. Selalu ada potensi kesalahan terjadi pada setiap langkah, termasuk pada tahap pra, analitis, dan pasca analitis. Kesalahan dapat diklasifikasikan menjadi dua kategori: teknis dan non-teknis. Ada dua kategori kesalahan dalam rekayasa: kesalahan acak dan kesalahan sistematis. (*Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medik (TLM) Kendali Mutu*, 2018)

Kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi telah membawa banyak inovasi pada laboratorium klinik. Banyak metode manual telah diotomatisasi untuk memberikan hasil tes yang cepat dan akurat. Namun laboratorium tidak lepas dari dokter yang membutuhkan hasil tes untuk memastikan diagnosis pasien. Upaya memperoleh hasil pengujian yang dapat diandalkan pada tahap analisis harus disertai dengan langkah praanalisis dan pascaanalisis yang benar. Prosedur yang tepat juga sama pentingnya selama tahap pra-analisis dan pasca-analisis, ketika sampel disiapkan, dikumpulkan, dan diproses (pra-analisis) dan setelah sampel dianalisis di laboratorium (pasca-analitis). Hal ini sangat berkontribusi terhadap keandalan hasil tes. Pada tahapan apapun, selalu ada potensi terjadinya kesalahan, baik yang tidak dapat dihindari maupun yang sulit untuk diperbaiki. Tahap praanalitis mempunyai jumlah kesalahan yang paling

besar, yakni bisa mencapai 68%. Sedangkan error pada tahap analisis sekitar 13%, dan error pada tahap pasca analisis sekitar 19%.(Usman et al., 2015)

Kesalahan teknis pada reagen, peralatan, bahan kontrol, teknik pemeriksaan, dan pekerja Ahli Teknologi Laboratorium Medis (ATLM) sering dijumpai pada tahap analisis. Kesalahan ini, yang mungkin terjadi secara acak dan sistematis, sering kali terjadi selama proses inspeksi. Fase pra dan pasca analitis merupakan tempat umum terjadinya kesalahan non-teknis. Kesalahan dalam administrasi, persiapan pasien, pengumpulan spesimen, dan penanganan spesimen muncul sepanjang fase pra-analisis. Kesalahan sering muncul pada langkah pasca analitis pada saat perhitungan dan penulisan hasil, jika perhitungan masih dilakukan secara manual.(*Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medik (TLM) Kendali Mutu*, 2018; *Pedoman Praktik Laboratorium Kesehatan Yang Benar (Good Laboratory Practice)*, 2008)

### **2.18.1 Kesalahan Teknik**

Menganalisis sampel pasien di laboratorium klinis pada dasarnya memerlukan penghitungan analit yang ada dalam sampel menggunakan berbagai alat dan teknik untuk memastikan kadar analit. Misalnya, kadar glukosa darah, protein darah, lemak darah, dan lainnya diukur dengan menganalisis komposisi biokimia darah. Proses penghitungan sel darah meliputi penghitungan jumlah trombosit, leukosit (sel darah putih), eritrosit

(sel darah merah), hemoglobin (sel darah hitam), dan komponen darah lainnya. Ini juga melibatkan penghitungan jumlah antibodi atau antigen (titer) dalam darah. fisik seseorang. (*Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medik (TLM) Kendali Mutu*, 2018)

Kesalahan teknis merupakan kesalahan yang bersifat melekat, wajar, selalu ada dalam setiap pemeriksaan, dan seolah-olah tidak dapat dihindari. Upaya perbaikan hanya dapat mengurangi kesalahan, bukan menghilangkannya. Misalnya kesalahan pengaturan panjang gelombang fotometer, kesalahan pengaturan suhu akuarium, kesalahan pengenceran larutan standar, dan sebagainya. Kesalahan teknis atau analitis yang terjadi di laboratorium umumnya dipengaruhi oleh beberapa faktor berikut: (*Pedoman Praktik Laboratorium Kesehatan Yang Benar (Good Laboratory Practice)*, 2008)

1. Bahan kimia (reagents)
2. Alat (instruments)
3. Kontrol & bakuan (control & standard)
4. Pendekatan analitis (analytical method)
5. Ahli Teknologi (Technologist)

### **2.18.2 Reagen**

Bahan kimia yang disebut reagen digunakan dalam reaksi untuk mengukur, mendeteksi, mengamati, dan membuat bahan kimia lainnya. Itu dipisahkan menjadi dua kategori berdasarkan proses

pembuatannya:(Pedoman Praktik Laboratorium Kesehatan Yang Benar (Good Laboratory Practice), 2008)

1) Reagen jadi (reagen komersial)

Reagen komersial yaitu reagen yang dibuat oleh pabrik, reagen ini direkomendasikan sebagai pilihan utama. Jika tidak ada reagen komersial, maka diperbolehkan menggunakan reagen buatan sendiri.

2) Reagen buatan sendiri

Manfaat menggunakan reagen buatan sendiri:

- Dapat disiapkan segar untuk mencegah penundaan dan kerusakan akibat penyimpanan dan transit.
- Pengawet tidak harus digunakan
- Penyelesaian masalah lebih mudah karena proses produksinya sudah diketahui dengan baik.
- Dapat langsung membuat reagen meskipun reagen tersebut tercemar atau rusak. Tidak perlu menunggu reagen dikirimkan.
- Penghematan dari segi biaya.

Kerugian reagen buatan sendiri:

- Sulit dilakukan standarisasi.
- Tidak melalui uji Quality Control (QC).
- Stabilitasnya tidak dapat ditentukan.

### 2.18.3 Peralatan (*instruments*)

Setiap perangkat harus disertai dengan petunjuk penggunaan (petunjuk pengoperasian) yang diberikan oleh produsen perangkat. Manual

instruksi umumnya mencakup instruksi pengoperasian dan tindakan pencegahan. Penggunaan/pengoperasian setiap jenis peralatan laboratorium harus dijelaskan dalam instruksi kerja. Setiap perangkat harus dirawat sesuai petunjuk penggunaan untuk memastikan kondisinya optimal, berfungsi dengan baik dan tidak menimbulkan kerusakan. Tugas pemeliharaan harus dilakukan secara teratur. (Pedoman Praktik Laboratorium Kesehatan Yang Benar (Good Laboratory Practice), 2008)

#### **2.18.4 Kontrol dan Bakuan (*Control and Standard*)**

Bahan kontrol adalah bahan yang digunakan untuk mengawasi mutu hasil pemeriksaan harian atau ketepatan pemeriksaan laboratorium. Spesifikasi bahan kontrol: (Pedoman Praktik Laboratorium Kesehatan Yang Benar (Good Laboratory Practice), 2008)

- a. Harus tersusun persis seperti spesimen. Misalnya bahan atau bahan pengontrol urin yang menyerupai urin digunakan untuk pemeriksaan urin, sedangkan bahan atau bahan pengontrol darah yang menyerupai darah digunakan untuk pemeriksaan darah.
- b. Perlu stabil. Komponen penyusun bahan kontrol harus stabil, artinya tidak boleh berubah hingga akhir masa penyimpanan.
- c. Memiliki sertifikat analitis yang dikeluarkan pabrikan.

#### **2.18.5 Metode analitik (*Analytical Method*)**

Temuan laboratorium yang akurat kini dapat diperoleh dengan lebih cepat dan mudah berkat kemajuan teknologi otomasi dan informasi di

bidang laboratorium. (*Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medik (TLM) Kendali Mutu*, 2018)

#### **2.18.6 Ahli Teknologi (*Technologist*)**

Seorang Ahli Teknologi Laboratorium Medik (ATLM) harus mempunyai kompetensi karena salah satu tugas dan kewajibannya adalah memberikan temuan laboratorium. Kesalahan teknis, yang juga dikenal sebagai kesalahan analitis di laboratorium, dapat dibagi menjadi dua kategori: kesalahan acak (juga dikenal sebagai kesalahan acak) dan kesalahan sistematis (juga dikenal sebagai kesalahan sistematis). (*Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medik (TLM) Kendali Mutu*, 2018)

##### **a. Kesalahan Acak (Random Error)**

Kesalahan acak disebabkan oleh faktor-faktor yang secara acak mempengaruhi proses pengukuran. Kesalahan ini disebabkan oleh variasi acak dan dapat terjadi di luar kendali orang yang melakukan pengukuran. Kesalahan jenis ini menunjukkan tingkat ketelitian (presisi) pengujian. Kesalahan ini terjadi ketika sampel yang sama diuji berulang kali dan hasilnya mungkin lebih besar atau lebih kecil dari yang diharapkan. Hasil pengukuran berulang tersebut didistribusikan di sekitar nilai sebenarnya dan mengikuti distribusi normal (Gaussian). Sumber kesalahan acak ini sebenarnya dapat dikurangi dengan melakukan sejumlah pengukuran berulang. Kesalahan acak dapat ditentukan dengan menggunakan metode statistik. Kesalahan ini merupakan kesalahan pola tidak beraturan. Kesalahan ini disebabkan oleh ketidakstabilan penangas air, reagen, pipet,

dll. Kesalahan ini berkaitan dengan ketelitian/presisi. Kesalahan acak dalam analisis sering kali disebabkan oleh:(Pedoman Praktik Laboratorium Kesehatan Yang Benar (Good Laboratory Practice), 2008)

1. Instrumen yang tidak stabil
2. Variasi temperatur, variasi reagen dan kalibrasi
3. Variasi teknik pada prosedur pemeriksaan (pipetasi, pencampuran, waktu inkubasi)
4. Variasi operator/analisis Selain beberapa hal tersebut, ada penyebab lain yang dapat menyebabkan kesalahan acak seperti fluktuasi tegangan listrik dan kondisi lingkungan.

b. Kesalahan Sistematis (Systematic error)

Beberapa variabel yang secara konsisten mempengaruhi temuan pengukuran dapat menyebabkan kesalahan sistemik. Kesalahan seperti ini menunjukkan tingkat akurasi dan presisi pemeriksaan. Sifat kesalahan ini menunjukkan satu arah. Temuan pemeriksaan secara konsisten lebih tinggi atau lebih rendah dari jumlah yang sebenarnya. Kesalahan sistematis ini mengikuti pola yang sama dan terus menerus. Masalah standar instrumentasi atau kalibrasi mungkin menjadi penyebabnya. Ketidakkuratan ini dapat menghasilkan angka-angka yang tetap atau dapat diantisipasi jika jumlahnya bervariasi. Hal ini terkait dengan kebenaran suatu teknik atau alat. Oleh karena itu, kesalahan sistematis akan menimbulkan bias pada data pengukuran. Bias positif dan negatif mungkin saja terjadi. Faktor-faktor berikut biasanya bertanggung jawab



atas kesalahan sistematis:(*Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medik (TLM) Kendali Mutu*, 2018)

1. Spesifitas reagen rendah (mutu rendah)
2. Kelemahan metode pemeriksaan
3. Blangko sampel dan blangko reagen kurang tepat (kurva kalibrasi tidak linier)
4. Mutu reagen kalibrasi kurang baik
5. Alat bantu (pipet) yang kurang akurat
6. Panjang gelombang yang dipakai
7. Salah cara melarutkan reagen

#### **2.18.7 Cara Mengatasi Kesalahan Teknik**

Kesalahan yang terjadi pada saat pemeriksaan laboratorium (langkah analitis) disebut kesalahan teknis. Dibandingkan dengan kesalahan sebelum dan sesudah analisis, kesalahan teknisnya paling rendah, namun tetap harus diatasi. Akan lebih mudah bagi laboratorium dengan peralatan otomatis yang terintegrasi dengan komputer untuk memantau kesalahan yang dilakukan selama prosedur inspeksi.(Usman et al., 2015)

#### **2.18.8 Kesalahan Non Teknik**

Kesalahan yang terjadi pada saat pemeriksaan laboratorium (langkah analitis) disebut kesalahan teknis. Dibandingkan dengan kesalahan sebelum dan sesudah analisis, kesalahan teknisnya paling rendah, namun tetap harus diatasi. Akan lebih mudah bagi laboratorium dengan peralatan otomatis yang terintegrasi dengan komputer untuk memantau kesalahan

yang dilakukan selama prosedur inspeksi.(Pedoman Praktik Laboratorium Kesehatan Yang Benar (Good Laboratory Practice), 2008)

#### **2.18.9 Kesalahan Tahap Pra Analitik**

Untuk mendapatkan spesimen yang dapat diterima untuk evaluasi, perlu mengikuti protokol yang sesuai selama langkah pra-analisis. Penting untuk mempertimbangkan keselamatan pasien saat mengumpulkan spesimen. Untuk dianalisis di laboratorium, spesimen harus memenuhi kriteria berikut:(Usman et al., 2015)

1. Jenisnya sesuai jenis pemeriksaan
2. Volumanya cukup
- 3.Keadaan sangat baik: tidak lisis, segar atau kadaluwarsa, tidak berubah bentuk dan warnanya, dan steril (untuk kultur kuman)
- 4.Penggunaan antikoagulan dan pengawet secara tepat
- 5.Ditampung dalam wadah yang memenuhi syarat
- 6.Identifikasi akurat berdasarkan informasi pasien

#### **2.18.10 Kesalahan Tahap Pasca analitik**

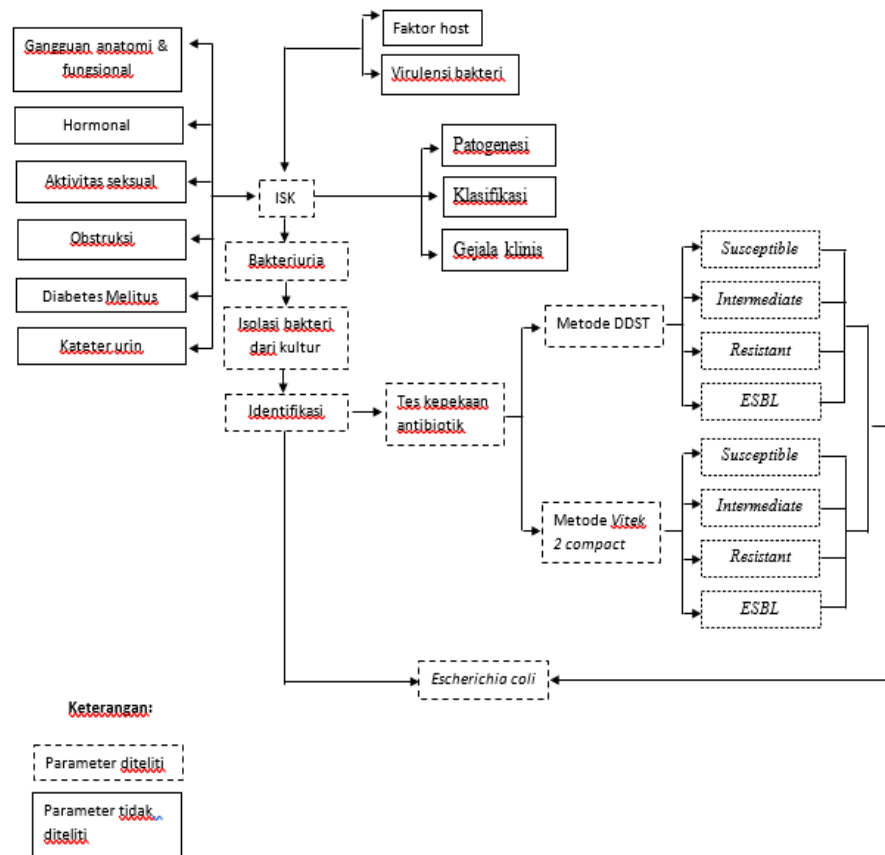
Langkah terakhir dalam rangkaian prosedur pengujian laboratorium adalah tahap pasca analitis. Kesalahan tahap pasca-analisis yang sedikit namun kadang-kadang krusial terjadi ketika kesalahan seperti menyajikan data yang salah, terlambat melaporkan, atau memberikan informasi waktu pengujian yang tidak akurat dapat menghambat penilaian klinis yang penting. Kesalahan pada tahap pasca analisis hanya 15% –20%, serupa dengan tahap analisis. Tingkat kesalahan ini tetap signifikan meskipun lebih

kecil dibandingkan tingkat kesalahan pada tahap pra-analitis.(Usman et al., 2015)

#### **2.18.11 Cara Mengatasi Kesalahan Non Teknik**

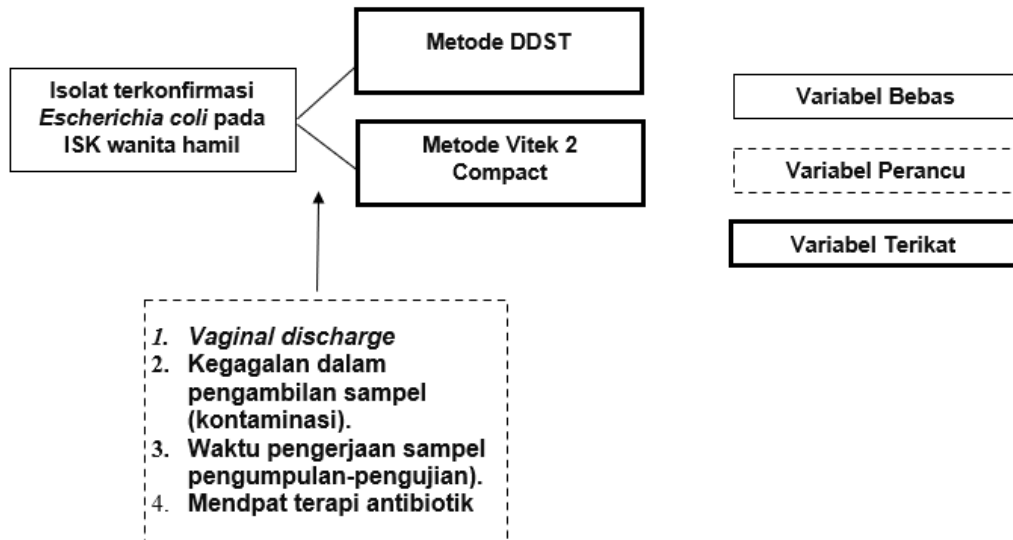
Secara teori, prosedur operasi standar (SOP) dalam setiap proses kegiatan, termasuk tahap pra dan pasca analitis, dapat dikuasai untuk mengatasi kesalahan non teknis. Faktor terbesar yang mempengaruhi temuan tes laboratorium selama tahap pra-analisis adalah kesalahan non-teknis, oleh karena itu manajemen pasien yang tepat sangatlah penting. Anda harus menolak spesimen apa pun yang rusak atau tidak sesuai untuk jenis pemeriksaan dan menggantinya dengan spesimen yang sesuai. Menyelesaikan tugas ini sangat penting untuk mendapatkan temuan uji laboratorium yang dapat diandalkan dan unggul yang dapat membantu jalannya pengobatan.(*Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medik (TLM) Kendali Mutu*, 2018)

## 2.19 Kerangka Teori



Gambar 10 Kerangka Teori.

## 2.20 Kerangka Konsep



Gambar 11 Kerangka Konsep.