

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Rumah sakit merupakan tempat penyebaran penyakit infeksi karena terdapat populasi mikroorganisme yang tinggi dan resisten terhadap antibiotik dan dapat ditularkan oleh pemberi pelayanan kesehatan (Agustina dan Syahrul, 2017). Infeksi yang didapat di rumah sakit atau infeksi nosokomial baik dalam bidang kedokteran hewan maupun kedokteran manusia dikaitkan dengan peningkatan angka kematian dan morbiditas, serta menjadi beban ekonomi karena meningkatnya biaya perawatan di rumah sakit dan pilihan pengobatan. Infeksi nosokomial yang paling banyak dilaporkan meliputi luka operasi, infeksi saluran kemih, dan infeksi gastrointestinal. Adapun contoh patogen yang sering ditemukan di rumah sakit hewan yaitu *Enterococcus* spp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus* spp., *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Acinetobacter* spp., dan *Pseudomonas* spp. (Sebola *et al.*, 2023). Oleh karena itu penting untuk dilakukan sterilisasi alat medis, khususnya alat bedah agar tidak terkontaminasi oleh patogen yang dapat menyebabkan infeksi sekunder.

Sterilisasi merupakan proses untuk membebaskan alat, bahan, atau media dari mikroorganisme patogen maupun non-patogen, baik dalam bentuk vegetatif maupun spora (Hanifah *et al.*, 2021). Pada praktik bedah khususnya penggunaan alat bedah minor seperti *scalpel*, gunting, *forceps*, *needle holder*, dan pinset (Diyaningsih, 2019). Sterilisasi menjadi langkah mendasar untuk mencegah *Surgical Site Infection* (SSI) yang termasuk dalam infeksi nosokomial. Infeksi nosokomial terjadi akibat praktik pencegahan infeksi yang tidak optimal dan dapat meningkatkan angka morbiditas, mortalitas, serta berkontribusi terhadap resistensi antibiotik. Meskipun begitu, alat bedah terus menjadi salah satu sumber SSI yang paling utama (Wulansari *et al.*, 2020). SSI pada prosedur bedah hewan kecil dilaporkan terjadi sebesar 0,8% hingga 18,1% dan dapat meningkatkan morbiditas, memperpanjang waktu penyembuhan, serta menambah biaya perawatan (Windahl *et al.*, 2015). Infeksi ini umumnya muncul dalam 30 hari pascaoperasi dan sebagian besar bersifat superfisial, melibatkan kulit dan jaringan subkutan dengan agen penyebab yang dapat berasal dari flora normal maupun lingkungan (Owusu *et al.*, 2022). Salah satu faktor resiko utama adalah kontaminasi bakteri patogen selama tindakan operasi akibat penggunaan alat bedah yang tidak steril (Diyaningsih, 2019). Selain itu, *World Health Organization* pada tahun 2016 menetapkan bahwa sebagian besar patogen prioritas yang resisten terhadap antibiotik berasal dari bakteri gram negatif yang secara struktural memiliki tingkat resistensi lebih tinggi dan berkontribusi signifikan terhadap peningkatan morbiditas dan mortalitas secara global.

Salah satu bakteri yang menunjukkan peningkatan resistensi adalah *Enterobacter hormaechei*, yaitu bakteri gram negatif yang telah berkembang menjadi patogen penting yang berasosiasi dengan infeksi nosokomial dan oportunistik, serta semakin sering diisolasi dari berbagai kasus klinis di seluruh dunia. *E. hormaechei* diduga memiliki tingkat virulensi yang lebih tinggi dibandingkan spesies lain dalam kelompok *Enterobacter Cloacae Complex* (ECC) yang berkaitan dengan keberadaan *high-pathogenicity island* yang sering terdeteksi pada kromosomnya. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa *E. hormaechei* dapat diisolasi dari sampel darah, sputum, urin, cairan empedu, feses, dan kulit yang dapat menyebabkan berbagai penyakit infeksi seperti bakteremia, pneumonia, infeksi saluran kemih, infeksi saluran empedu, kolitis, dan selulitis (Yeh *et al.*, 2022). Penelitian yang dilakukan oleh Kamathewatta *et al.* (2020) melaporkan bahwa *E. hormaechei* berhasil diisolasi dari wastafel cuci tangan di rumah sakit hewan di Australia yang menunjukkan potensi fasilitas tersebut sebagai sumber kontaminasi lingkungan nosokomial. Penelitian lain oleh Gharban (2024) mengidentifikasi *E. hormaechei* sebagai patogen yang terlibat dalam *Bovine Respiratory Disease* (BRD) meskipun sebelumnya tidak dianggap sebagai patogen utama pada sistem respirasi sapi. *E. hormaechei* dilaporkan sebagai spesies dominan dalam kelompok *Enterobacter* yang bersifat *multi-drug resistant* (MDR) dengan kemampuan membawa berbagai gen resistensi antibiotik. Hal ini menjadi ancaman serius dalam praktik klinis karena dapat meningkatkan kegagalan terapi dan memperpanjang durasi penyakit (Gharban, 2024).

Antibiotik merupakan terapi utama dalam penanganan infeksi bakteri, namun penggunaannya yang tidak rasional dapat memicu terjadinya resistensi antibiotik. Resistensi antibiotik adalah kondisi ketika antibiotik tidak lagi efektif membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri karena adanya mekanisme adaptasi mikroorganisme (Nufus, 2019). *Enterobacter hormaechei* mampu menghasilkan berbagai enzim, seperti β -laktamase dan *carbapenemase* yang berperan dalam menonaktifkan antibiotik, khususnya golongan β -laktam. Selain itu, *E. hormaechei* juga memiliki kemampuan memperoleh dan mentransfer gen resistensi melalui elemen genetik bergerak sehingga mempercepat penyebaran sifat *multidrug-resistant* (MDR). Tingginya tingkat resistensi menyebabkan keterbatasan pilihan terapi, meningkatkan resiko kegagalan pengobatan, serta memperbesar potensi penyebaran bakteri resisten di fasilitas kesehatan seperti rumah sakit hewan (Yeh et al., 2022).

Berdasarkan uraian yang telah dipaparkan di atas perlu dilakukan penelitian tentang gambaran bakteri patogen gram negatif yang ditemukan pada alat bedah minor steril dan antibiotik jenis apa yang resisten pada jenis bakteri yang ditemukan di alat bedah steril Rumah Sakit Hewan Universitas Hasanuddin.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan maka dapat diambil rumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah bakteri *Enterobacter hormaechei* ditemukan pada alat bedah steril di Rumah Sakit Hewan Universitas Hasanuddin?
2. Bagaimana pola resistensi *Enterobacter hormaechei* terhadap berbagai antibiotik yang diuji?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah dipaparkan maka tujuan pada penelitian ini sebagai berikut:

1. Untuk mengidentifikasi keberadaan bakteri *Enterobacter hormaechei* pada alat bedah steril di Rumah Sakit Hewan Universitas Hasanuddin.
2. Untuk mengetahui pola resistensi *Enterobacter hormaechei* terhadap berbagai antibiotik

1.4 Manfaat penelitian

1. Manfaat Pengembangan Ilmu
Manfaat pengembangan ilmu dari penelitian ini adalah sebagai ilmu pengetahuan tambahan dan literatur terkait bakteri gram negatif yang resisten pada antibiotik yang diberikan untuk penelitian-penelitian berikutnya
2. Manfaat Aplikasi.
Manfaat aplikasi pada penelitian ini sebagai sarana untuk melatih kemampuan dari peneliti dan juga dapat menjadi referensi bagi penelitian-penelitian berikutnya.

1.5 Keaslian Penelitian

Sejauh penelusuran pustaka penulis, publikasi penelitian mengenai “Uji Resistensi Bakteri Gram Negatif Terhadap Antibiotik Pada Alat Bedah Steril di Rumah Sakit Hewan Pendidikan (RSHP) Universitas Hasanuddin” belum pernah dilakukan sebelumnya. Penelitian yang pernah dilakukan berkaitan dengan penelitian ini adalah penelitian oleh Boutarfi et al. (2019) dengan judul “Biocide Tolerance and Antibiotic Resistance of *Enterobacter* spp. Isolated from an Algerian Hospital Environment” dan Kamathewatta et al. (2020) dengan judul “Colonization of a Hand Washing by an *Enterobacter hormaechei* Strain Carrying Multiple Resistances to High Importance Antimicrobials”.

1.6. Teori

1.6.1 Rumah Sakit Hewan

Berdasarkan peraturan Menteri Pertanian No.02/Permentan/OT.140/1/2010 rumah sakit hewan adalah tempat usaha pelayanan jasa medik veteriner yang dijalankan oleh suatu manajemen dengan dipimpin oleh seorang dokter hewan penanggung jawab, memiliki fasilitas untuk pelayanan gawat darurat, *laboratorium diagnostic*, rawat inap, unit penanganan intensif, ruang isolasi, serta dapat menerima jasa layanan medik veteriner yang bersifat rujukan (Permentan, 2019). Rumah sakit hewan memiliki beberapa tugas dan fungsi, yaitu melakukan pemeriksaan dan diagnosa klinis, laboratoris, pengobatan, penyembuhan, dan pemulihan kesehatan terhadap pasien atau hewan yang sakit, melakukan pencegahan dan pengobatan penyakit hewan serta perawatan hewan yang sakit, melakukan prosedur pembedahan hewan, kastrasi, *ovariohysterectomy*, dan kecantikan hewan, mengadakan konsultasi masalah kesehatan dan gizi hewan, serta mengadakan penyuluhan kesehatan hewan (Indrawan *et al.*, 2014).

1.6.1.1 Ruang Operasi

Ruang operasi atau kamar operasi adalah suatu unit khusus di rumah sakit yang berfungsi sebagai tempat untuk melakukan tindakan pembedahan secara elektif maupun akut, yang membutuhkan kondisi steril dan kondisi khusus lainnya (Kemenkes RI, 2018). Instrumen bedah yang sering digunakan dalam tindakan operasi harus steril dan bebas dari kontaminan seperti mikroorganisme. Alat-alat yang sering digunakan dalam prosedur pembedahan yaitu *scalpel*, *blade*, gunting bedah, *forceps*, pinset, *needle holder*, dan *probes* (Afia, 2018).

1.6.2 Sterilisasi

Sterilisasi adalah suatu cara untuk membebaskan sesuatu (alat, bahan, media, dll.) dari mikroorganisme yang tidak diharapkan kehadirannya baik yang patogen maupun apatogen atau sterilisasi dapat juga diartikan sebagai suatu proses untuk membebaskan suatu benda dari semua mikroorganisme baik bentuk vegetatif maupun bentuk spora. Hal ini penting untuk dilakukan untuk melindungi pasien dan juga para petugas kesehatan (Hanifah *et al.*, 2021). Sterilisasi peralatan medis yang terkontaminasi patogen sangat penting untuk mencegah terjadinya infeksi sekunder pada pasien. Instrumen medis disterilisasi dengan menggunakan beberapa metode, yaitu autoklaf, perawatan sinar gamma, paparan sinar UV, dan penggunaan gas seperti etilen oksida, hidrogen peroksida, formaldehida, dan asam perasetat (Astuty dan Angkejaya, 2022).

Salah satu alat sterilisasi yang sering digunakan yaitu oven dengan metode *dry heat sterilization* yang juga digunakan oleh Rumah Sakit Hewan Universitas Hasanuddin untuk mensterilkan alat bedah, terutama yang terbuat dari kaca dan logam. Prinsip kerja metode ini adalah pemanasan pada suhu tinggi dalam waktu tertentu untuk membunuh seluruh mikroorganisme termasuk spora, bakteri dan jamur melalui mekanisme denaturasi protein dan oksidasi komponen sel. Oven bekerja dengan sistem konduksi panas, yaitu panas disalurkan dari udara panas ke permukaan alat, kemudian merambat ke bagian dalam hingga seluruh bagian mencapai suhu steril. Metode ini memerlukan suhu yang lebih tinggi dan waktu paparan yang lebih lama dibandingkan sterilisasi basah, namun efektif untuk peralatan yang tidak tahan terhadap kelembapan atau beresiko mengalami korosi jika disterilisasi dengan uap air. Suhu yang umum digunakan berkisar antara 160-190°C dengan lama pemanasan bervariasi tergantung suhu, misalnya 160°C selama ± 45 menit atau 170°C selama ± 18 menit. Untuk memastikan efektivitas sterilisasi, sirkulasi udara panas dalam oven harus merata dan jumlah alat yang dimasukkan tidak berlebihan agar distribusi panas optimal (Wulandari *et al.*, 2021).

1.6.3 Surgical Site Infection (SSI)

Ruangan-ruangan di rumah sakit cenderung memiliki resiko yang tinggi sebagai sarana penularan penyakit seperti kamar bedah yang memiliki potensi tinggi dalam menyebabkan infeksi rumah sakit terutama infeksi luka operasi atau *Surgical Site Infection* (SSI). Agen infeksius yang terdapat di kamar bedah dapat berasal dari tenaga kesehatan, alat medis maupun non medis, lingkungan pembedahan, dan dari pasien itu sendiri. Pasien sangat rentan terhadap infeksi setelah dilakukan tindakan operasi sehingga pencegahan dan pengendalian infeksi pasca operasi harus diperhatikan (Waleleng *et al.*, 2024).

Surgical Site Infection (SSI) atau Infeksi Daerah Operasi (IDO) adalah infeksi pada daerah bekas insisi akibat tindakan pembedahan yang didapat 30 hari atau hingga 1 tahun apabila menggunakan implan. Infeksi ini termasuk ke dalam *Healthcare Associated Infections* (HAIs) atau infeksi nosokomial merupakan infeksi yang didapatkan di rumah sakit setelah 48 jam mendapatkan perawatan serta tidak dalam masa inkubasi (Lubis *et al.*, 2024). Kasus SSI yang sering terjadi pada *post-operation* hewan akibat luka sayatan ataupun selepas pemasangan infus yang kurang aseptis sehingga menjadi pintu masuk bagi mikroorganisme masuk ke dalam tubuh (Budianto *et al.*, 2020).

Penemuan kasus retrospektif dan studi surveilans dari *Study on Efficacy of Nosocomial Infection Control* (SENIC) yang menunjukkan bahwa target utama dari terjadinya infeksi nosokomial yaitu *Surgical Site Infection* (SSI) sebanyak 42% yang biasa terjadi *post-operation* pada hewan akibat luka sayatan yang kurang aseptis, *Urinary Tract Infections* (UTI) 5%, pneumonia 10% dan kombinasi sebanyak 19% (Sahu *et al.*, 2016). Angka prevalensi dari infeksi daerah operasi dapat meningkat apabila selama proses pembedahan terdapat faktor risiko. Faktor risiko penentu dari infeksi luka operasi meliputi operasi itu sendiri, penggunaan antibiotik, adanya kontaminasi, serta resistensi kuman. Selain itu faktor risiko pasien seperti usia, jenis kelamin, status gizi, status diabetes, lama waktu perawatan yang didapatkan selama pra-operasi, atau adanya kondisi *immunocompromised* (Lubis *et al.*, 2024).

Penggunaan antibiotik dapat menjadi faktor terjadinya infeksi daerah operasi. Penggunaan antibiotik pada awalnya bertujuan untuk mencegah kejadian infeksi luka operasi. Antibiotik akan mencegah terjadinya pertumbuhan flora normal yang resisten, menurunkan morbiditas dan mortalitas pasca operasi. Akan tetapi, apabila penggunaan dan pemberian dari antibiotik tidak tepat sehingga menjadi tidak rasional yang menyebabkan pasien berisiko terkena *Surgical Site Infection* (SSI) (Lubis *et al.*, 2024).

1.6.4 Bakteri

Bakteri adalah salah satu jenis mikroorganisme yang tidak bisa dilihat secara langsung oleh mata dan jumlahnya lebih banyak dibandingkan dengan jenis mikroorganisme lainnya. Ciri-ciri dari bakteri yaitu ukuran yang bervariasi antara 0,12 s/d ratusan mikron, umumnya memiliki ukuran rata-rata 1-5 mikron, memiliki bentuk yang beragam (*Coccus*, *Bacil*, *Spiral*), kebanyakan uniseluler (terdiri dari satu sel), prokariot (tidak memiliki membran inti sel), berkembang biak dengan cara aseksual (membelah diri), hidup dengan bebas atau parasit, dinding sel tersusun atas mukopolisakarida dan peptidoglikan, memiliki endospora, umumnya tidak memiliki klorofil, dan memiliki alat gerak berupa *flagella* atau tanpa *flagella* (Octifani *et al.*, 2023).

Struktur tubuh bakteri terbagi menjadi dua bagian yaitu struktur luar dan struktur dalam. Struktur luar dari bakteri terdiri atas dinding sel, kapsul, membran sel, *flagella* dan *pili* sedangkan struktur dalam dari bakteri tersusun atas sitoplasma, nukleoid, ribosom, dan plasmid. Secara umum, bakteri memiliki tiga bentuk yang umum dan masing-masing memiliki berbagai macam jenis. Secara umum, bentuk bakteri terdiri dari *coccus* (bulat), *bacil* (batang), dan spiral (*spirium*). Bakteri yang berbentuk *bacil* atau batang dibedakan menjadi *monobacil*, *diplobacil*, dan *streptobacil*. Bentuk *coccus* atau bulat dibedakan menjadi *monococcus*, *diplococcus*, *streptococcus*, *tetracoccus*, *sarcina*, dan *staphylococcus*. Bentuk spiral dibedakan menjadi *vibrio*, spiral, dan *spirochaeta* (Rindiana, 2022).

Secara garis besar, bakteri dapat dibagi menjadi tiga kelompok yaitu bakteri aerob obligat, bakteri anaerob, dan bakteri fakultatif. Bakteri aerob obligat adalah bakteri yang membutuhkan oksigen dalam bentuk gas untuk keberlangsungan siklus hidupnya. Bakteri anaerob adalah bakteri yang tidak membutuhkan oksigen dalam siklus hidupnya tetapi dalam aktivitas metabolismenya melakukan reaksi fermentasi dan menghasilkan produk akhir yang berbau busuk. Bakteri fakultatif adalah bakteri yang mutlak tidak membutuhkan oksigen untuk pertumbuhannya (Simanullang, 2018).

1.6.4.1 Bakteri Gram Negatif

Bakteri berdasarkan golongannya terdiri dari bakteri gram-positif dan bakteri gram-negatif (Sanjaya *et al.*, 2023). Perbedaan utama antara bakteri gram positif dan bakteri gram negatif terletak pada komponen dinding sel nya di mana bakteri gram positif memiliki dinding sel yang lebih tipis dari bakteri gram negatif. Pada proses pewarnaan gram, bakteri gram negatif akan kehilangan zat pewarna kristal violet setelah dicuci dengan alkohol dan sewaktu diberi zat pewarna tandingannya yaitu zat

pewaran safranin sehingga bakteri gram negatif tampak berwarna merah. Tetapi, bakteri gram negatif memiliki sifat patogen yang lebih berbahaya daripada bakteri gram-positif dikarenakan struktur dari bakteri gram-negatif memiliki dinding sel yang berfungsi dalam perlindungan bakteri dari pertahanan inang serta menghalangi masuknya antibiotik karena mengandung senyawa toksin (Sanjaya *et al.*, 2023).

1.6.4.2 Struktur Bakteri Gram-Negatif

Bakteri berdasarkan golongannya terdiri dari bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Perbedaan utama antara bakteri gram positif dan bakteri gram negatif terletak pada komponen dinding sel nya di mana bakteri gram positif memiliki dinding sel yang lebih tipis dari bakteri gram negatif. Pada proses pewarnaan gram, bakteri gram negatif akan kehilangan zat pewarna kristal violet setelah dicuci dengan alkohol dan sewaktu diberi zat pewarna tandingannya yaitu zat pewarna safranin sehingga bakteri gram negatif tampak berwarna merah. Tetapi, bakteri gram negatif memiliki sifat patogen yang lebih berbahaya daripada bakteri gram positif dikarenakan struktur dari bakteri gram-negatif memiliki dinding sel yang berfungsi dalam perlindungan bakteri dari pertahanan inang serta menghalangi masuknya antibiotik karena mengandung senyawa toksin (Sanjaya *et al.*, 2023).

1.6.4.3 Bakteri Gram Negatif Basil

Bakteri gram negatif berbentuk batang (*Enterobacteriaceae*) adalah bakteri yang hidup pada usus manusia dan hewan. *Enterobacteriaceae* memiliki beberapa jenis, yaitu *Eschericia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, dan *Proteus*. Beberapa spesies dari *Eschericia* seperti *Eschericia coli* adalah flora normal dan dapat menyebabkan penyakit jika jumlahnya lebih dari batas normalnya, sedangkan jenis bakteri yang lain seperti *Shigella* dan *Salmonella* adalah bakteri patogen umum yang dapat menyerang manusia dan hewan. Adapun jenis bakteri *Pseudomonas aeruginosa* memiliki sifat invasif dan toksigenik yang dapat menyebabkan infeksi dan penurunan daya tahan tubuh sehingga jenis bakteri ini termasuk dalam patogen nosokomial yang penting (Sanjaya *et al.*, 2023).

Selain *Enterobacteriaceae*, kelompok bakteri batang gram negatif lainnya mencakup *Vibrio*, *Campylobacter*, *Helicobacter*, dan bakteri terkait lainnya. Mikroorganisme ini adalah spesies berbentuk basil atau batang gram negatif yang tersebar luas di lingkungan. *Vibrio* ditemukan di daerah perairan dan permukaan air, sedangkan *Aeromonas* banyak ditemukan di air tawar dan kadang-kadang pada hewan berdarah dingin. Termasuk juga di dalamnya adalah bakteri seperti *Haemophilus*, *Bordetella*, dan *Brucella*. *Haemophilus influenza* tipe b adalah salah satu bakteri gram negatif yang patogen bagi manusia. Kelompok bakteri gram negatif lainnya meliputi *Yersinia*, *Francisella*, dan *Pasteurella*, yang berbentuk batang pendek dan pleomorfik. Organisme ini bersifat katalase positif, oksidase positif, dan merupakan bakteri anaerob fakultatif (Sanjaya *et al.*, 2023).

1.6.4.4 Bakteri Gram Negatif Kokus

Bakteri gram negatif kokus adalah kelompok bakteri yang di dalamnya terdapat genus *Neisseria*, *Moraxella*, dan *Acitenobacter*. Pada beberapa literatur, ketiga genus tersebut juga masuk ke dalam kelompok gram negatif *coccobacilli* (Octifani *et al.*, 2023).

Genus *Neisseria* memiliki ciri-ciri gram negatif dan berbentuk kokus. *Neisseria* bersifat aerobik, non-motil dan tidak membentuk spora. *Neisseria* ada yang bersifat patogen dan patogen oportunistik. Spesies *Neisseria* patogen antara lain *Neisseria gonorrhoeae* dan *Neisseria meningitidis*. Spesies *Neisseria* yang bersifat patogen oportunistik yaitu: *Neisseria sicca*, *Neisseria sublava*, *Neisseria mucosa*, *Neisseria flavescens*, *Neisseria cinerea*, *Neisseria polysachharea*, *Neisseria elongata*, *Neisseria baciliformis*, *Neisseria lactamica*. *Neisseria* yang bersifat patogenik memiliki faktor virulensi pada permukaan tubuhnya. Beberapa faktor virulensi tersebut berupa reseptor *transferrin*, kapsul, *fimbriae*, dan protein pada membran sel. Faktor virulensi lainnya adalah lipooligosakarida (LOS), dikenal juga dengan endotoksin (Octifani *et al.*, 2023).

Genus *Moraxella* adalah diplokokus gram negatif nonmotil yang biasanya ditemukan berpasangan. *Moraxella* bersifat aerobik, oksidase positif, dan tidak memfermentasi karbohidrat. Patogen terpenting dalam genus ini adalah *Moraxella catarrhalis* (sebelumnya *Branhamella*) yang menyebabkan penyakit *catarrhal*. Bakteri ini dapat menyebabkan infeksi pada sistem pernafasan, telinga tengah, mata, sistem syaraf pusat, dan persendian (Octifani *et al.*, 2023).

Genus *Acitenobacter* adalah bakteri gram negatif *coccobacilli* yang bersifat non-motil dan seringkali mirip dengan *Neisseria* dalam sampel yang diwarnai gram. Bakteri ini umumnya memiliki kapsul, bersifat oksidase negatif, aerobik obligat, dan tidak memfermentasikan karbohidrat. Spesies yang dikenal sebagai patogen penting adalah *Acitenobacter baumannii* yang menyebabkan penyakit nosokomial (Octifani *et al.*, 2023).

1.6.4.5 *Enterobacter hormaechei*

Enterobacter hormaechei adalah bakteri gram negatif, tidak membentuk spora, motil, dan bersifat anaerob fakultatif yang termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae*. Bakteri ini merupakan anggota utama dari *Enterobacter Cloacae Complex* (ECC) yang pertama kali diusulkan sebagai spesies baru pada tahun 1989. Berdasarkan kemajuan analisis filogenetik, ECC kini dapat dibagi menjadi setidaknya 18 kelompok filogenomik (genogrup A hingga R) di mana *E. hormaechei* sering kali menjadi patogen nosokomial yang paling umum diidentifikasi dalam kompleks tersebut (Yeh *et al.*, 2022).

Enterobacter hormaechei telah muncul sebagai patogen oportunistik penting dalam infeksi terkait layanan kesehatan (nosokomial) terutama pada pasien dengan sistem imun yang lemah. Bakteri ini dapat menyebabkan berbagai infeksi serius seperti bakteremia, pneumonia, Infeksi Saluran Kemih (ISK), infeksi saluran empedu, dan selulitis. Spesies ini dianggap lebih virulen dibandingkan anggota ECC lainnya karena keberadaan *pathogenicity islands* pada kromosomnya serta berbagai faktor virulensi (Yeh *et al.*, 2022).

Bakteri ini dikenal sebagai salah satu spesies dalam *Enterobacter Cloacae Complex* (ECC) yang paling sering menunjukkan sifat *multidrug-resistant* (MDR) sehingga menjadi perhatian dalam bidang kesehatan hewan maupun manusia. Tingginya tingkat resistensi tersebut berkaitan dengan berbagai mekanisme molekuler yang dimilikinya. Salah satu mekanisme utama dari bakteri ini yaitu produksi enzim β -lactamase termasuk *Extended Spectrum β -lactamase* (ESBL) seperti varian CTX-M-15, SHV-12, dan SFO-1 yang mampu menghidrolisis antibiotik β -lactam spektrum luas, khususnya sefalosporin generasi ketiga. Selain itu, bakteri ini juga memiliki enzim AmpC β -lactamase yang dapat dimediasi secara kromosom maupun plasmid seperti varian ACT yang semakin memperkuat resistensi terhadap berbagai golongan sefalosporin. Lebih lanjut telah dilaporkan adanya produksi enzim *carbapenemase* pada beberapa isolat yang resisten terhadap *carbapenem* dengan gen-gen seperti NDM-1, KPC-2, VIM, IMP yang tersebar secara global. Keberadaan gen-gen ini merupakan suatu ancaman karena *carbapenem* merupakan antibiotik lini terakhir untuk infeksi berat. Selain resistensi terhadap β -lactam, bakteri ini juga menunjukkan resistensi terhadap golongan *fluoroquinolon* melalui gen yang dimediasi plasmid, seperti *qnrS1*. Gen tersebut sering ditemukan pada plasmid konjugatif bersama gen resistensi lainnya, sehingga memungkinkan terjadinya transfer horizontal antar bakteri dan mempercepat penyebaran resistensi di lingkungan klinis (Gharban, 2024).

1.6.5 Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri adalah salah satu prosedur yang lazim dilakukan di laboratorium mikrobiologi yang bertujuan untuk mengetahui morfologi, struktur, serta sifat fisiologis dari bakteri. Untuk mengidentifikasi suatu bakteri, dapat dilakukan dengan pemeriksaan mikroskopis, pewarnaan, dan pemeriksaan aktivitas biokimia bakteri. Struktur bakteri hampir tidak berwarna dan kontras dengan air, sehingga dibutuhkan zat warna untuk memudahkan identifikasi bakteri. Identifikasi bakteri didasarkan pada morfologi (bentuk, susunan, ukuran), karakteristik koloni (bau, warna koloni, sifat koloni terhadap media pertumbuhan, elevasi, bentuk pinggiran koloni) dan sifat biokimia (kemampuan bakteri yang berhubungan dengan fisiologinya), dan uji serologi. Proses identifikasi dilakukan setelah kegiatan isolasi bakteri selesai, sehingga teknik dalam melakukan isolasi perlu dikuasai dengan baik oleh seorang petugas laboratorium klinik (Octifani *et al.*, 2023).

Bakteri yang akan diisolasi dapat berupa biakan murni atau populasi campuran. Bila biakan yang akan diidentifikasi ini tercemar, perlu dilakukan pemurnian. Biasanya pemurnian dilakukan dengan cara menggores suspensi mikroba yang akan diisolasi pada lempengan agar sebagai media pertumbuhannya. Setelah diperoleh koloni yang terpisah, dibuat pewarnaan gram dari beberapa koloni untuk melihat kemurnian biakan yang akan dilanjutkan dengan serangkaian uji biokimia untuk mengetahui ciri biokimia dari bakteri uji. Setiap uji yang dilakukan harus menggunakan kontrol untuk

mengetahui apakah media serta reagen yang digunakan memenuhi persyaratan. Selain itu, fungsi dari kontrol untuk melihat apakah teknik yang digunakan benar dan tepat. Untuk mengetahui apakah media yang digunakan bekerja dengan baik, digunakan biakan mikroba yang memberikan hasil positif dan negatif. Setiap uji yang digunakan dalam identifikasi bakteri tidak sama untuk setiap kelompok. Pentingnya mengidentifikasi bakteri adalah untuk mengenal morfologi bakteri tersebut, mengetahui teknik membuat sediaan untuk pemeriksaan mikroskopis, serta prinsip dasar dari beberapa teknik pewarnaan (Octifani *et al.*, 2023).

1.6.5.1 Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram adalah salah satu prosedur dalam identifikasi bakteri yang digunakan untuk mengelompokkan bakteri gram positif dan gram negatif. Perbedaan warna pada bakteri gram positif dan gram negatif disebabkan oleh perbedaan struktur, komposisi dinding sel bakteri dan permeabilitas diantara kedua kelompok dinding sel bakteri. Prinsip dari pewarnaan gram berdasarkan kemampuan bakteri untuk menahan pewarna primer (kristal ungu) atau kehilangan warna primer dan menerima warna tandingan (safranin). Bakteri gram positif akan menunjukkan warna ungu sedangkan untuk bakteri gram negatif akan menunjukkan warna merah (Anuar *et al.*, 2014).

1.6.5.2 Uji Biokimia

Kultur dan pewarnaan bakteri dapat memberikan informasi penting dalam pemeriksaan, namun kedua teknik ini tidak cukup untuk memberikan informasi yang spesifik dan lengkap dalam identifikasi bakteri, maka dari itu kedua proses tersebut dikombinasikan dengan uji biokimia (Afia, 2018). Uji biokimia bakteri adalah salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mengidentifikasi suatu biakan murni dari hasil isolasi yang melewati sifat-sifat biologisnya (Raharja *et al.*, 2023). Uji biokimia yang biasa digunakan di laboratorium mikrobiologi adalah uji katalase, uji koagulase, produksi H₂S, produksi indol, fermentasi laktosa dan gula-gula lainnya, uji *Methyl red*, dan uji *citrat* (Warganegara *et al.*, 2012).

Percobaan-percobaan dalam uji biokimia mencakup berbagai uji biokimia mencakup berbagai uji untuk mengetahui aktivitas metabolisme mikroba. Pengamatan aktivitas metabolisme diketahui dari kemampuan mikroba untuk menggunakan dan menguraikan molekul kompleks, seperti zat pati, lemak protein, dan asam nukleat. Selain itu, pengamatan juga dilakukan pada molekul yang sederhana seperti asam amino dan sakarida. Hasil dari uji ini yang nantinya akan digunakan untuk pencirian dan identifikasi mikroba (Universitas Sanata Dharma, 2016).

1.6.6. Antibiotik

Penyakit infeksi adalah salah satu masalah kesehatan yang penting, khususnya di negara berkembang. Salah satu obat yang paling sering digunakan dalam menangani infeksi yaitu antimikroba seperti antibakteri/antibiotik. Antibiotik adalah obat yang paling banyak digunakan pada infeksi yang disebabkan oleh bakteri. Antibiotik adalah zat yang dihasilkan dari suatu mikroba, terutama fungi, yang memiliki kemampuan dalam menghambat atau membasmi mikroba jenis lain sedangkan toksisitasnya bagi manusia atau hewan relatif kecil. Antibiotik digunakan sebagai pengobatan dalam berbagai jenis infeksi yang disebabkan oleh bakteri atau juga untuk prevensi infeksi, misalnya pada pembedahan besar (Fauziyah, 2016).

Antibiotik terbagi menjadi tiga, yaitu antibiotika alami, semi sintesis, dan sintesis. Antibiotika alami adalah antibiotik yang diperoleh secara alami dari mikroorganisme. Antibiotika semi sintesis adalah antibiotik yang dihasilkan oleh mikroorganisme dan dimodifikasi di laboratorium dengan penambahan senyawa kimia. Antibiotika sintesis adalah antibiotik yang disintesis di laboratorium sepenuhnya. Penggunaan dari antibiotika telah meningkat seiring dengan banyaknya jenis infeksi yang kemungkinan disebabkan oleh jenis bakteri yang baru atau virus yang baru. Hal ini menyebabkan penggunaan antibiotik di kalangan masyarakat yang awam sering disalahgunakan seperti pemakaian antibiotik untuk menangani jenis infeksi yang tidak tepat serta dosis dan lama penggunaan yang tidak sesuai dikarenakan kurangnya pemahaman mengenai antibiotik itu sendiri sehingga timbul masalah seperti resistensi antibiotik terhadap jenis bakteri tertentu (Sudigdoadi, 2015).

1.6.6.1. Penggolongan Antibiotik

Menurut Fadrian (2023), Antibiotik adalah obat yang digunakan untuk mengatasi infeksi bakteri yang bersifat bakteriostatik (menghambat perkembangbiakan bakteri) dan bakterisidal (membunuh

bakteri). Antibiotik dapat dikelompokkan berdasarkan mekanisme kerja, struktur kimia, dan spektrum aktivitas bakterinya.

A. Klasifikasi Antibiotik

Tabel 1 Klasifikasi Antibiotik (Fadrian, 2023).

<i>Beta Lactamase</i>	Penicillins
	Cephalosporins
	Carbapenem
	Monobactam
PENISILIN	
Natural Penicillin	Penicillin G
	Aqueous Penicillin G
	Procaine Penicillin G
	Benzathine Penicillin G
	Penicillin V
Aminopenicillins	Amoxicillin
	Methicillin
<i>Penicillinase-Resistant-Penicillins</i>	Methicillin
	Nafcillin
	Oxacillin
	Cloxacillin
	Dicloxacillin
<i>Antipseudomonal Penicillins</i>	Carbenicillin
	Ticarcillin
	Piperacillin
SEFALOSPORIN	
Bakterisidal: Menghambat Sintesis Dinding Sel Bakteri Melalui Inhibisi Kompetitif Pada Enzim Transpeptidase	
<i>1st Generation</i>	Cefazolin
	Cephalexin
<i>2nd Generation</i>	Cefoxitin
	Cefaclor
	Cefuroxime
<i>3rd Generation</i>	Ceftriaxone
	Cefotaxime

	Ceftazidime Cefepime (4th Generation)
Beta-Lactamase Inhibitors (Bakterisidal: <i>Blocking Cross Linking</i>)	Clavulanic Acid Sulbactam Tazobactam
Carbapenems	Mipenem (+ Cilastatin) Meropenem Doripenem Ertapenem
Monobactam	Aztreonam
INHIBITOR DINDING SEL LAINNYA	
Vancomycin Q (Bactericidal: Disrupts Peptidoglycan Cross-Linkage) Vancomycin	Vancomycin
Polymyxins	Polymyxin B Polymyxin E
Bacitracin	Bacitracin
INHIBISI SINTESIS PROTEIN	
SUBUNIT RIBOSOMAL ANTI-30S	
Aminoglycosides (Bactericidal: <i>Irreversible Binding To 30S</i>)	Gentamicin Neomycin Amikacin Tobramycin Streptomycin
Tetracyclines (Bakteriostatik: Blok Trna)	Tetracycline Doxycycline Minocycline Demeclocycline
SUBUNIT RIBOSOMAL ANTI-50S	
Macrolides (Bakteriostatik: <i>Reversibly Binds 50S</i>)	Erythromycin Azithromycin Clarithromycin

Chloramphenicol (Bacteriostatic)	Chloramphenicol
Lincosamide (Bakteriostatik: <i>Inhibits Peptidyl Transferase By Interfering With Amino Acyltrna Complex</i>)	Clindamycin
Linezolid (Variabel)	Linezolid
Streptogramins	Quinupristin Dalfopristin
INHIBITOR SINTESIS DNA	
FLUOROQUINOLON	
Bakterisidal: Menghambat Enzim Girase DNA, Menghambat Sintesis DNA	
1st Generation	Nalidixic Acid
2nd Generation	Ciprofloxacin Norfloxacin Enoxacin Ofloxacin Levofloxacin
3rd Generation	Gatifloxacin
4th Generation	Moxifloxacin Gemifloxacin
INHIBITOR DNA LAINNYA	
Metronidazole (Bacteridical: Metabolic Biproducts Disrupt DNA)	Metronidazole (Flagyl)
INHIBITOR SINTESIS RNA	
Rifampin (Bakterisidal: <i>Inhibits RNA Transcription By Inhibiting RNA Polymerase</i>)	Rifampin
INHIBITOR SINTESIS ASAM MIKOLAT	
Isoniazid	Isonia
INHIBITOR SINTESIS ASAM FOLAT	
Trimethoprim/Sulfonamides (Bakteriostatik: <i>Inhibition With Paba</i>)	Trimethoprim/ Sulfamethoxazole (Smx) Sulfisoxazole Sulfadiazine
Pyrimethamine	Pyrimethamine

B. Antibiotik berdasarkan spektrum bakterinya

Tabel 2 Penggolongan Antibiotik Berdasarkan Kemampuan Antibakteri Terhadap Gram Positif dan Gram Negatif (Fadrian, 2023).

Kelompok	Antibiotik
Gram-Positif	Dapsomisin; Klindamisin; Linkomisin; Makrolid (Azitromisin, Eritromisin dan Klaritromisin); Penisilin (Benzatilbenzilpenisilin, Dikloksasilin, Fenoksimetil, Penisilin, Kloksasilin, Prokainbenzil Penisilin, Nafsilin, Oksasilin); Sefalosporin generasi 1 (Sefadroksil, Sefaleksis, Sefalotin, Sefazolin); Tetrasiklin dan Doksisiklin; Teikoplanin; Vankomisin.
Gram-Negatif	Aztreonam; Aminoglikosida; Kolistin; Polimiksin B; Sefalosporin generasi kedua (Sefaklor, Sefoksitin, Cefotetan, Sefuroksim).
Gram-Positif dan Gram-Negatif	Ampisilin, Ampisilin-sulbaktam, Amoksisilin, Amoksisilin-asam klavulanat; Flurokuinolon (Levofloxacin; Moksifloksasin; Ciprofloxacin) Fosfomisin; Carbapenem (Doripenem, Imipenem, Meropenem, Ertapenem); Kloramfenikol; Kotrimoksazol, Nitrofurantoin; Piperasilin, Piperasilin-Tazobaktam, dan Titarasilin (baik untuk <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, <i>Streptococcus</i> dan <i>Enterococcus</i>); Sefalosporin generasi ketiga (Sefdinir, Sefiksim, Sefoperazon, Sefotaksim, Sefpodoksim, Sefadizim, Seftriakson);

Sefepim;

Tigesiklin (kurang aktif untuk *Pseudomonas* dan *Proteus*).

C. Antibiotik yang bekerja secara khusus

Menurut Fadrian (2023), ada beberapa antibiotik yang memperlihatkan aktivitas pada antibakteri yang khusus atau spesifik, yaitu:

- Sulfonamid yang efektif terhadap *Nocardia spp*, *Chlamydia spp*, dan beberapa jenis protozoa.
- Metronidazol yang efektif terhadap bakteri anaerob gram-positif dan gram-negatif.
- INH, Etambutol, Pirazinamid, Rifampisin, Streptomisin, Dapson dan Azitromisin/Klaritromisin efektif terhadap mikrobakteri.
- Kolistin yang efektif terhadap *Acinetobacter spp* dan *Pseudomonas spp* tapi tidak efektif terhadap *Proteus*, *Serratia*, *Providentia*, *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, Kokus gram-positif, atau anaerob.
- Kelompok Tetrasiklin yang efektif terhadap bakteri atipikal, *Rickettsia* dan *Spirochaeta*.
- Kelompok Makrolida (Eritromisin, Azitromisin, Klaritromisin) yang efektif terhadap bakteri atipikal, *Haemophilus influenza*, *Helicobacter pylori*, *Mycobacterium avium*.
- Trimetoprim/Sulfametoksazol yang efektif terhadap *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenza*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Listeria*, *Pneumocystis jirovecii* (*Pneumocystis carinii*) dan *Toxoplasma gondii*.
- Klindamisin memiliki sifat efektif terhadap kokus gram-positif, kuman anaerob dan *Plasmodium spp*.

1.6.6.2. Prinsip Kerja Antibiotik

Pada kasus infeksi, penggunaan antibiotik memiliki tiga aspek yang saling berkaitan, yaitu aspek antibiotik, bakteri, dan *host*. Prinsip penggunaan antibiotik berbeda dengan obat pada umumnya karena target antimikroba adalah kuman sedangkan obat lain adalah sel *host*. Penggunaan antibiotik diharapkan mampu mencapai lokasi infeksi dengan kadar yang cukup (melebihi kadar hambat minimal/KHM), masuk/penetrasi ke dalam sel bakteri dan bekerja mengganggu proses metabolisme dari bakteri sehingga bakteri tersebut menjadi inaktif atau mati, namun efek toksik pada sel *host* diharapkan seminimal mungkin (Amin, 2014).

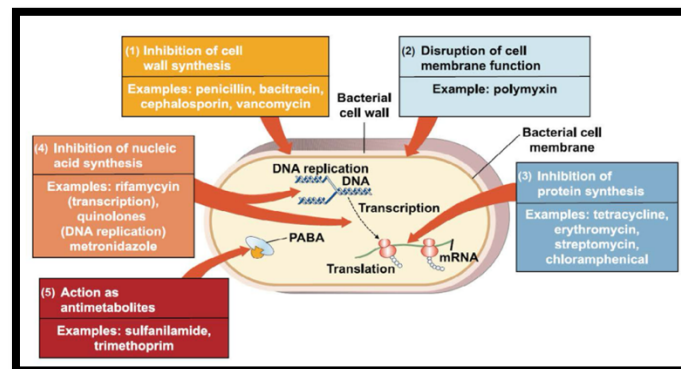
Keberhasilan dalam pengobatan antibiotik dipengaruhi oleh beberapa faktor. Selain jenis antibiotik dan spektrum antibiotik, aspek farmakologis yaitu farmakokinetik dan farmakodinamik merupakan faktor yang sangat penting. Aspek farmakokinetik mencakup absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi obat. Sedangkan aspek farmakodinamik mencakup sifat bakteriostatik/bakterisid, *time dependent/concentration dependent* dan *post antibiotic effect* (PAE) (Amin, 2014).

1.6.6.3. Cara Kerja Antibiotik

Menurut Amin (2014), setiap antibiotik memiliki cara kerja yang berbeda-beda dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Klasifikasi berbagai antibiotik dibuat berdasarkan mekanisme kerja tersebut, yaitu:

- a. Antibiotik yang menghambat sintesis dinding sel bakteri. Dinding sel bakteri adalah suatu makromolekul elastis yang memiliki fungsi untuk mempertahankan bentuk sel bakteri dan melindungi bakteri dari lisis akibat tingginya tekanan osmotik dari intraselular. Komponen utama dari dinding sel bakteri adalah peptidoglikan. Barrier fisik ini adalah target utama dari beberapa antibiotik seperti β -laktam dan glikopeptida. Contohnya adalah *penicilin*, *sefalosporin*, *carbapenem*, *monobactam*, dan *vancomycin*.
- b. Antibiotik yang bekerja dengan merusak membran sel mikroorganisme yang dapat mengakibatkan ketidakseimbangan osmotik dan pengeluaran molekul sel sehingga cairan masuk dengan cepat ke dalam sel yang menyebabkan proses respirasi sel terhambat dan terjadi kematian sel. Contohnya adalah *polymyxin*.

- c. Antibiotik yang menghambat sintesis protein mikroorganisme dengan mempengaruhi subunit ribosom 30S dan 50S. Antibiotik ini menyebabkan terjadinya hambatan dalam sintesis protein secara reversibel. Contohnya adalah *chloramphenicol* yang bersifat bakterisidal terhadap mikroorganisme lainnya, serta *macrolide*, *tetracycline* dan yang bersifat bakteriostatik.
- d. Antibiotik yang mengikat subunit ribosom 30S. Antibiotik ini menghambat sintesis protein dan mengakibatkan kematian sel. Contohnya adalah *aminoglycoside* yang bersifat bakterisidal.
- e. Antibiotik yang menghambat sintesis asam nukleat dari sel mikroba. Contohnya adalah *rifampicin* yang menghambat sintesis RNA polimerase dan kuinolon yang menghambat topoisomerase yang keduanya bersifat bakterisidal.
- f. Antibiotik yang menghambat enzim yang berperan dalam metabolisme folat. Contohnya adalah *trimethoprim* dan *sulfonamide* yang keduanya bersifat bakteriostatik.



Gambar 1 Mekanisme Utama Fungsi Antibiotik (Fadrian, 2023)

1.6.6.4. Resistensi Antibiotik

Antibiotik telah terbukti memiliki manfaat bagi kehidupan manusia sejak awal ditemukannya sampai sekarang. Namun, penggunaan dari antibiotik terus meningkat dan tidak rasional menimbulkan beberapa masalah, salah satunya yaitu kejadian resistensi antibiotik dimana terapi antibiotik tidak lagi efisien. Resistensi antibiotik adalah kemampuan mikroorganisme untuk melawan efek dari agen antibiotik di mana fenomena ini terjadi ketika antibiotik tidak lagi efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Resistensi antibiotik dapat muncul akibat mutasi di dalam genom bakteri yang sudah ada sebelumnya. Resistensi ini terjadi pada beberapa jenis mikroorganisme dengan prevalensi tinggi yang dapat mengancam kesehatan manusia dan juga hewan. WHO telah memprediksi akan terjadi 10 juta kematian pada tahun 2050 akibat peningkatan dari resistensi antibiotik sehingga menjadi salah satu ancaman kesehatan yang utama (Putri *et al.*, 2023).

Resistensi bakteri memiliki lima mekanisme utama dalam memberikan respon terhadap antibiotik, yaitu dimulai dari mutasi (modifikasi) pada target, modifikasi enzimatis (inaktivasi) terhadap antibiotik, penurunan konsentrasi antibiotik yang masuk ke dalam sel tanpa mengubah antibiotik tersebut dengan cara dikeluarkan (*efflux pump*), penurunan permeabilitas membran terhadap senyawa antibiotik, dan akuisisi jalur metabolisme alternatif. Dari mekanisme resistensi tersebut, mekanisme yang paling sering terjadi yaitu modifikasi molekul target antibiotik dengan bantuan enzim karena mekanisme ini mudah dan cepat dilakukan oleh bakteri (*injured condition*). Contohnya seperti kemampuan dari bakteri gram-negatif dalam menghasilkan enzim β -laktamase yang menghidrolisis cincin dari antibiotik β -laktam (Kurnianto dan Syahbanu, 2023).

1.6.7. Uji Resistensi Antibiotika

Uji resistensi adalah suatu pengujian yang dilakukan untuk mengetahui kepekaan bakteri terhadap suatu antibiotik. Penggunaan antibiotik yang berlebih atau tidak terkendali menyebabkan efek samping yang berbahaya, yang menyebabkan bakteri-bakteri tertentu resisten (tahan) terhadap antibiotik (Mardiah, 2017). Hasil sensitivitas suatu bakteri terhadap antibiotik dapat ditentukan oleh diameter zona hambat yang terbentuk. Semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk maka pertumbuhannya semakin terhambat. Zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan standar

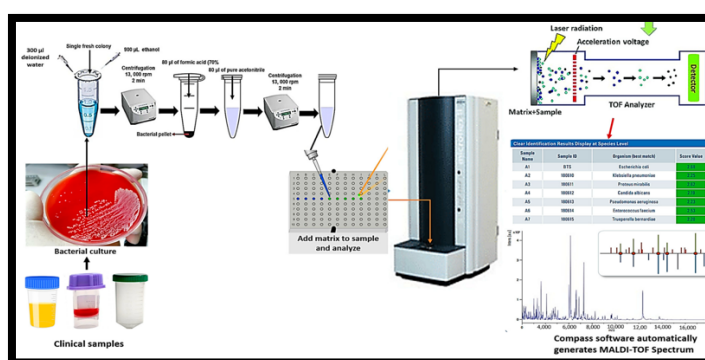
acuan untuk menentukan apakah bakteri tersebut resisten atau sensitif terhadap suatu antibiotik. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi diameter zona hambat diantaranya adalah waktu peresapan bakteri dalam media agar dan konsentrasi antibiotik. Zona hambat yang terbentuk dihitung dan disesuaikan dengan standar CLSI (*Clinical Laboratory Standard Institute*) yang merupakan organisasi internasional yang menyusun pedoman dan standar dalam bidang mikrobiologi klinik, termasuk pengujian sensitivitas antibiotik terhadap bakteri (Khusuma *et al.*, 2019). Tabel di bawah ini menunjukkan standar masing-masing antibiotik yang diujikan pada bakteri *Enterobacter hormaechei* berdasarkan standar CLSI 2020.

Tabel 3 Diameter Zona Hambat Berdasarkan CLSI 2020

Antibiotik	Diameter Zona Hambat		
	Sensitif	Intermediet	Resisten
Amoxicillin	≥18	14-17	≤13
Cefixime	≥19	16-18	≤15
Ceftazidime	≥21	18-20	≤17
Ciprofloxacin	≥26	22-25	≤21
Levofloxacin	≥21	17-20	≤16

Uji sensitivitas bakteri terhadap suatu antibiotik dapat dilakukan dengan beberapa metode pengujian yaitu difusi cakram (*diffusion test*), pengenceran atau dilusi (*dilution test*), *antimicrobial gradient* dan *short automated instrument system* (Khusuma *et al.*, 2019). Pada umumnya metode yang dipergunakan dalam uji sensitivitas bakteri adalah metode difusi agar yaitu dengan cara mengamati daya hambat pertumbuhan mikroorganisme oleh zat yang diketahui dari daerah di sekitar kertas cakram (*paper disk*) yang tidak ditumbuhi oleh mikroorganisme. Tujuan Penyebab kuman resisten terhadap antibiotik yakni memang kuman tersebut resisten terhadap antibiotik yang diberikan, akibat pemberian dosis dibawah dosis pengobatan dan akibat penghentian obat sebelum bakteri tersebut betul-betul terbunuh oleh antibiotik (Putri *et al.*, 2023).

1.6.8. Maldi-TOF MS



Gambar 2 Mekanisme Kerja Identifikasi Bakteri Menggunakan Maldi-TOF MS (Elbehiry *et al.*, 2022).

Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) merupakan metode analitik modern yang banyak digunakan dalam bidang mikrobiologi klinik untuk identifikasi bakteri secara cepat dan akurat. Teknik ini bekerja dengan menganalisis profil massa protein, terutama protein ribosom yang bersifat khas untuk setiap spesies bakteri. Pada tahap awal, koloni bakteri yang telah dikultur diaplikasikan pada target *plate* dan dicampur dengan larutan matriks yang umumnya berupa senyawa organik yang berfungsi menyerap energi laser. Makriks ini berperan

penting dalam melindungi molekul protein dari kerusakan selama proses ionisasi. Campuran sampel dan matriks disinari dengan sinar laser. Energi dari laser menyebabkan terjadinya proses desorpsi dan ionisasi, yaitu pelepasan molekul protein dari permukaan target sekaligus pembentukan ion bermuatan. Ion-ion protein yang terbentuk kemudian dipercepat dalam medan listrik menuju tabung vakum. Di dalam tabung ini, ion dipisahkan berdasarkan waktu tempuh (*time of flight*) di mana ion dengan massa yang lebih kecil akan mencapai detektor lebih cepat dibandingkan ion dengan massa lebih besar. Dalam prosesnya, koloni bakteri dicampur dengan matriks kimia kemudian disinari laser sehingga terjadi desorpsi dan ionisasi molekul protein. Ion-ion tersebut selanjutnya dipercepat di medan listrik dan dipisahkan berdasarkan waktu tempuhnya (*time of flight*) yang sebanding dengan rasio massa terhadap muatan. Waktu tempuh ion tersebut dikonversi menjadi spektrum massa yang menggambarkan rasio massa terhadap muatan (m/z). Spektrum massa yang dihasilkan merupakan pola protein spesifik dari mikroorganisme yang dianalisis yang kemudian akan dibandingkan dengan basis data referensi untuk menentukan identitas dari mikroorganisme.

Identifikasi bakteri menggunakan mesin MALDI-TOF MS dapat mempercepat proses identifikasi bakteri dibandingkan dengan metode konvensional berbasis uji biokimia yang umumnya memerlukan waktu yang lebih lama. Mesin ini dapat digunakan untuk mengidentifikasi berbagai jenis mikroorganisme, termasuk bakteri gram positif dan gram negatif, bakteri anaerob, dan jamur dengan tingkat akurasi yang tinggi. (Chen et al., 2021).

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juni-Juli 2025 di Kota Makassar. Lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium Kesehatan Masyarakat Makassar untuk proses identifikasi bakteri dan Laboratorium Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin untuk uji sensitivitas antibiotik dari hasil identifikasi bakteri yang ditemukan.

2.2. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif untuk mengetahui jenis bakteri gram negatif apa yang ditemukan pada alat bedah, uji sensitivitas antibiotik pada bakteri gram negatif yang ditemukan dan seberapa besar zona hambat yang terbentuk. Adapun parameter yang diamati yaitu dan kepekaan antibiotika berupa sensitif (S), intermediet (I), dan resisten (R).

2.3. Populasi dan Sampel

Populasi pada penelitian ini yaitu alat bedah steril yang dipilih secara *random sampling* di laboratorium bedah Rumah Sakit Hewan (RSH) Universitas Hasanuddin. Sedangkan sampel yang digunakan yaitu isolat bakteri yang telah ditumbuhkan dari hasil *swab* instrumen bedah steril.

2.3.1. Kriteria Inklusi dan Eksklusi

A. Kriteria Inklusi

- Jenis bakteri gram negatif
- Instrumen bedah yang sudah melalui prosedur sterilisasi
- Jenis antibiotik umum yang digunakan dalam perawatan hewan di Rumah Sakit Hewan Pendidikan Universitas Hasanuddin

B. Kriteria Eksklusi

- Alat bedah yang tidak disterilisasi.

2.3.2. Teknik Pengambilan Sampel

Teknik pengambilan sampel pada penelitian ini dilakukan dengan metode *purposive sampling* yaitu pengambilan sampel sesuai dengan kriteria inklusi.

2.4. Materi Penelitian

2.4.1 Isolat *Enterobacter hormaechei*

Isolat *Enterobacter hormaechei* didapatkan dari hasil swab alat bedah steril di Rumah Sakit Hewan Universitas Hasanuddin kemudian swab alat bedah tersebut diidentifikasi dengan alat VITEK MS menggunakan metode MALDI-TOF MS. Hasil identifikasi bakteri tersebut kemudian dilakukan uji sensitivitas antibiotik menggunakan metode *disk diffusion*.

2.4.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain alat bedah steril (gunting tajam-tumpul lurus, gunting tajam-tajam lurus, *needle holder*, pinset anatomis, *scalpel*), *aluminium foil*, autoklaf, bak instrumen, bunsen, *erlenmeyer*, *doek clamp* (kontrol negatif), sarung tangan, inkubator, jangka sorong digital, lidi kapas steril, mesin Maldi-TOF MS, ose, *petri dish*, rak, dan tabung reaksi.

2.4.3 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain akuades, *antibiotic disc Oxoid* (*Amoxicillin*, *Cefixime*, *Ceftazidime*, *Ciprofloxacin*, *Levofloxacin*), *Blood Agar*, Isolat bakteri *Enterobacter hormaechei*, *Mueller-Hinton Agar*, dan *Nutrient Agar*.

2.5. Variabel Penelitian

- A. Variabel Bebas
Diameter hambat yang terbentuk dilihat dari zona bening di sekitarnya.
- B. Variabel Terikat
 - Pemberian antibiotika *Amoxicilin* dengan konsentrasi 25 mcg pada isolat bakteri *Enterobacter hormaechei*
 - Pemberian antibiotika *Ciprofloxacin* dengan konsentrasi 5 mcg pada isolat bakteri *Enterobacter hormaechei*
 - Pemberian antibiotik *Cefotaxime* dengan konsentrasi 5 mcg pada isolat bakteri *Enterobacter hormaechei*
 - Pemberian antibiotik *Levofloxacin* dengan konsentrasi 5 mcg pada isolat bakteri *Enterobacter hormaechei*
 - Pemberian antibiotik *Ceftazidime* dengan konsentrasi 30 mcg pada isolat bakteri *Enterobacter hormaechei*

2.6 Prosedur Penelitian

2.6.1 Sterilisasi Alat

Prosedur penelitian diawali dengan sterilisasi alat bedah yang akan digunakan agar mikroorganisme seperti jamur, bakteri, virus, dan prion secara efektif terbunuh dari permukaan dan sudut masing-masing alat bedah. Alat-alat bedah yang akan digunakan dicuci terlebih dahulu menggunakan air mengalir dan sabun lalu dikeringkan dan dibungkus dengan *aluminium foil* kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf untuk dilakukan sterilisasi selama 5 menit dengan suhu 121°C (Febriyanti et al., 2025). Setelah disterilisasi, alat bedah steril dibungkus menggunakan *aluminium foil* dan diletakkan di bak instrumen lalu dibawa ke Laboratorium Kesehatan Masyarakat Makassar untuk diidentifikasi menggunakan mesin MALDI-TOF MS.

2.6.2 Prosedur Pembiakan

Alat bedah yang sudah disterilisasi masing-masing di *swab* lalu ditumbuhkan pada media *Blood Agar* untuk mengetahui apakah ada bakteri yang tumbuh lalu diinkubasi selama 24 jam menggunakan inkubator. Setelah 24 jam, sampel kemudian di kultur kembali di media *blood agar* untuk memperoleh koloni murni yang nantinya akan diidentifikasi di mesin MALDI-TOF MS (Febriyanti et al., 2025).

2.6.3 Uji Resistensi Antibiotika

A. Pembuatan Media *Mueller-Hinton Agar*

Pembuatan media ini dimulai dengan menyiapkan bubuk *Mueller-Hinton Agar* lalu ditimbang sesuai dengan kebutuhan. Setelah ditimbang, bubuk dimasukkan ke dalam *erlenmeyer* dan dilarutkan dengan akuades menggunakan *hot plate* dengan suhu 180°C selama 15 menit. Hasil larutan disterilkan menggunakan autoklav dengan suhu 121°C C selama 20 menit dengan tekanan 1 atmosfer. Selanjutnya, media dituang ke dalam cawan petri dan dibiarkan mengeras dalam suhu ruangan (Nurhayati et al., 2020).

B. Uji Resistensi Bakteri Metode *Disk Difusion*

Ambil 3-5 koloni bakteri *Enterobacter hormaechei* yang tumbuh pada media biakan dengan menggunakan ose dan dimasukkan ke dalam cairan NaCl 0,9% ($\pm$ 5 ml) lalu disesuaikan dengan standar kekeruhan 0,5 Mc Farlan. Suspensi kuman 1cc disebar secara merata pada permukaan media *Mueller-Hinton Agar*. Letakkan 5 disk antibiotik yang akan diuji pada media *Mueller-Hinton Agar* dengan diberikan sedikit penekanan menggunakan pinset agar melekat dengan baik. Setelah itu, cawan petri dimasukkan secara terbalik ke dalam inkubator secara dengan suhu 37°C selama 24 jam. Zona hambatan pertumbuhan bakteri yang terbentuk diamati dan diukur menggunakan jangka sorong digital dalam satuan milimeter (mm) setelah 24 jam menggunakan kriteria NCLSI untuk menentukan apakah bakteri tersebut sensitif, intermediet, atau resisten (Nurhayati et al., 2020).



Gambar 3 Metode Difusi Menggunakan Disk Antibiotik (Nurhayati *et al.*, 2020).

2.7. Cara Pengolahan Data dan Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian ini adalah jenis-jenis bakteri gram negatif yang resisten terhadap pemberian antibiotik tertentu serta diameter zona hambat yang terbentuk. Hasil pengukuran dari zona hambat yang terbentuk akan diukur menggunakan standar CSLI (*Clinical Laboratory Standard*) untuk menentukan sifat zona hambatnya. Lalu selanjutnya data-data ini akan disajikan dalam bentuk tabulasi dan dianalisis secara kualitatif (Nurhayati *et al.*, 2020).

2.8. Alur Penelitian

