

**IDENTIFIKASI BAKTERI *Escherichia coli* PENGHASIL  
ESBL DI RUANG IGD RSUD NAIBONAT KABUPATEN  
KUPANG TAHUN 2019**

**KARYA TULIS ILMIAH**

*Usulan Karya Tulis Ilmiah ini diajukan untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam menyelesaikan program pendidikan Ahli Madya Analisis Kesehatan*



**Oleh :**

**Atria Larasati**

**PO.530 3333 16 055**

**PROGRAM STUDI ANALIS KESEHATAN  
POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES KUPANG  
2019**

**LEMBAR PERSETUJUAN**

**KARYA TULIS ILMIAH**

**IDENTIFIKASI BAKTERI *Escherichia coli* PENGHASIL  
ESBL DI RUANG IGD RSUD NAIBONAT KABUPATEN  
KUPANG TAHUN 2019**

Oleh :

**Atria Larasati  
PO. 530 3333 16 055**

**Telah disetujui untuk mengikuti Ujian Karya Tulis Ilmiah**

**Pembimbing**



**Ni Made Susilawati, S.Si., M.Si**

**NIP. 197707301996032001**

**LEMBAR PENGESAHAN**  
**KARYA TULIS ILMIAH**  
**IDENTIFIKASI BAKTERI *Escherichia coli* PENGHASIL**  
**ESBL DI RUANG IGD RSUD NAIBONAT KABUPATEN**  
**KUPANG TAHUN 2019**

Oleh :

**Atria Larasati**

**PO. 530 3333 16 055**

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji

Pada tanggal, 28 Mei 2019

Susunan Tim Penguji

1. **Adrianus Ola Wuan, S.Si., M.Sc**

: .....  


2. **Ni Made Susilawati, S.Si., M.Si**

: .....  


Karya Tulis Ilmiah ini telah diterima sebagai salah satu persyaratan untuk  
memperoleh gelar Ahli Madya Analisis Kesehatan

Kupang, .....2019

Ketua Jurusan Analisis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Kupang

**Agustina W. Djuma, S.Pd., M.Sc**

**NIP. 197308011993032001**

## **PERNYATAAN KEASLIAN KTI**

Yang bertanda tangan dibawah ini

Nama : Atria Larasati

Nomor Induk Mahasiswa : PO. 530 3333 16 055

Dengan ini saya menyatakan bahwa Karya Tulis Ilmiah ini tidak terdapat Karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka

Kupang, Mei 2019

Yang Menyatakan

Atria Larasati

## KATA PENGANTAR

Puji Syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa karena hanya atas kasih dan penyertaan-Nya sehingga penulis diberikan hikmat untuk menyusun dan menyelesaikan Proposal Karya Tulis Ilmiah ini dengan judul **“IDENTIFIKASI BAKTERI *Escherichia coli* PENGHASIL ESBL DI RUANG IGD RSUD NAIBONAT KABUPATEN KUPANG TAHUN 2019”**.

Penulisan Proposal Karya Tulis Ilmiah ini dibuat atas inisiatif penulis sebagai wahana aplikasi dari ilmu yang diperoleh selama perkuliahan. Disamping itu untuk memenuhi tuntutan akademis bahwa sebagai mahasiswa jurusan Analis Kesehatan tingkat akhir (III) diwajibkan menyusun Karya Tulis Ilmiah.

Karya Tulis Ilmiah ini bisa diselesaikan tidak terlepas dari bantuan dan kerjasama dari berbagai pihak baik langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Ibu R.H. Kristina, S.KM.,M.Kes selaku Direktur Politeknik Kesehatan Kemenkes Kupang.
2. Ibu Agustina W. Djuma, S.Pd.,M.Sc selaku Ketua Jurusan Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Kemenkes Kupang.
3. Ibu Ni Made Susilawati, S.Si.,M.Si selaku pembimbing yang dengan penuh ketulusan telah membimbing dan mengarahkan penulis dalam menyelesaikan penyusunan Proposal Karya Tulis Ilmiah ini.
4. Bapak Adrianus Ola Wuan, S.Si.,M.Sc selaku penguji I yang dengan penuh kesabaran telah mengoreksi penulisan Proposal.
5. Bapak Wilhelmus Olin, S.F.,M.Sc.,Spt selaku pembimbing akademik yang selalu memberikan bimbingan selama penulis menempuh pendidikan di Jurusan Analis Kesehatan
6. Ayah tercinta Adman S. Esmirhan dan Ibu Sulastri L. tercinta yang selalu mendoakan dan mendukung penulis.

7. Adik tercinta Akbar Putra Ramadhan yang selalu mendukung penulis.
8. Squad Cindur Allung, dan Yonas Manao yang membantu penulis selama penelitian , setia memberikan masukan dan saran untuk penulis.
9. Assyifa, Dian, Neli, Antonetha, dan Natalia Payon,“Sianida Squad” yang selalu mendukung penulis.
10. Fehling AK 08 Tingkat IIIB yang telah menemani penulis selama menempuh pendidikan di Jurusan Analis Kesehatan.
11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan penyusunan Proposal Karya Tulis Ilmiah ini.

Akhirnya penulis menyadari bahwa penulisan Proposal Karya Tulis Ilmiah ini masih jauh dari kesempurnaan untuk itu kritik dan saran demi penyempurnaan Karya Tulis Ilmiah ini sangat penulis harapkan.

Kupang, Mei 2019

Penulis

# DAFTAR ISI

Hal

HALAMAN JUDUL.....	
LEMBAR PERSEUJUAN .....	
LEMBAR PENGESAHAN .....	
PERNYATAAN KEASLIAN .....	
KATA PENGANTAR .....	
INTISARI .....	
DAFTAR ISI.....	
DAFTAR TABEL.....	
DAFTAR GAMBAR .....	
DAFTAR LAMPIRAN.....	
BAB I. PENDAHULUAN.....	
A. Latar Belakang .....	
B. Rumusan Masalah .....	
C. Tujuan Penelitian .....	
D. Manfaat Penelitian .....	
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	
A. Definisi Ruang IGD .....	
B. Bakteri <i>Escherichia coli</i> .....	
C. Antibiotik .....	
D. Antibiotik $\beta$ - Laktam.....	
E. Resistensi antibiotik .....	
F. Extended Spectrum $\beta$ -Laktamase .....	
BAB III. METODE PENELITIAN.....	
A. Jenis Penelitian .....	
B. Tempat dan Waktu Penelitian.....	
C. Variabel Penelitian .....	

D. Populasi .....	
E. Sampel dan Teknik Sampling .....	
F. Defenisi Operasional .....	
G. Prosedur penelitian .....	
H. Analisis Data .....	
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN .....	
DAFTAR PUSTAKA .....	
LAMPIRAN .....	

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Definisi Operasional .....
Tabel 2. Hasil Kultur pada Media MCA .....
Tabel 3. Hasil Kultur pada Media EMBA .....
Tabel 4. Hasil Pewarnaan Gram .....
Tabel 5. Uji IMVIC .....
Tabel 6. Uji TSIA .....

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Bakteri <i>E. coli</i> .....
Gambar 2. Hasil pertumbuhan bakteri pada media .....
Gambar 3. Hasil Uji Indol .....
Gambar 4. Hasil Uji Metil Red .....
Gambar 5. Hasil Uji Voges Proskauer .....
Gambar 6. Hasil Uji Simon Citrat .....
Gambar 7. Hasil Uji TSIA .....

## **DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran 1. Skema Kerja .....
Lampiran 2. Pembuatan Media .....
Lampiran 3. CLSI 2016 .....
Lampiran 4. Pengambilan dan Penanaman Sampel .....
Lampiran 5. Hasil Kultur Bakteri, Pewarnaan Gram dan Uji Biokimia .....

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Antibiotik merupakan zat-zat kimia yang diproduksi oleh fungi dan bakteri, yang berkhasiat untuk menghambat kuman atau mematikan dengan toksisitas yang relatif kecil (Ambada,2013). Salah satu antibiotik yaitu golongan  $\beta$ -Laktamase meliputi golongan karbapenem, golongan sefalosporin, golongan beta lactam dan golongan penisilin. Resistensi antibiotik  $\beta$ -Laktamase pada umumnya terjadi pada bakteri Gram negatif (Febiana, 2012).

Resistensi bakteri terhadap antimikroba (disingkat : resistesi antimikroba) telah menjadi masalah kesehatan yang mendunia , karena menyulitkan terapi penderita dengan antibiotik pada penyakit infeksi sebagai dampak yang merugikan karena dapat menurunkan mutu pelayanan kesehatan (Wahjono., 2007). Penderita yang dirawat di rumah sakit dalam jangka panjang semakin banyak sehingga pajanan terhadap antibiotik semakin bertambah dan meningkatkan resistensi terhadap antibiotik. Selain itu sekitar 40-62% antibiotik digunakan secara tidak tepat untuk penyakit yang sebenarnya tidak memerlukan antibiotik. Pada penelitian di berbagai rumah sakit ditemukan sebanyak 30-80 % penggunaan antibiotik tidak berdasarkan indikasi. Untuk mengurangi resistensi, pemilihan antibiotik baru harus berdasarkan informasi spektrum bakteri penyebab infeksi dan pola kepekaan terhadap antibiotik (Hayati, dkk., 2012).

Bakteri yang memproduksi ESBL perlu diwaspadai karena ESBL diproduksi oleh gen yang berlokasi pada plasmid, yang dengan mudahnya dapat berpindah ke bakteri lain, dan sering kali juga membawa gen resisten terhadap antibiotika lain sehingga sulit mencari terapi lain. Kondisi ini menyebabkan kejadian infeksi oleh bakteri penghasil ESBL sangat bervariasi pada satu negara ke negara lain dan dari satu kota dengan kota lain di Indonesia mencapai 23,3 % (Warganegara dan Apriliana, 2014).

*Escherchia coli* termasuk patogen oportunistik yang selalu menunjukkan peningkatan resistensi terhadap berbagai antibiotik. *E. coli* merupakan salah satu penyebab munculnya ESBL. Enzim ESBL yang dihasilkan oleh *E. coli* mampu menghidrolisis antibiotik spektrum luas dari golongan sefalosporin, penisilin dan monobaktam seperti aztreonam, tetapi tidak aktif terhadap cephameycin dan imipenem dan biasanya dapat dihambat oleh inhibitor  $\beta$ -Laktamase seperti asam klavulanat (Moewardi., 2012). Berkembangnya *E. coli* yang memproduksi ESBL dapat terjadi karena gen pengkode ESBL terletak pada plasmid, yang sering didapat melalui transfer informasi genetic dari satu bakteri ke bakteri lain. Plasmid tersebut ternyata juga sering mengkode resistensi terhadap antimikroba lain. Sehingga resistensi multidrug diperkirakan menjadi lebih sering pada mikroorganisme penghasil ESBL yang diperantarai oleh plasmid (Warganegara dan Apriliana, 2014).

Rumah Sakit Umum Naibonat adalah Rumah Sakit milik Pemerintah Kabupaten Kupang, yang merupakan tempat rujukan bagi puskesmas yang ada di Kabupaten Kupang, Ruang IGD adalah tempat yang akan menerima pasien yang datang ke rumah

sakit dalam kondisi darurat. Ruang ini adalah ruangan yang paling sering dikunjungi oleh pasien saat datang ke rumah sakit baik dalam keadaan darurat. Oleh karena itu ruangan ini termasuk ruangan dengan tingkat penyebaran bakteri yang tinggi.

Berdasarkan uraian diatas perlu dilakukan penelitian untuk mengidentifikasi bakteri khususnya Bakteri *E. coli* di ruangan IGD dengan judul “ IDENTIFIKASI BAKTERI *E. coli* PENGHASIL ESBL DI RUANG IGD RSUD NAIBONAT KABUPATEN KUPANG TAHUN 2019”

## **B. Rumusan Masalah**

Apakah ada bakteri *E. coli* penghasil *ESBL* ( *Extended Spectrum  $\beta$ -Laktamase* ) di ruangan IGD RSUD Naibonat Kabupaten Kupang ?

## **C. Tujuan Penelitian**

### **1. Tujuan Umum**

Mengetahui adanya bakteri *E. coli* penghasil ESBL di ruangan IGD RSUD Naibonat Kabupaten Kupang ?

### **2. Tujuan Khusus**

- a. Mengetahui karakteristik bakteri *Eschericia coli* penghasil ESBL.
- b. Mengetahui gambaran bakteri *E. coli* penghasil ESBL diruang IGD.

## **D. Manfaat Penelitian**

### **1. Bagi Peneliti**

- a. Menambah wawasan mengenai bakteri *E. coli* penghasil ESBL.
- b. Sebagai sarana dalam melatih kemampuan menulis dan berpikir ilmiah.
- c. Sebagai sarana penerapan ilmu khususnya dalam bidang mikrobiologi yang didapat selama menempuh pendidikan di Politeknik Kesehatan Kemenkes Kupang Prodi Analis Kesehatan.

### **2. Bagi Institusi**

Sebagai referensi untuk peneliti selanjutnya khususnya mahasiswa Jurusan Analis Kesehatan.

### **3. Bagi Rumah Sakit terkait**

Sebagai sumber informasi mengenai gambaran bakteri *E. coli* penghasil ESBL diruangan IGD.

## **BAB II**

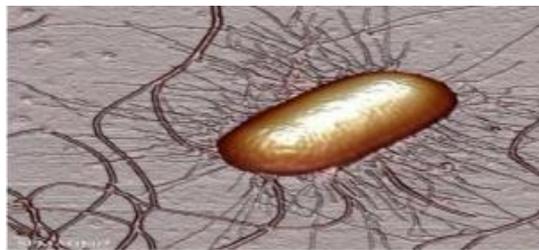
### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Ruang IGD**

Instalasi gawat darurat adalah salah satu bagian rumah sakit yang menyediakan penanganan dan awal bagi pasien yang menderita sakit dan cedera, yang dapat mengancam kelangsungan hidupnya. Instalasi gawat darurat merupakan unit rumah sakit yang mempunyai tugas menyelenggarakan pelayanan medis dan asuhan keperawatan sementara serta pelayanan pembedahan darurat bagi pasien yang datang dengan gawat darurat medis (Kemenkes, 2016).

#### **B. Bakteri *Escherichia coli***

##### **1. Klasifikasi Bakteri *Escherichia coli***



Gambar 1. *Escherichia coli* (M. Sari, 2015)

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Filum	: <i>Proteobacteria</i>
Kelas	: <i>Gamma Proteobacteria</i>

Ordo	: <i>Enterobacteriales</i>
Family	: <i>Enterobacteriaceae</i>
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i> (M. Sari, 2015)

## 2. Morfologi Bakteri *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif. Bakteri *E. coli* berbentuk bulat cenderung ke batang panjang. Bentuk batang biasanya berukuran panjang 2,2  $\mu\text{m}$  dan diameter 0,8  $\mu\text{m}$  (Melliawati, 2009) bakteri ini tidak mempunyai nukleus, organel terbungkus membran maupun sitoskeleton. *E. coli* memiliki organel eksternal yakni pili yang merupakan filament tipis untuk menangkap substrat spesifik dan flagel yang merupakan filament tipis dan lebih panjang untuk berenang. Pembiakkan bakteri *E. coli* bersifat aerob atau anaerob fakultatif, pertumbuhan optimum pada suhu 37°C (Hendrayati., 2012). Bakteri *E. coli* tumbuh baik pada hamper semua media yang biasa dipakai di laboratorium mikrobiologi, pada media yang dipergunakan untuk isolasi kuman enteric, sebagian besar strain *E. coli* tumbuh sebagai koloni yang meragi laktosa. *E. coli* juga bersifat aerofilik (Mulyati, 2009).

## 3. Struktur Antigenik

*Escherichia coli* mempunyai 3 jenis antigen yaitu antigen O (polisakarida), antigen K (kapsular), dan antigen H (flagella). Antigen O

merupakan antigen somatik berada dibagian terluar dinding sel lipopolisakarida dan terdiri dari unit berulang polisakarida. Antibodi terhadap antigen O adalah IgM. Antigen K adalah antigen polisakarida yang terletak di kapsul (Dewi, 2010). Antigen somatik (O) bersifat tahan panas, antigen permukaan (K) bersifat tidak tahan panas. Antigen O tahan terhadap panas dan alkohol dan biasanya dideteksi dengan aglutinasi bakteri. Antigen K berada diluar antigen O. antigen K dapat mengganggu aglutinasi melalui antiserum O dan dapat berhubungan dengan virulensi, antigen H terletak pada flagel dan didenaturasi atau dirusak oleh panas atau alkohol. Antigen H dipertahankan dengan memberikan formalin (Wulandari, 2014).

#### **4. Patogenisitas *Escherichia coli***

*Escherichia coli* dapat dikelompokkan berdasarkan karakteristik virulensinya, sehingga dapat menyebabkan penyakit dengan mekanisme yang berbeda. Sifat perlekatan pada sel epitel usus kecil atau besar dipengaruhi oleh gen dan plasmid. Sama halnya dengan toksin yang merupakan plasmid atau *phage mediated*. *E. coli* yang dapat berhubungan dengan penyakit terdapat lima golongan yaitu *Enteropathogenic Escherichia coli (EPEC)*, *Enterotoxigenic Escherichia coli (ETEC)*, *Enterohaemorrhagic Escherichia coli (EHEC)*, *Enteroinvasive Escherichia coli (EIEC)*, dan *Enteroadhesive Escherichia coli (EAEC)* (Soleha, 2013).

a) *Enteropathogenic Escherichia coli (EPEC)*

EPEC merupakan bakteri utama yang menyebabkan diare pada bayi, terutama di negara berkembang. Ketika berada didalam usus, bakteri ini akan menempel kuat pada mukosa usus, kemudia terjadi penghancuran microvillus sehingga bakteri ini dapat masuk ke dalam sel yang ada di mukosa usus. Gejala yang ditimbulkan dari infeksi EPEC antara lain diare berair atau encer (*watery diarrhea* ) yang umumnya dapat sembuh dengan sendirinya namun, pada kondisi tertentu dapat berkembang menjadi infeksi kronis (Paramesti, 2014).

EPEC memiliki fimbria toksin yang tahan panas (ST), dan toksin yang tidak tahan panas (LT), serta menggunakan *ahesin*, yang dikenal dengan intimin, untuk melekat pada mukosa usus (Radji, 2010).

b) *Enterotoxigenic Escherichia coli (ETEC)*

Enterotoksigenik menyebabkan diare pada orang yang sedang melakukan perjalanan. Waktu inkubasinya 8-24 jam dengan gejala yaitu diare, muntah-muntah, dan dehidrasi seperti kolera. Beberapa strain ETEC memproduksi eksotoksin yang sifatnya tidak tahan terhadap panas (LT) berada dibawah kendali genetik plasmid dan toksin yang stabil terhadap panas (ST) berada dibawah kendali kelompok plasmid heterogen. Infeksi ETEC dapat mengakibatkan gejala sakit perut, kadang disertai demam, muntah, dan pada feses ditemukan darah (Lusiana, 2018).

c) *Enterohaemorrhagic Escherichia coli (EHEC)*

Jenis bakteri ini menghasilkan suatu toksin yang dikenal dengan verotoksin (Radji, 2010). *E. coli* O157:H7 adalah kelompok utama enterohemoragik yang dapat menimbulkan penyakit haemorrhagic colitis yang ditandai dengan diare berdarah dan hemolitik uremik sindrom (HUS) yaitu infeksi saluran kencing. Strain EHEC memiliki faktor virulensi intimin yang berperan dalam proses penempelan dan pelekatan pada sel epitel saluran pencernaan yang memproduksi hemolisin sehingga menimbulkan diare berdarah (Bonyadian et al., 2010). Infeksi *E.coli* O157:H pada manusia bersifat verotoksigenik telah menyebabkan 16.000 kasus penyakit melalui makanan (*Food Borne Diseases*) (Bakri, dkk., 2015).

d) *Enteroinvasive Escherichia coli (EIEC)*

Menyebabkan penyakit yang sangat mirip dengan shigelosis. Penyakit tersebut paling umum terjadi pada anak-anak di negara berkembang dan pada turis yang bepergian ke daerah tersebut. Seperti *Shigella*, galur EIEC bersifat non motil dan tidak memfermentasi atau lambat memfermentasi laktosa. EIEC menyebabkan penyakit dengan cara menginvasi sel mukosa usus (Brooks, dkk., 2016).

e) *Enteroagregative Escherichia coli (EAEC)*

Menyebabkan diare akut dan kronik (durasi > 14 hari ) pada masyarakat di negara berkembang. Organisme ini juga merupakan penyebab penyakit yang ditularkan melalui makanan di negara maju. Galur *E. coli* ini ditandai oleh pola perlekatannya yang khas pada sel manusia. EAEC menghasilkan toksin mirip ST dan hemolisin (Brooks, dkk., 2016).

### C. Antibiotik

Antibiotik atau antibiotika merupakan golongan senyawa alami atau sintetis yang memiliki kemampuan untuk menekan atau menghentikan proses biokimiawi didalam suatu organisme, khususnya proses infeksi bakteri (Utami, 2012). Pengobatan terhadap serangan infeksi bakteri dapat dilakukan dengan penggunaan antibakteri atau antibiotik (Fatima, 2013). Antibiotik memiliki cara kerja yang berbeda-beda dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Klasifikasi berbagai antibiotik dibuat berdasarkan mekanisme kerja yaitu :

- 1) Menghambat sintesis atau merusak dinding sel bakteri, seperti  $\beta$  – Laktam (penisilin, sefalosporin, monobaktam, karbapenem, inhibitor  $\beta$  – Laktamase), basitrasin, dan vankomisin.
- 2) Memodifikasi atau menghambat sintesis protein, misalnya aminoglikosid, kloramfenikol, tetrasiklin, makrolida ( eritromisin, azitromisin, klaritromisin), klindamisin, mupirosin, dan spektinomisin.

- 3) Menghambat enzim-enzim esensial dalam metabolisme folat, misalnya trimetoprim dan sulfonamide.
- 4) Mempengaruhi sintesis atau metabolisme asam nukleat, misalnya kuinolon, nitrofurantoin (Kemenkes, 2016).

#### **D. Antibiotik Golongan $\beta$ - Laktam**

Antibiotik  $\beta$  – Laktam terdiri dari berbagai golongan obat yang mempunyai struktur cincin  $\beta$  – Laktam, yaitu penisilin, sefalosporin, monobaktam, karbapenem, dan inhibitor  $\beta$  – Laktamase. Obat-obatan antibiotik  $\beta$  – Laktam umumnya bersifat bakterisid, dan sebagian besar efektif terhadap organisme Gram positif dan negatif. Antibiotik  $\beta$  – laktam mengganggu sintesis dinding sel bakteri, dengan menghambat langkah terakhir dalam sintesis peptidoglikan, yaitu heteropolimer yang memberikan stabilitas mekanik pada dinding sel bakteri (Kemenkes, 2016).

Mekanisme enzim  $\beta$ -laktamase dalam menghancurkan cincin  $\beta$  – Laktam terbagi dua, yaitu :

1. Sebagian besar  $\beta$ -laktamase mempunyai gugus serin pada sisi aktifnya, kemudian dibagi dalam kelas A, C, dan D. Gugus serin ini akan berikatan irreversible dengan gugus karbonil karbon pada cincin  $\beta$  – Laktam sehingga cincin akan terbuka (inaktif). Enzim  $\beta$ -laktamase jenis ini efektif dalam menghambat penisilin, sefalosporin, dan monobaktam.

2. Sebagian kecil  $\beta$ -laktamase mengandung gugus logam yang disebut metallo- $\beta$ -laktamase (kelas B). Enzim  $\beta$ -laktamase jenis ini efektif pada penisilin, sefalosporin, dan karbapenem tetapi tidak efektif pada monobaktam (Triana, 2014)

### 1. Klasifikasi Antibiotik $\beta$ -Lactam :

a) Penisilin diklasifikasikan berdasarkan spektrum aktivitas antibiotiknya :

- 1) Penisilin G dan penisilin V sangat aktif terhadap kokkus Gram positif, tetapi cepat dihidrolisis oleh penisilinase atau  $\beta$  – Laktamase, sehingga tidak efektif terhadap *Staphylococcus aureus*.
- 2) Penisilin yang resisten terhadap  $\beta$  – Laktamase / penisilinase (metisilin, nafsilin, oksasilin, kloksasilin, dan dikloksasilin) merupakan obat pilihan utama untuk terapi *Staphylococcus aureus* yang memproduksi penisilinase. Aktivitas antibiotik kurang poten terhadap mikroorganisme yang sensitif terhadap penisilin G.
- 3) Aminopenisilin ( ampisilin, dan amoksisilin) selain mempunyai aktivitas terhadap bakteri Gram-positif, juga mencakup mikroorganisme Gram negatif, seperti *Haemophilus influenza*, *Escherichia coli*, dan *Proteus mirabilis*. Obat-obat ini sering diberikan bersama inhibitor  $\beta$  – Laktamase ( asam klavulanat, sulbaktam, tazobaktam) untuk mencegah hidrolisis oleh  $\beta$  – Laktamase yang semakin banyak ditemukan pada bakteri Gram negatif ini.

- 4) Karboksipenisilin (karbenisilin, tiraksilin), antibiotik ini untuk *Pseudomonas*, *Enterobacter*, dan *Proteus*. Aktivitas antibiotik lebih rendah dibanding ampicilin terhadap kokkus Gram positif, dan kurang aktif dibanding piperasilin dalam melawan *Pseudomonas*. Golongan ini dirusak oleh  $\beta$  – Laktamase.
  - 5) Ureidopenisilin (mezlosilin, azlosilin, dan piperasilin), aktivitas antibiotik terhadap *Pseudomonas*, *Klebsiella*, dan Gram negatif lainnya. Golongan ini dirusak oleh  $\beta$  – Laktamase.
- b) Sefalosporin menghambat sintesis dinding sel bakteri dengan mekanisme serupa dengan penisilin. Sefalosporin diklasifikasikan berdasarkan generasinya :
- 1) Generasi I, antibiotik yang efektif terhadap Gram positif dan memiliki aktivitas sedang terhadap Gram negatif, misalnya sefaleksin, sefolatin, sefazolin, sefradin, sefadroksil).
  - 2) Generasi II, aktivitas terhadap Gram negatif yang lebih tinggi daripada generasi I, misalnya sefaklor, sefamandol, sefoksitin
  - 3) Generasi III, aktivitas kurang aktif terhadap kokkus Gram positif dibanding generasi I, tapi lebih aktif terhadap *Enterobacteriaceae*, termasuk strain yang memproduksi  $\beta$  – Laktamase, seftazidim dan sefooperazon juga aktif terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, tapi kurang aktif dibanding generasi III lainnya terhadap kokkuus Gram positif, misalnya sefotaksim, seftroakson, seftazidime.

- 4) Generasi IV, aktivitas lebih luas dibanding generasi III dan tahan terhadap  $\beta$  – Laktamase, misalnya sefepim, dan sefpirom.
- c) Monobaktam ( $\beta$  – Laktam monosiklik) contohnya aztreonam, aktif terutama terhadap bakteri Gram negatif. Aktivitas resisten terhadap  $\beta$  – Laktamase yang dibawa oleh bakteri Gram negatif. Aktivitasnya sangat baik terhadap *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenza*, dan *gonococcus*.
- d) Karbepenem merupakan antibiotik lini ketiga yang mempunyai aktivitas antibiotik yang lebih luas dari pada sebagian besar beta-laktam lainnya. Misalnya adalah imipenem, meropenem dan doripenem. Spektrum aktivitas menghambat sebagian besar Gram-positif, Gram-negatif, dan anaerob ketiganya sangat tahan terhadap  $\beta$  – Laktamase. Efek samping paling sering adalah mual dan muntah, dan kejang pada dosis tinggi yang diberi pada pasien dengan lesi SSP atau dengan insufisiensi ginjal. Meropenem dan doripenem mempunyai efikasi serupa imipenem, tetapi lebih jarang menyebabkan kejang.
- e) Inhibitor  $\beta$  – Laktamase, melindungi antibiotik  $\beta$  – Laktam dengan cara menginaktivasi  $\beta$  – Laktamase misalnya adalah asam klavulanat, sulbaktam dan tazobaktam (Kemenkes, 2016).

## **E. Resistensi Antibiotik**

Resistensi antibiotik adalah kemampuan bakteri untuk menetralkan dan melemahkan daya kerja antibiotik. Resistensi antibiotik memiliki satuan yang dinyatakan dalam KHM (Kadar Hambat Minimal) atau MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*). KHM adalah kadar terkecil dari antibiotik yang mampu menghambat tumbuh dan berkembangnya bakteri. Meningkatnya nilai KHM menggambarkan tahap awal menuju resistensi (Kemenkes, 2016).

Mekanisme utama dari populasi mikroba untuk bertahan hidup dalam situasi terancam adalah dengan cara mutasi genetik, ekspresi dari suatu gen resistensi yang laten, atau melalui gen yang memiliki determinan resistensi. Ketiga mekanisme ini dapat berada bersama-sama dalam suatu bakterium (Yenny dan Herwana, 2016).

## **F. *Extended Spectrum β-laktamase (ESBL)***

*Extended Spectrum β-laktamase* atau ESBL adalah enzim β-laktamase yang termutasi, menyebabkan peningkatan aktivitas enzimatik β-laktamase, sehingga enzim ini dapat menghidrolisis antibiotik golongan β-laktam. ESBL merupakan enzim β-laktamase golongan TEM. *Extended Spectrum β-laktamase* dapat menghidrolisis antibiotik golongan β – Laktam spektrum lebar seperti misalnya *extended spectrum cephalosporin* yang mengandung grup oxymino. ESBL ini dapat dinaktivasi oleh inhibitor β-laktamase seperti asam klavulanat (Warganegara dan Apriliana, 2014).

## **G. Mekanisme Resistensi**

Mekanisme utama resistensi bakteri terhadap kelas antibiotik  $\beta$  – Laktam terdiri dari produksi  $\beta$  – Laktam, yang bersifat hidrolitik enzim dengan kemampuan untuk menonaktifkan antibiotik ini sebelum mencapai pengikat protein penisilin yang terletak di sitoplasma. *Extended spectrum  $\beta$ -laktamase* diklasifikasikan dalam molekul kelas A dan kelompok fungsional, dicirikan oleh kemampuan untuk menghidrolisis sebuah oxyimino-  $\beta$  – Laktam pada tingkat 10% (Thomsom, 2010).

Mekanisme resistensi terhadap antibiotika  $\beta$  – Laktam selain dipengaruhi oleh pembentukan enzim ESBL, dapat disebabkan oleh penetrasi yang kurang pada bakteri, pengurangan afinitas target obat dengan substitusi asam amino yang terjadi pada bakteri Gram negatif, penurunan permeabilitas karena mutase atau pengurangan dari pembentukan porin yang terdapat pada bakteri Gram negatif, berkurangnya PBP terhadap obat yang spesifik dan gagalnya aktivitas enzim autolitik dalam dinding sel (Nurmala, dkk., 2015).

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dengan desain *cross-sectional*.

#### **B. Tempat dan Waktu Penelitian**

##### 1. Tempat

Pengambilan sampel dilakukan di ruang IGD RSUD Naibonat Kabupaten Kupang. Pemeriksaan kepekaan kuman dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Prodi Analisis Kesehatan.

##### 2. Waktu

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan April - Mei 2019

#### **C. Variabel Penelitian**

Variabel yang ada dalam penelitian ini adalah variabel tunggal yaitu bakteri Gram negatif yang diisolasi dari ruangan IGD RSUD Naibonat Kabupaten Kupang.

#### **D. Populasi**

Populasi penelitian adalah bakteri Gram negatif yang diisolasi dari sampel swab peralatan medis.

## E. Sampel dan Teknik Sampling

### 1. Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah bakteri Gram Negatif khususnya *Escherichia coli*.

### 2. Teknik Sampling

Cara atau teknik sampling sampel yaitu *Accidental sampling* yaitu semua sampel swab yang dapat dijangkau dalam melakukan pengambilan sampel.

## F. Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Skala	Hasil Pengukuran
1.	Bakteri Gram Negatif	Bakteri yang secara mikroskopis berbeda dengan bakteri Gram positif	Nominal	Positif = bakteri berwarna merah Negatif = berwarna ungu
2.	<i>Escherichia coli</i>	Bakteri gram negatif family <i>Enterobacteriaceae</i> yang diidentifikasi melalui sampel	Nominal	Positif = berbentuk batang pendek berwarna merah Negatif = berbentuk basil atau coccus, tidak berwarna merah.
3.	Kultur MCA	Uji yang dilakukan Media selektif untuk pertumbuhan mikroba. Bakteri target untuk media ini yaitu <i>Escherichia coli</i>	Nominal	Positif = bakteri membentuk koloni sedang, berwarna merah bata dan dikelilingi zona keruh Negatif = koloni bakteri tidak berukuran sedang, tidak berwarna merah

					bata dan tidak dikelilingi zona keruh
4.	Kultur EMBA	Media	Uji ini menggunakan media selektif khusus untuk menumbuhkan bakteri gram negatif khususnya spesies bakteri <i>Escherichia coli</i>	Nominal	Positif = koloni sedang, smooth, keping, kehijau-hijauan-hitam, metalik  Negatif = koloni tidak sedang, tidak smooth dan keping serta tidak muncul warna koloni kehijau-hijauan-hitam metalik
5	Uji IMVIC		Uji yang dilakukan untuk melihat sifat biokimia dan reaksi enzimatik yang dihasilkan oleh bakteri Gram negatif	Nominal	Hasil <i>Escherichia coli</i> = Indol = positif, membentuk warna merah. MR = positif, membentuk warna merah VP = (-) Citrat = negatif, tidak terjadi perubahan warna pada media
6	Uji TSIA		Untuk melihat produksi H <sub>2</sub> S serta fermentasi laktosa dan sukrosa oleh bakteri Gram negatif	Nominal	Positif = lereng dan dasar terjadi perubahan warna, media menjadi pecah atau terangkat serta terbentuk H <sub>2</sub> S
7	Screening ESBL	test	Uji awal bakteri Gram negatif yang resisten dengan antibiotik ceftriaxone jika diameternya ≤ 25 mm dan cefotaxime yang dicurigai sebagai ESBL jika diameternya ≤ 27 mm	Nominal	ESBL positif : bakteri dengan zona berdiameter ≤ 25 mm untuk ceftriaxone dan zona berdiameter ≤ 27 mm untuk cefotaxime ESBL Negatif: bakteri membentuk diameter ≥ 25 mm untuk ceftriaxone dan ≥ 27 mm untuk cefotaxime.

8	DDST ( <i>Double Disk Sinergy Test</i> )	Tes penegakkan atau konfirmasi bakteri Gram negatif yang resisten terhadap antibiotik ceftriaxone dan cefotaxime serta amoxiclav sebagai uji penentu bakteri Gram negatif penghasil ESBL	Nominal	ESBL positif : terbentuknya zona hambat yang membentuk <i>key hole</i> ESBL Negatif : tidak terbentuk zona hambat yang membentuk <i>key hole</i>
---	--	--	---------	---

## G. Prosedur Penelitian

### 1. Alat

- a. Autoclave
- b. Batang pengaduk
- c. Bunsen
- d. Beaker glass
- e. Cawan petri
- f. Erlenmeyer
- g. Gelas ukur
- h. Hot plate
- i. Incubator
- j. Kertas perkamen
- k. Mikroskop
- l. Neraca analitik
- m. Objek glass
- n. Ose steril

- o. Rak pewarnaan
- p. Rak tabung
- q. Swab steril
- r. Sendok tanduk
- s. Tabung durham
- t. Tabung reaksi

## **2. Bahan**

- a. Aquadest
- b. Cat Gram (kristal violet, lugol , iodine, dan safranin)
- c. Larutan  $\alpha$ -naphthol
- d. Larutan KOH 40%
- e. Media MCA ( *Mac Conkey Agar* )
- f. Media gula-gula ( glukosa, laktosa,sukrosa, mannitol)
- g. Media MHA ( *Muller Hilton Agar* )
- h. Media uji biokomia ( Simon citrate, MRVP, TSIA)
- i. NaCl steril
- j. Reagen Kovack
- k. Standart kekeruhan McFarland 0,5 cfu

### 3. Prosedur Kerja

#### a. Isolasi bakteri dengan metode swab

1. Disiapkan lidi kapas yang steril, dimasukkan lidi kapas steril kedalam tabung yang berisi larutan saline steril.
2. Ditekan-tekan lidi kapas steril pada dinding tabung reaksi.
3. Dilakukan swab pada semua alat yang digunakan sebagai sampel dengan cara memutar 2-3 kali.
4. Sampel dibawa ke laboratorium untuk dilakukan identifikasi (Hayati dkk., 2012).

#### b. Identifikasi bakteri

1. Specimen ditanam pada media MCA dan EMBA, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37<sup>0</sup>C.
2. Dilihat pertumbuhan koloni bakteri dan dilakukan pencatatan.
3. Koloni bakteri yang dicurigai sebagai bakteri *Escherichia coli* pada media MCA dan EMBA, kemudian dimurnikan lagi dengan dilakukan penanaman pada media EMBA. Diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37<sup>0</sup>C. Dilihat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.
4. Dilakukan pewarnaan Gram terhadap koloni yang dicurigai bakteri *Escherichia coli*.
5. Hasil pengamatan secara mikroskopis, apabila menunjukkan ciri-ciri bakteri *Escherichia coli*, kemudian koloni bakteri dibuat suspense lalu dilanjutkan dengan uji IMVIC dan uji gula-gula (Hayati dkk., 2012).

### **c. Pewarnaan Gram**

1. Diambil objek glass yang bersih dan bebas lemak dan dibuat preparat dari biakan bakteri. Kemudian difiksasi preparat diatas api Bunsen dengan cara melewatkan diatas api Bunsen hingga kering.
2. Diteteska cat Gram A hingga menutupi seluruh permukaan preparat, diamkan selama 60 detik, dibilas dengan air mengalir.
3. Diteteskan cat Gram B hingga menutupi seluruh permukaan preparat kemudian diamkan selama 60 detik dan dicuci dengan air mengalir.
4. Diteteskan cat Gram C, kemudian diamkan selama 30 detik, dibilas dengan air mengalir.
5. Diteteskan cat Gram D, kemudian diamkan selama 60 detik, dibilas dengan air mengalir.
6. Preparat dikeringkan menggunakan tissue.
7. Preparat diteteskan 1 tetes minyak imersi, lalu diamati dibawah mikroskop dengan perbesar lensa obyektif 100X (Hayati dkk., 2012).

### **d. Uji biokimia**

1. Uji IMVIC ( Indol, MR-VP, Simon citrate )
  - a) Uji Indol
    - 1) Biakan bakteri dari media secara aseptis diinokulasi kedalam media SIM, kemudian di inkubasi selama 24 jam pada suhu 37<sup>0</sup>C.
    - 2) Ditambahkan reagen 3-4 kovack melalui dinding tabung reaksi.

3) Jika terbentuk cincin merah maka uji indol positif.

b) Uji MR ( Methyl Red )

1) Biakan bakteri dari media secara aseptis diinokulasikan ke dalam media MRVP, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37<sup>0</sup>C

2) Ditambahkan 2-3 tetes reagen MR.

3) Uji positif akan membentuk warna merah.

c) Uji VP ( Voges Praskauer )

1) Biakan bakteri secara aseptis dari media diinokulasikan kedalam media MRVP, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37<sup>0</sup>C.

2) Ditambahkan 2-3 tetes  $\alpha$ -naphtol 5% dan 3-4 tetes KOH 40%.

3) Uji positif akan membentuk warna merah.

d) Uji Simon citrate

1) Biakan bakteri dari media secara aseptis diinokulasikan kedalam media simon citrate, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37<sup>0</sup>C.

2) Uji positif ditandai dengan perubahan warna pada media dari warna hijau menjadi biru.

2. Uji TSIA ( Triple Sugar Iron Agar )

1) Biakan bakteri dari media secara aseptis diinokulasikan kedalam media TSIA.

- 2) Diambil 1 ose koloni bakteri ditanam dengan cara ditusuk ke dalam media kemudian diangkat dan digoreskan pada permukaan media TSIA, selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37<sup>0</sup>C.
- 3) Hasil uji positif akan terjadi perubahan warna pada media TSIA dibagian lereng dan dasar, terbentuknya H<sub>2</sub>S, serta media akan terangkat atau pecah.

**e. Uji Screening Metode Kirby Bauer ( Difusi Test )**

- 1) Dituangkan media MHA ( *Mueller Hilton Agar* ) ke cawan petri yang steril , kemudian dibiarkan sampai media MHA mengeras
- 2) Diambil 1 ujing ose koloni bakteri dari media, kemudian disuspensikan di dalam larutan NaCl 0,9%.
- 3) Disesuaikan suspense bakteri dengan standar kekeruhan McFarland 0,5 Cfu.
- 4) Kemudian dengan lidi kapas steril dicelupkan kedalam suspense dan diusapkan keseluruhan permukaan media MHA. Dibiarkan selama 5 menit agar kuman menempel pada media MHA.
- 5) Lalu diletakkan cakram antibiotika cefotaxime dan ceftriaxone dengan jarak 15 mm pada media yang telah ditanami suspense kuman.
- 6) Media ini diinkubasi selama 16-20 jam pada suhu 37<sup>0</sup>C

7) Daerah bening yang terbentuk disekitar cakram antibiotik diukur diameternya, sebagai daya hambat antibiotik terhadap pertumbuhan bakteri uji (Fatisa, 2013).

**f. Uji Konfirmasi Bakteri ESBL Metode DDST (*Double Disk Sinergy Test*)**

- 1) Dituangkan media MHA ( *Mueller Hilton Agar* ) ke cawan petri yang steril , kemudian dibiarkan sampai media MHA mengeras.
- 2) Diambil 1 ujing ose koloni bakteri dari media, kemudian disuspensikan di dalam larutan NaCl 0,9%.
- 3) Disesuaikan suspense bakteri dengan standar kekeruhan McFarland 0,5 Cfu.
- 4) Kemudian dengan lidi kapas steril dicelupkan kedalam suspense dan diusapkan keseluruh permukaan media MHA. Dibiarkan selama 5 menit agar kuman menempel pada media MHA.
- 5) Diletakkan cakram antibiotik cefotaxime dan amoxicilin asam klavulanat secara sejajar dengan jarak 15 mm pada media yang telah ditanami bakteri.
- 6) Bakteri sampel adalah penghasil ESBL, jika terjadi peningkatan zona hambat dari disk antibiotik cefotaxime dan ceftriaxone ke arah disk yang mengandung amoxicilin asam klavulanat.
- 7) Diinkubasi selama 16-20 jam pada suhu 37<sup>0</sup>C.

8) Diukur zona bening yang terbentuk dalam satuan mm (Warganegara, 2014).

## **H. Analisa Data**

Hasil dikumpulkan secara deskriptif dan dikelompokkan berdasarkan positif atau negatif dalam bentuk tabel dengan mengacu pada standar CLSI 2016.

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

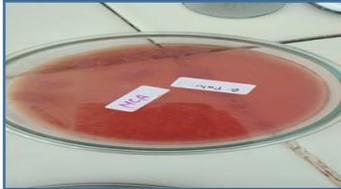
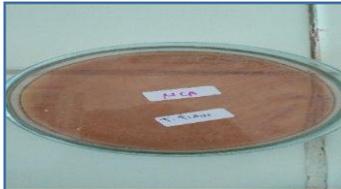
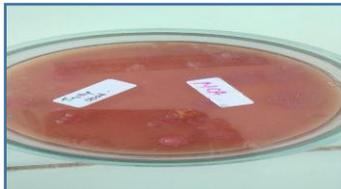
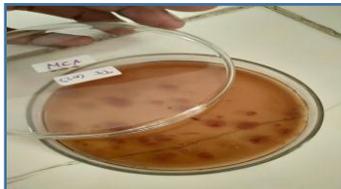
#### **A. Hasil Penelitian**

Pada penelitian ini, dilakukan pengambilan sampel pada 7 jenis alat dan peralatan yang terdapat di dalam ruangan IGD RSUD Naibonat Kabupaten Kupang. Sampel swab kemudian dibawa ke Laboratorium Bakteriologi Prodi Analisis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Kupang. Kemudian sampel diisolasi pada media MCA dan EMBA yang dilanjutkan dengan pewarnaan Gram dan uji biokimia. Hasil yang didapatkan tidak sesuai dengan ciri *Escherichia coli* pada uji biokimia.

#### **1. Uji Kultur**

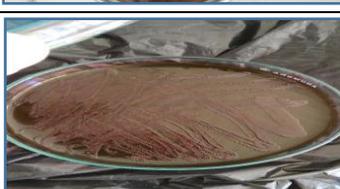
Hasil swab dari ruangan IGD diisolasi pada media MCA dan EMBA. Kemudian diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 24 jam. Adapun hasil pertumbuhan koloni pada semua media menunjukkan ciri koloni seperti ditunjukkan pada tabel 2 dibawah ini.

*Tabel 2. Hasil Kultur Pada Media MCA (Mac Conkey Agar)*

No	Instrumen	Petumbuhan Koloni	Gambar
1	Gagang Pintu /M.GP	a. Koloni sedang- besar b. Berwarna merah bata c. Smooth d. Cembung	
2	Wastafel / M.W	a. Koloni sedang- besar b. Berwarna merah bata c. Smooth d. Cembung	
3	Tempat Tidur 1 / M.TT1	a. Koloni sedang- besar b. Berwarna merah bata c. Smooth d. Cembung	
4	Tempat Tidur 2 / M.TT2	a. Koloni sedang- besar b. Berwarna merah bata c. Smooth d. Cembung	
5	Trolley Obat / M.TO	a. Koloni sedang- besar b. Berwarna merah bata c. Smooth d. Cembung	
6	Tiang Infus / M.TI	a. Koloni sedang- besar b. Berwarna merah bata c. Smooth d. Cembung	
7	Laci Lemari / M.LL	a. Koloni sedang- besar b. Berwarna merah bata c. Smooth d. Cembung	

*Sumber: Data Primer Penelitian 2019*

*Tabel 3. Hasil Kultur Pada Media EMBA (Eosin Methylen Blue)*

<b>No</b>	<b>Instrumen</b>	<b>Petumbuhan Koloni</b>	<b>Gambar</b>
1	Gagang Pintu /E.GP	a. Koloni kecil-besar b. Berwarna hitam c. Smooth d. Cembung	
2	Wastafel / E.W	a. Koloni kecil-besar b. Berwarna hitam c. Smooth d. Cembung	
3	Tempat Tidur 1 / E.TT1	a. Koloni kecil-besar b. Berwarna hitam-merah muda c. Smooth d. Cembung	
4	Tempat Tidur 2 / E.TT2	a. Koloni kecil-besar b. Berwarna hitam c. Smooth d. Cembung	
5	Trolley Obat / E.TO	a. Koloni kecil-besar b. Berwarna hitam c. Smooth d. Cembung	
6	Tiang Infus / E.TI	a. Koloni kecil-besar b. Berwarna hitam c. Smooth d. Cembung	
7	Laci Lemari / E.LL	a. Koloni kecil-besar b. Berwarna hitam c. Smooth d. Cembung	

*Sumber: Data Primer Penelitian 2019*

## 2. Pemeriksaan Mikroskopis

Koloni yang tumbuh pada media MCA dan EMBA dilakukan pemeriksaan mikroskopis menggunakan pewarnaan Gram. Hasil dari pemeriksaan mikroskopis ditemukan semua bakteri berbentuk batang Gram negatif pada media MCA dan EMBA.

*Tabel 4. Hasil Pewarnaan Gram*

<b>NO</b>	<b>Kode Sampel</b>	<b>Mikroskopis</b>	<b>Gram</b>
1	M.GP	Batang Panjang dan Berwarna Biru	Gram Positif
2	M.W	Batang Pendek dan Berwarna Merah	Gram Negatif
3	M.TT1	Batang Pendek dan Berwarna Merah	Gram Negatif
4	M.TT2	Batang Pendek dan Berwarna Merah	Gram Negatif
5	M.TO	Batang Pendek dan Berwarna Merah	Gram Negatif
6	M.TI	Batang Pendek dan Berwarna Merah	Gram Negatif
7	M.LL	Batang Pendek dan Berwarna Merah	Gram Negatif
8	E.GP	Batang Panjang dan Berwarna Biru	Gram Positif
9	E.W	Batang Pendek dan Berwarna Merah	Gram Negatif
10	E.TT1	Batang Pendek dan Berwarna Merah	Gram Negatif
11	E.TT2	Batang Pendek dan Berwarna Merah	Gram Negatif
12	E.TO	Batang Pendek dan Berwarna Merah	Gram Negatif
13	E.TI	Batang Pendek dan Berwarna Merah	Gram Negatif
14	E.LL	Batang Pendek dan Berwarna Merah	Gram Negatif

*Sumber: Data Primer Penelitian 2019*

### 3. Uji Biokimia

Bakteri Gram negatif yang telah diidentifikasi pada uji mikroskopis dilanjutkan pada uji biokimia dimana semua hasil uji biokimia menunjukkan hasil yang sama pada sampel swab.

#### a) Uji SIM (*Sulfur Indol Motility*), MRVP (*Metil Red Voges Proskauer*) dan SCA (*Simmon Citrate Agar*)

Tabel 5. Hasil Uji Biokimia pada media SIM, MRVP dan SCA

No	Kode Sampel	Hasil Uji SIM			Hasil Uji MRVP		SCA
		Sulfur	Indol	Motiliti	MR	VP	
1	M.W	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
2	M.TT1	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
3	M.TT2	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
4	M.TO	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
5	M.TI	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
6	M.LL	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
7	E.W	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
8	E.TT1	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
9	E.TT2	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
10	E.TO	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
11	E.TI	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
12	E.LL	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)

Sumber: Data Primer Penelitian 2019

Pada media SIM, MRVP dan SCA saat pengujian semua reaksi menunjukkan hasil yang sama yaitu pada pengujian SIM reaksi negatif terjadi pada sulfur dan motilitas dimana terjadi pertumbuhan koloni sekitar daerah

tusukan ose dan tidak terbentuk warna hitam pada media. Uji MRVP reaksi negatif pada uji MR ditandai dengan tidak terbentuknya cincin merah sedangkan uji VP memberikan reaksi positif dimana terbentuk warna merah pada media. Uji sitrat juga menunjukkan hasil positif dimana media SCA berubah warna dari hijau menjadi biru.

**b) Uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar* )**

*Tabel 6. Hasil Uji Biokimia pada Media TSIA*

No	Kode Sampel	Hasil Uji TSIA		
		Lereng/Dasar	H <sub>2</sub> S	Gas
1	M.W	A/A	Negatif (-)	Positif (+)
2	M.TT1	K/K	Negatif (-)	Positif (+)
3	M.TT2	K/K	Negatif (-)	Positif (+)
4	M.TO	K/K	Negatif (-)	Positif (+)
5	M.TI	K/K	Negatif (-)	Positif (+)
6	M.LL	K/K	Negatif (-)	Positif (+)
7	E.W	A/A	Negatif (-)	Positif (+)
8	E.TT1	K/K	Negatif (-)	Positif (+)
9	E.TT2	K/K	Negatif (-)	Positif (+)
10	E.TO	K/K	Negatif (-)	Positif (+)
11	E.TI	K/K	Negatif (-)	Positif (+)
12	E.LL	K/K	Negatif (-)	Positif (+)

*Sumber: Data Primer Penelitian 2019*

Pada media TSIA saat pengujian semua sampel menunjukkan hasil uji yang sama yaitu K/K yang berarti lereng media dan dasar media berubah warna menjadi merah selain itu menghasilkan gas ditandai dengan terangkatnya media

dan tidak menghasilkan H<sub>2</sub>S yang ditandai dengan tidak terbentuknya warna hitam pada media. Sedangkan pada kode sampel M.W dan E.W hasil uji TSIA yaitu A/A.

## **B. Pembahasan**

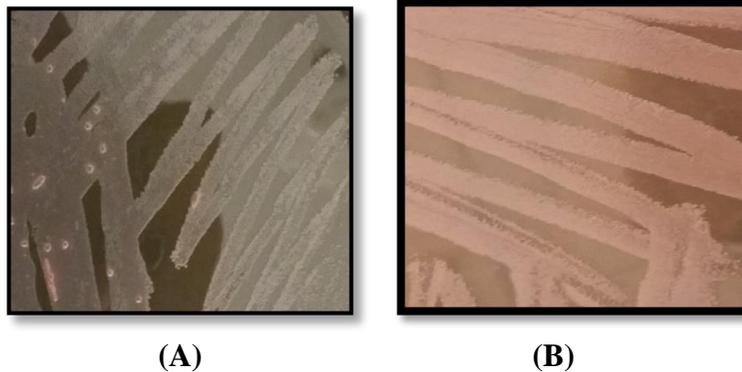
Telah dilakukan penelitian untuk mengidentifikasi bakteri *Escherichia coli* penghasil ESBL diruangan IGD RSUD Naibonat Kabupaten Kupang Tahun 2019. Penelitian ini dimulai dengan melakukan pengambilan sampel swab menggunakan kapas lidi steril pada beberapa fasilitas yang terdapat di dalam ruangan IGD. Pada 7 sampel swab ruangan selanjutnya dilakukan pemeriksaan di Laboratorium Bakteriologi Prodi Analis Kesehatan.

### **1. Uji Kultur**

Pertumbuhan sel merupakan puncak aktivitas fisiologis yang saling mempengaruhi secara berurutan. Pertumbuhan mikroba ditandai dengan peningkatan jumlah dan massa sel serta kecepatan pertumbuhan tergantung pada lingkungan fisik dan kimia. Penanaman pada medium padat merupakan cara untuk memisahkan mikroba satu dengan mikroba lain yang berasal dari berbagai mikroba (Supriyanto & Wahyudi, 2010). Penelitian ini menggunakan dua medium standar pertumbuhan mikroba yaitu MCA dan EMBA. Media MCA merupakan media standar yang selektif untuk bakteri *Enterobacteriaceae*, dan media EMBA yang merupakan media selektif untuk bakteri *Escherichia coli* (Dadan,dkk., 2018). Pada

media MCA mengandung garam empedu dan kristal violet yang mampu menghambat pertumbuhan dari bakteri Gram positif. Hal ini menyebabkan tidak semua bakteri dapat tumbuh dengan baik sehingga media ini dapat digunakan secara khusus untuk mengidentifikasi bakteri Gram negatif (Purwadi, 2017). Sementara pada media EMBA mengandung eosin dan *methylene blue* yang dapat berfungsi dalam membedakan koloni yang tumbuh pada media tersebut dengan warna hijau mengkilat yang disebabkan kristal violet yang terkandung dalam media sehingga dengan mudah dapat membedakan pertumbuhan *Escherichia coli* (Elfidasari,dkk., 2013). Media Eosin Methylene Blue mempunyai keistimewaan mengandung laktosa dan berfungsi untuk memilah mikroba yang memfermentasi laktosa seperti *E. coli* (Khotimah, 2013).

Uji Kultur dilakukan pada 7 sampel uji yang ditanam pada media MCA dan EMBA. Dari 7 sampel yang diinokulasi pada media MCA terlihat pertumbuhan koloni yang sama yaitu koloni bakteri berwarna merah muda sampai merah bata, koloni kecil hingga besar, smooth, dan cembung dari 7 cawan petri. Sementara pada media EMBA terlihat pertumbuhan koloni yang sama yaitu berwarna hitam-merah bata, koloni kecil hingga besar dan smooth.



(A) (B)  
*Gambar 4. Hasil pertumbuhan bakteri pada media EMBA(A) dan MCA (B)*  
*(Sumber: Data primer penelitian 2019)*

Dari bentuk koloni yang terlihat pada gambar 4 tidak memiliki ciri-ciri yang spesifik untuk bakteri *Escherichia coli*. *Escherichia coli* yang tumbuh pada media MCA akan menunjukkan ciri koloni yaitu koloni sedang-besar, smooth, cembung, dan merubah warna media menjadi merah muda sampai merah. Sedangkan *E.coli* pada media EMBA menunjukkan ciri koloni berukuran sedang, berwarna hijau kilap logam dengan bintik biru kehijauan di tengahnya (Wasita & Hendrayana, 2016).

## 2. Uji Mikroskopis

Pengamatan tentang karakteristik morfologi koloni bakteri perlu dilakukan, agar mempermudah dalam proses identifikasi jenis bakteri (Fitri & Yasmin, 2011). Dengan melihat hasil identifikasi secara makroskopis kemudian pengamatan dilakukan dengan mengamati bentuk morfologi menggunakan metode mikroskopis yaitu, dengan menggunakan metode pewarnaan Gram, kemudian

hasil dari tiap pewarnaan dapat diamati pada mikroskop dengan menggunakan perbesaran 1000x (Elfidasari,dkk., 2013).

Koloni bakteri dari media MCA dan EMBA dilakukan pewarnaan Gram. Hasil pengecatan koloni dari 7 sampel yang diambil dari semua media MCA dan EMBA ditemukan bakteri berbentuk batang merah, pendek, Gram negatif. Sementara pada kode sampel M.GP dan E.GP didapatkan bakteri dengan morfologi berbentuk basil, berwarna biru dan Gram positif.

Pengecatan Gram bertujuan untuk membedakan bakteri Gram negatif dan bakteri Gram positif. Bakteri Gram positif akan memberikan warna ungu ketika diberi cat Gram. Warna ungu tersebut terjadi karena dinding sel bakteri mengikat cat Kristal violet (Gram A) yang diperkuat oleh iodine (Gram B) dan kristal tersebut tidak akan hilang pada waktu diberi cat peluntur (Gram C), sehingga tidak terpengaruh saat diberi cat penutup (Gram D) (Romadhon, Subagiyo, & Margino, 2012). Sedangkan bakteri Gram negatif berwarna merah sebab kompleks zat warna kristal violet-iodine larut saat pemberian larutan pemucat aseton alkohol sehingga mengambil warna merah safranin (Fitri & Yasmin, 2011).

### **3. Uji Biokimia**

Koloni bakteri yang dicurigai sebagai bakteri *Escherichia coli*, kemudian dilakukan uji biokimia IMVIC dan TSIA untuk menegaskan bahwa koloni yang tumbuh merupakan bakteri *E.coli* (Bakri, dkk., 2015). Prinsip dasarnya enzim yang diproduksi mikroba akan mendegradasi karbohidrat dan lemak, dalam hal ini, hasil

metabolit dapat dilihat secara visual dengan adanya tambahan suatu indikator (R. Sari & Apridamayanti, 2014). Uji biokimia yang dilakukan meliputi uji Indol, Metil Red, Vogor Proskauer, Simmon Citrat, dan TSIA.

Koloni kuman yang tumbuh pada 6 sampel uji dilakukan uji biokimia. Sedangkan kode sampel E.GP dan M.GP tidak dilanjutkan uji biokimia karena dilihat dari pewarnaan Gram merupakan bakteri Gram positif.

#### a) Uji Indol

Pada pengujian Indol akan terbentuk cincin merah *cherry* yang terbentuk disebabkan bakteri dapat memproduksi indol dari pemecahan asam amino tryptophan dengan menggunakan enzim *tryptophanase*. Produksi indol akan dideteksi dengan menggunakan pereaksi *Erlich* atau Kovak. Indol akan bereaksi dengan *aldehyde* dalam reagen dan memberikan warna merah. Sebuah lapisan alkohol merah akan terbentuk seperti cincin di bagian atas menandakan indol positif (R. Sari & Apridamayanti, 2014).

Koloni kuman dari 6 sampel yang diambil dari media MCA dan EMBA diinokulasikan pada media SIM, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pada penelitian ini, digunakan medium kaya akan tryptophan, yaitu dalam bentuk tripton 1% sebagai sumber karbon. Hasil pengamatan pada semua sampel uji memberikan hasil negatif yang ditunjukkan dengan tidak terbentuknya warna merah pada permukaan media saat ditambahkan reagen Kovak. Untuk bakteri *Escherichia coli* hasil uji indol menunjukkan hasil

positif dimana bakteri *Escherichia coli* memiliki kemampuan untuk menghidrolisa asam amino tryptophan menghasilkan indol, ammonia dan asam piruvat.



*Gambar 5. Hasil Uji Indol Negatif (-) sampel bakteri uji.  
(Sumber: Data primer penelitian 2019)*

#### **b) Uji Metil Red**

Uji Metil Red (MR), bertujuan untuk mendeteksi kemampuan organisme dalam memproduksi dan mempertahankan produk akhir asam stabil seperti asam laktat, asetat, dan asam formic dari fermentasi glukosa. *Methyl Red* adalah indikator pH, yang tetap berwarna merah pada pH 4,4 atau kurang (Rahayu & Gumilar, 2017).

Pada penelitian ini digunakan uji metil red untuk mengetahui produk akhir asam yang dihasilkan bakteri. Koloni kuman dari 6 sampel yang ditanam pada media MCA dan EMBA ditanam pada media MRVP kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil pengamatan uji ini memberikan hasil negatif. Hal ini dikarenakan semua bakteri uji tidak

menghasilkan produk akhir asam dari katabolisme karbohidrat. Untuk bakteri *Escherichia coli* hasil uji harus menunjukkan reaksi positif dimana bakteri menggunakan metil red untuk produk akhir asam.



Gambar 6. Hasil uji MR negatif (-) sampel bakteri uji  
(Sumbe: Data primer penelitian 2019)

### c) Uji Voges Proskauer

Uji Voges proskauer adalah tes yang digunakan untuk mendeteksi acetonin dalam kultur bakteri. Pengujian ini dilakukan dengan menambahkan *alpha-naphthol* dan kalium hidroksida dengan kaldu *voges proskauer* yang telah diinokulasi dengan bakteri. Warna merah menunjukkan hasil yang positif, sedangkan warna kuning-coklat atau tidak berwarna merupakan hasil negatif (Rahayu & Gumilar, 2017).

Pada penelitian ini digunakan *voges proskauer* untuk mengidentifikasi acetonin yang dihasilkan bakteri. Koloni kuman dari 6 sampel uji yang ditanam pada media MCA dan EMBA diinokulasikan ke dalam media MRVP, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Uji ini memberikan hasil

positif dimana terbentuk warna merah pada media. Hal ini dikarenakan bakteri dapat memfermentasikan karbohidrat menjadi 2,3 butandiol yang akan terjadi penumpukan bahan tersebut dalam media pertumbuhan. Untuk bakteri *Escherichia coli* hasil uji harus menunjukkan reaksi negatif dimana tidak terbentuknya cincin merah pada uji VP.



*Gambar 7. Hasil uji VP positif (+) sampel bakteri uji  
(Sumber: Data primer penelitian 2019)*

#### **d) Simmon Citrat**

Uji sitrat bertujuan mendeteksi kemampuan suatu organisme untuk memanfaatkan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi. Jika bakteri mampu menggunakan sitrat sebagai sumber karbonnya maka akan menaikkan pH dan mengubah warna medium biakan dari hijau menjadi biru (Rahayu & Gumilar, 2017)

Koloni kuman dari 6 sampel uji dari media MCA dan EMBA diinokulasikan pada media Simmon citrat agar kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37<sup>0</sup>C. Hasil pengamatan untuk uji sitrat adalah positif,

dimana terjadi perubahan pada media dari hijau menjadi biru. Pada bakteri *Escherichia coli* hasil uji sitrat tidak adanya perubahan warna pada media uji sitrat. *Escherichia coli* merupakan salah satu bakteri yang tidak menggunakan sitrat sebagai sumber karbon untuk metabolismenya.



*Gambar 8. Hasil Uji Simon Citrat Positif (+)  
(Sumber: Data primer peneliti 2019)*

**e) TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*)**

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri memfermentasi glukosa, sukrosa dan laktosa serta menghasilkan gas hidrogen sulfida ( $H_2S$ ). Diamati perubahan warna pada bagian dasar dan bagian miring TSIA. Hasil tes yang positif ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna menjadi merah dibagian dasar dan kuning dibagian lereng media, perubahan warna menjadi hitam menunjukkan terbentuknya gas  $H_2S$ . Pada bakteri *E. coli* hasil uji TSIA terjadi perubahan warna media kuning pada lereng dan dasar TSIA, retakan dan media terangkat serta adanya gas seperti  $H_2$  dan  $CO_2$  setelah inokulasi *Escherichia coli* dan inkubasi selama 24 jam. Untuk

pengamatan pola-pola penggunaan karbohidrat. TSIA agar mengandung laktosa dan sukrosa dalam konsentrasi 1%, glukosa 0,1% dan phenol red sebagai indikator yang menyebabkan perubahan warna dari merah menjadi kuning dalam suasana asam (Khotimah, 2013).

Bakteri dari 6 sampel yang dikultur pada media MCA dan EMBA diinokulasikan kedalam media TSIA kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37<sup>0</sup>C. Hasil pengamatan pada uji TSIA didapat hasil lereng dan dasar terjadi perubahan menjadi warna merah (K/K). Kemudian media terangkat berarti positif gas dan H<sub>2</sub>S negatif ditandai dengan media tidak berubah menjadi hitam. Sampel dengan kode E.W dan M.W memberikan hasil yang berbeda yaitu pada lereng dan dasar terjadi perubahan menjadi warna kuning (A/A), kemudian media terangkat berarti positif gas dan H<sub>2</sub>S positif ditandai dengan media menjadi hitam.



*Gambar 9. Hasil uji TSIA (K/K), H<sub>2</sub>S (-), G (-)  
(Sumber: Data primer penelitian 2019)*

#### 4. Interpretasi Akhir Identifikasi Bakteri

Sampel uji yang telah diisolasi pada media MCA menunjukkan hasil pertumbuhan koloni yang sama yaitu koloni bakteri berwarna merah muda sampai merah bata, koloni kecil hingga besar, smooth, dan cembung. Sementara pada media EMBA terlihat pertumbuhan koloni yang sama yaitu berwarna abu-abu, koloni kecil hingga besar dan smooth. Hasil pewarnaan Gram pada 7 sampel untuk melihat morfologi bakteri secara mikroskopis menunjukkan hasil bakteri Gram negatif, berwarna merah, berbentuk batang – pendek. Sedangkan sampel dengan kode M.GP dan E.GP memberikan hasil yang berbeda yaitu bakteri Gram positif berwarna biru dan berbentuk batang. Dari 6 sampel kemudian dilanjutkan dengan uji biokimia menunjukkan hasil yang sama yaitu Indol negatif, *Methyl red* negatif, *Voges proskauer* positif, dan simmon sitrat positif. pada uji TSIA 6 sampel uji yang ditanam pada media TSIA 5 sampel memberika hasil yang sama yaitu lereng dan dasar berwarna merah (K/K), Gas positif dan sulfida negatif, sementara sampel dengan kode E.W dan M.W memberikan hasil lereng dan dasar berwara kuning (A/A), gas positif dan sulfida negatif.

Berdasarkan hasil pengamatan makroskopis dan mikroskopis pada media MCA, EMBA serta pemeriksaan uji biokimia peneliti menyimpulkan bahwa bakteri pada semua sampel adalah bukan bakteri *Escherichia coli*. Hal ini didasarkan pada hasil uji Kultur, pewarnaan Gram, dan uji biokimia. Hasil yang didapatkan dibandingkan dengan ciri bakteri *Escherichia coli* dalam literature dan karakteristik reaksi biokimia dan tidak sesuai sehingga pengujian terhadap

kepekaan antibiotik tidak dapat diteruskan. Pada hasil uji biokimia bakteri yang didapat yaitu *Klebsiella sp.*

##### **5. *Klebsiella sp.***

Morfologi bakteri *Klebsiella* divisi Schizophyta, Kelas Schizomycetes, Ordo Eubacteriales, Famili Enterobacteriaceae, Genus *Klebsiella*. *Klebsiella* berbentuk Gram negatif batang berwarna merah, dan non-motil. Bakteri ini memiliki karakteristik koloni berbentuk bulat dengan tepian rata, koloni berwarna putih dengan permukaan rata dan tipis, tumbuh baik pada media Mac Conkey Agar. Bakteri *Klebsiella* menunjukkan reaksi kuat dalam pembentukan gas dengan terbentuknya banyak gelembung gas dari proses metabolismenya.

*Klebsiella* menunjukkan kemampuannya dalam memfermentasikan laktosa dan sukrosa pada media TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*). Hal ini ditunjukkan dengan perubahan warna pada dasar dan lereng agar miring TSIA. *Klebsiella* juga mampu menghasilkan gas dalam metabolismenya, tidak menghasilkan H<sub>2</sub>S karena tidak terlihat pembentukan warna hitam pada media TSIA. *Klebsiella* menggunakan sitrat sebagai salah satu sumber karbon dalam metabolismenya ditunjukkan dengan reaksi positif perubahan warna pada media *Simmon's Citrate Agar* (SCA) dari warna hijau menjadi biru. Selain itu *Klebsiella* menggunakan hidrokarbon sebagai sumber karbon dalam pembentukan energi dan pertumbuhannya. Bakteri ini bersifat non-motil, hal ini dapat dilihat dengan

pertumbuhan bakteri hanya pada bekas tusukan tetapi tidak menyebar hingga ke permukaan media SIM (*Sulphite Indole Motility*) (Sayuti & Suratni, 2015).

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil identifikasi bakteri *Escherichia coli* penghasil *Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamase* padamruang IGD RSUD Naibonat Kabupaten Kupang tidak ditemukan bakteri *Escherichia coli* tetapi ditemukan bakteri *Klebsiella sp.* sehingga uji kepekaan antibiotic tidak diteruskan.

#### **B. Saran**

##### **1. Instansi terkait**

- a. Perlu dilakukan pembersihan pada semua peralatan yang terjadi kontak langsung dengan petugas kesehatan di ruang IGD serta pasien agar tidak terjadi kontaminasi bakteri.
- b. Sering melakukan kontrol ruangan dengan melakukan pemeriksaan mikrobiologi
- c. Petugas kesehatan harus selalu cuci tangan sebelum dan sesudah kontak dengan pasien untuk menghindari kontaminasi bakteri.

##### **2. Peneliti selanjutnya**

Bagi peneliti selanjutnya perlu dilakukan pemeriksaan uji kepekaan pada peralatan medis di ruang IGD.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ambada, S. P. (2013). Tingkat Pengetahuan Tentang Antibiotik Pada Masyarakat Kecamatan Pringkuku Kabupaten Pacitan. 2013, 11. <https://doi.org/10.1038/sj.eye.6701797>
- Bakri, Z., Hatta, M., & Massi, M. N. (2015). ISSN 2252-5416 DETEKSI KEBERADAAN BAKTERI ESCHERICHIA COLI O157 : H7 PADA FESES PENDERITA DIARE DENGAN METODE KULTUR DAN PCR Detection of Existence of Bacterium Escherichia Coli O157 : H7 in Feces of Diarrhea Patients by Culture and PCR Methods ISSN 2252-5, 5(2), 184–192.
- Brooks, G.F., Janet, S.B., Stephen, A.M., Jawetz, Melnick, Adellberg. (2016). *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 25. Alih Bahasa Hartono *et al.* Jakarta: EGC
- CLSI. (2016). *Performance Standarts for Antimicrobial Susceptibility Testing* (26th ed.). USA.
- Dadan, S., Gaffurahman, & Suhirman. (2018). Analisa Cemaran Koliform pada Sumur Gali di Desa Ungga Kabupaten Lombok Tengah, Nusa Tenggara Barat. *Bioscience*, 2(1), 41–49. <https://doi.org/10.24036/02018219981-0-00>
- Dewi, F. K. (2010). AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL BUAH MENKUDU (MORINDA CITRIFOLIA, LINNAEUS) TERHADAP BAKTERI PEMBUSUK DAGING SEGAR, 22(2), 178–189.
- Elfidasari, D., Noriko, N., Mirasaraswati, A., Feroza, A., & Canadianti, S. F. (2013). Deteksi Bakteri Klebsiella pneumonia pada Beberapa jenis Rokok Konsumsi Masyarakat. *Jurnal AL\_AZHAR Indonesia Seri Sains Dan Teknologi*, 2, 41–47. Retrieved from <https://www.researchgate.net>
- Fatisa, Y. (2013). ( Nephelium mutabile ) TERHADAP Staphylococcus aureus dan Escherichia coli SECARA IN VITRO. *Jurnal Peternakan*, 10(1), 31–38.
- Febiana, T. (2012). DI BANGSAL ANAK RSUP Dr . KARIADI SEMARANG LAPORAN HASIL DI BANGSAL ANAK RSUP Dr . KARIADI SEMARANG PERIODE AGUSTUS-DESEMBER 2011, 1–70.
- Fitri, L., & Yasmin, Y. (2011). Isolation and Observation of Morphology of Chitinolytic Bacteria Colony. *E-Journal Unsyiah Darussalam*, 3(2), 20–25.

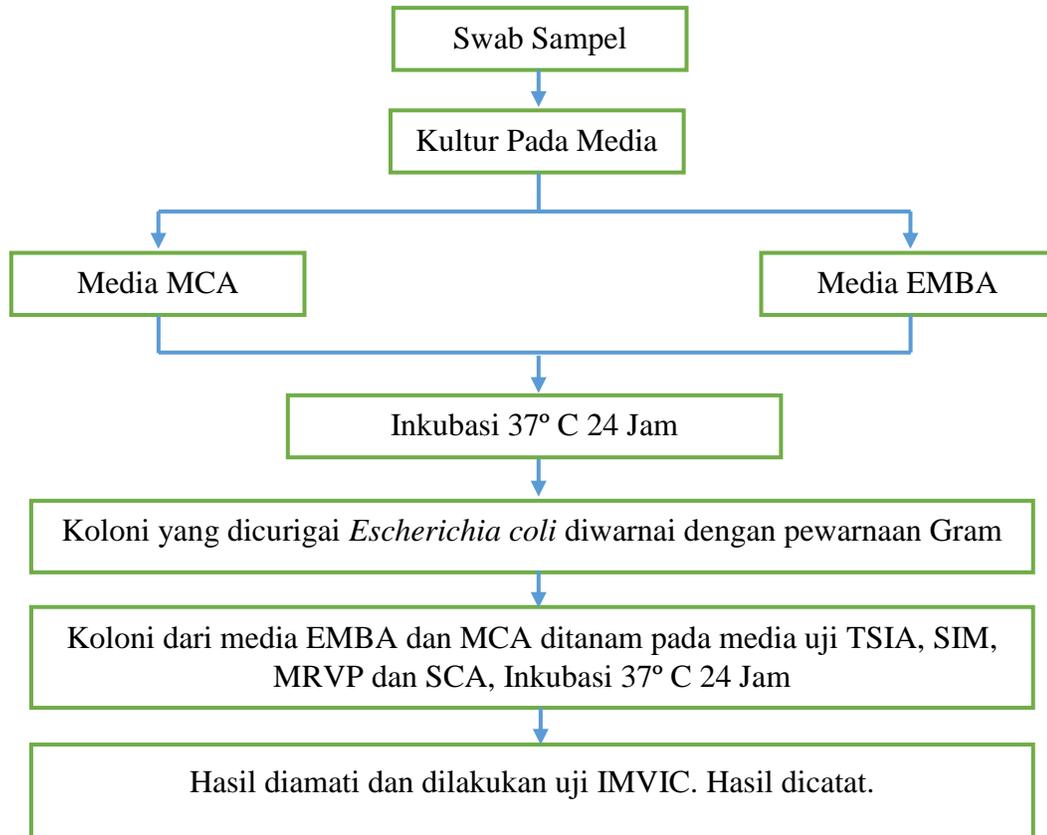
- Hayati, Zinatul, Azwar, I. P. (2012). Pattern and Antibiotics' Sensitivity of Bacteria Potentially Causing Nosocomial Infection at Surgical Wards, RSUDZA, Banda Aceh. *Medicine Journal*, 20(8), 158–166.
- Kemenkes. (2016). Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik. *Peraturan Menteri Kesehatan NO 72 TAHUN 2016*, 4. <https://doi.org/10.1016/j.str.2014.03.012>
- Khotimah, S. (2013). KEPADATAN BAKTERI COLIFORM DI SUNGAI KAPUAS KOTA PONTIANAK. *Jurnal FMIPA*, 3(2), 339–349.
- Lusiana, F. (2018). UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI ETANOL UMBI *Eleutherine palmifolia* terhadap *Escherichia coli* DENGAN METODE DIFUSI CAKRAM. *Skripsi*.
- Melliawati, R. (2009). *Escherichia coli* dalam kehidupan manusia. *Escherichia Coli*, 4(1), 10–14. <https://doi.org/10.1016/B978-012220751-8/50013-6>
- Moewardi. (2012). A STUDY OF EXTENDED SPECTRUM  $\beta$  LACTAMASE (ESBL) AND AmpC  $\beta$ -LACTAMASE PRODUCING KLEBSIELLA PNEUMONIAE IN NEONATAL INTENSIVE CARE UNIT AT TERTIARY CARE HOSPITAL, AHMEDABAD. *Medicine Journal*.
- Mulyati, E. S. (2009). UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETIL ASETAT DAUN CEREMAI ( *Phyllanthus acidus* ( L .) Skeels ) TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli* DAN BIOAUTOGRAFINYA ENDAH SRI MULYATI FAKULTAS FARMASI, 7–10.
- Nurmala, Virgiandhy, I. G. N., Andriani, & Liana, D. F. (2015). Resistensi dan Sensitivitas Bakteri terhadap Antibiotik di RSUD dr . Soedarso Pontianak Tahun 2011-2013. *E-Journal Kedokteran*, 3(1), 21–28.
- Paramesti, N. N. (2014). Efektivitas Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L) sebagai Antibakteri terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Laporan Penelitian*, 51. <https://doi.org/10.1016/j.infsof.2008.09.005>
- Purwadi, J. C. (2017). Analisa Pengawasan Mutu Air di PT. Djago Semarang, 1(1), 19–20.
- Radji, Maksum. (2010). *Buku ajar mikrobiologi: panduan mahasiswa farmasi & kedokteran*. Penerbit Buku Kedokteran,: 126-127.

- Rahayu, S. A., & Gumilar, M. H. (2017). TEST OF DRINKING WATER AROUND MARGAHAYU RAYA BANDUNG WITH IDENTIFICATION OF *Escherichia coli* BACTERIA. *IJPST*, 4(2), 50–56.
- Romadhon, Subagiyo, & Margino, S. (2012). ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT DARI USUS UDANG PENGHASIL BAKTERIOSIN SEBAGAI AGEN ANTIBAKTERIA PADA PRODUK-PRODUK HASIL PERIKANAN. *Jurnal Saintek Perikanan*, 8(1).
- Sari, M. (2015). UJI BAKTERIOLOGIS DAN RESISTENSI ANTIBIOTIK TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Shigella sp* PADA MAKANAN GADO-GADO DI KANTIN.
- Sari, R., & Apridamayanti, P. (2014). CEMARAN BAKTERI *ESCHERICIA COLI* DALAM BEBERAPA MAKANAN LAUT YANG BEREDAR DI PASAR TRADISIONAL KOTA PONTIANAK. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(2), 14–19.
- Sayuti, I., & Suratni. (2015). ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI HIDROKARBONOKLASTIK DARI LIMBAH CAIR MINYAK BUMI GS CEVRON PASIFIK INDONESIA DI DESA BENAR KECAMATAN RIMBA MELINTANG ROKAN HILIR Irda Sayuti 1 dan Suratni 1. *E-Journal Universitas Tanjungpura*, 3(2), 320–334.
- Soleha, M. (2013). Detection of attaching and effacing virulence gene of *E. coli*. *Health Science Indonesia*, 4(1), 41–46.
- Supriyanto, T., & Wahyudi, W. (2010). Proses Produksi Etanol oleh *Saccharomyces Cerivisiae* dengan Operasi Kontinyu pada Kondisi Vakum, 1–37.
- Thomsom, K. S. (2010). Extended-Spectrum- $\beta$ -lactamase, AmpC, and Carbapenemase Issues. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(1), 1019–1025. <https://doi.org/10.1128/jcm.00219-10>
- Triana, D. (2014). Frekuensi B-Lactamase Hasil *Staphylococcus aureus* Secara Iodometri Di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. *Jurnal Gradien*, 10, 992–995. <https://doi.org/10.1051/0004-6361:20021084>
- Utami, Prapti. 2012). *Antibiotik alami untuk mengatasi aneka penyakit*. AgroMedia,
- Wahjono, H. (2007). Peran Mikrobiologi Klinik Pada Penanganan Penyakit Infeksi. *Badan Penerbit Universitas Diponegoro Semarang*, 24. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/KEM.426-427.-2>

- Warganegara, E., & Apriliana, E. (2014). The Determining type of Extended Spectrum Beta Lactamase Enzyme (ESBL) from Escherichia coli resistance Cephalosporine of third Generation in RSUD Abdoel Moeloek Bandar Lampung. *Jurnal Kedokteran Universitas Lampung*, 4(7), 87–96.
- Wasita, I. K. S., & Hendrayana, M. A. (2016). IDENTIFIKASI BAKTERI ESCHERICHIA COLI SEROTIPE 0157 DENGAN MEDIA SORBITOL MAC CONKEY AGAR ( SMAC ) PADA SEROTYPE IDENTIFICATION OF ESCHERICHIA COLI O157 BACTERIA BY SORBITOL MAC CONKEY AGAR ( SMAC ) MEDIA WHICH ISOLATED FROM JAMU BERAS KENCUR FROM JAMU. *E-Jurnal Medika*, 1, 1–13. Retrieved from <http://simdos.unud.ac.id>
- Wulandari, M. A. (2014). Potensi antibakteri dan bioautografi ekstrak etanol daun bintaro (. Wulandari, Mira Ajeng.
- Yenny, Y., & Herwana, E. (2016). Resistensi dari bakteri enterik: aspek global terhadap antimikroba. *Universa Medicina*, 26(1), 46–56. <https://doi.org/10.18051/univmed.2007.v26.46-56>

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Skema Kerja



## Lampiran 2. Pembuatan Media

### 1. EMBA (*Eosin Methylen Blue Agar*)

Komposisi :

- |                        |            |
|------------------------|------------|
| a. Bacto Pepton        | 10 gram    |
| b. Bacto Lactosa       | 5 gram     |
| c. Sukrosa             | 5 gram     |
| d. $K_2HPO_4$          | 2 gram     |
| e. Bacto Agar          | 13,5 gram  |
| f. Bacto Eosin         | 4 gram     |
| g. Bacto Methylen Blue | 0,065 gra, |
| h. Aquadest            | 1 liter    |

Cara pembuatan EMBA 300 ml :

Dilarutkan 11 gram EMBA dalam 300 mL aquadest lalu disterilkan dalam autoclave dengan suhu  $121^{\circ}C$  selama 15 menit.

### 2. MCA (*Mac Conkey Agar*)

Komposisi :

- |                       |            |
|-----------------------|------------|
| a. Bacto Pepton       | 17 gram    |
| b. Proteosa pepton    | 3 gram     |
| c. Bacto Lactosa      | 10 gram    |
| d. Garam Empedu       | 1,5 gram   |
| e. NaCl               | 5 gram     |
| f. Bacto Agar         | 13,5 gram  |
| g. Bacto nectral read | 0,03 gram  |
| h. Bacto Kristal Read | 0,001 gram |
| i. Aquadest           | 1 Liter    |

Cara pembuatan MCA 200 mL :

Dilarutkan 10 gram MCA dalam 200 mL aquadest lalu disterilkan dalam autoclave dengan suhu  $121^{\circ}C$  selama 15 menit.

### 3. TSIA (*Tripe Sugar Iron Agar*)

Komposisi :

- |                         |            |
|-------------------------|------------|
| a. Bacto Ekstrak Daging | 3 gram     |
| b. Bacto Pepton         | 15 gram    |
| c. Bacto Ekstrak Ragi   | 3 gram     |
| d. Proteosa Pepton      | 5 gram     |
| e. Bacto Lactosa        | 10 gram    |
| f. Bacto Sukrosa        | 10 gram    |
| g. $FeSO_4$             | 0,2 gram   |
| h. $Na_2S_2O_3$         | 0,3 gram   |
| i. Bacto Agar           | 12 gram    |
| j. Bacto Merah Fenol    | 0,024 gram |
| k. Aquadest             | 1 Liter    |

Cara pembuatan TSIA 60 mL :

Dilarutkan 4 gram TSIA dalam 60 mL aquadest lalu disterilakan dalam autoclave dengan suhu 121<sup>0</sup>C selama 15 menit.

**4. SCA (*Simon Citar Agar*)**

Komposisi :

- a. MgSO<sub>4</sub> 0,2 gram
- b. (NH<sub>4</sub>)<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 1 gram
- c. K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1 gram
- d. C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>Na<sub>3</sub>O<sub>7</sub>.2H<sub>2</sub>O 2 gram
- e. Bacto Agar 15 gram
- f. Bromtimol Biru 0,08 gram
- g. Aquadest 1 Liter
- h. NaCl 5 gram

Cara pembuatan 60 mL SCA :

Dilarutkan 1,5 gram SCA dalam 60 mL aquadest lalu disterilakan dalam autoclave dengan suhu 121<sup>0</sup>C selama 15 menit.

**5. SIM (*Sulfur, Indol, Motility*)**

Komposisi :

- a. Pepton from casein 20 gram
- b. Pepton from meat 6 gram
- c. NH<sub>4</sub> Iron (III) Citrat 0,2 gram
- d. Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 0,3 gram
- e. Agar 3 gram
- f. Aquadest 1 Liter

Cara pembuatan 60 mL SIM :

Dilarutkan 2,5 gram SIM dalam 60 mL aquadest lalu disterilakan dalam autoclave dengan suhu 121<sup>0</sup>C selama 15 menit.

**6. MRVP (*Metil Red, Voges Poskauer*)**

Komposisi :

- a. Pepton From Alent 7 gram
- b. Glukosa 5 gram
- c. Phosphate Buffer 5 gram

Cara pembuatan 60 mL SIM :

Dilarutkan 1,1 gram SIM dalam 60 mL aquadest lalu disterilakan dalam autoclave dengan suhu 121<sup>0</sup>C selama 15 menit.

**Lampiran 3. CLSI (Clinical Laboratory Standart International )**

Table 2A-1. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter Interpretive Criteria (nearest whole mm)				MIC Interpretive Criteria (µg/mL)				Comments
			S	SDD	I	R	S	SDD	I	R	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.) (Continued)											
U	Cefazolin	30 µg	≥15	–	–	≤14	≤16	–	–	≥32	(10) Interpretive criteria when cefazolin is used for therapy of uncomplicated UTIs due to <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , and <i>P. mirabilis</i> . Interpretive criteria are based on a dosage regimen of 1 g every 12 h.  See additional information below under CEPHEMS (ORAL).
C	Ceftaroline	30 µg	≥23	–	20–22	≤19	≤0.5	–	1	≥2	(11) Interpretive criteria are based on a dosage regimen of 600 mg every 12 h.
B	Cefepime	30 µg	≥25	19–24	–	≤18	≤2	4–8	–	≥16	(12) The interpretive criterion for susceptible is based on a dosage regimen of 1 g every 12 h. The interpretive criterion for SDD is based on dosing regimens that result in higher cefepime exposure, either higher doses or more frequent doses or both, up to approved maximum dosing regimens. See Appendix E for more information about interpretive criteria and dosing regimens. Also see the definition of SDD in the Instructions for Use of Tables section.
B	Cefotaxime or ceftriaxone	30 µg	≥26	–	23–25	≤22	≤1	–	2	≥4	(13) Interpretive criteria are based on a dosage regimen of 1 g every 24 h for ceftriaxone and 1 g every 8 h for cefotaxime. See comment (7).
B		30 µg	≥23	–	20–22	≤19	≤1	–	2	≥4	
B	Cefoletan	30 µg	≥16	–	13–15	≤12	≤16	–	32	≥64	
B	Cefoxitin	30 µg	≥18	–	15–17	≤14	≤8	–	16	≥32	(14) Interpretive criteria are based on a dosage regimen of at least 8 g per day (eg, 2 g every 6 h).
B	Cefuroxime (parenteral)	30 µg	≥18	–	15–17	≤14	≤8	–	16	≥32	(15) Interpretive criteria are based on a dosage regimen of 1.5 g every 8 h. See comment (7).

Sumber : (CLSI, 2016)

#### Lampiran 4. Pengambilan dan Penanaman Sampel



*Media MCA dan EMBA yang digunakan*



*Pengambilan Sampel dengan swab*



*Penanaman pada media*

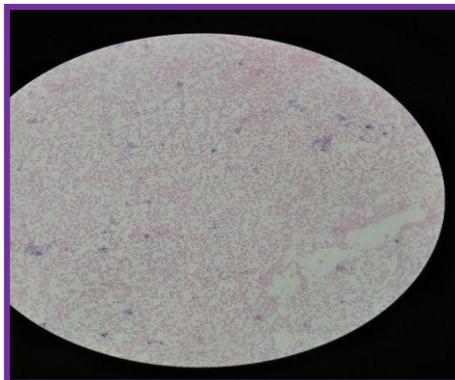
**Lampiran 5. Hasil Kultur Bakteri, Pewarnaan Gram dan Uji biokimia**



Hasil Kultur Media MCA



Hasil Kultur Media EMBA



Hasil Pewarnaan Gram



Hasil Uji Biokimia

## Lampiran 6. Surat Hasil Penelitian

 **KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA**  
**BADAN PENGEMBANGAN DAN PEMBERDAYAAN**  
**SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN**  
**POLITEKNIK KESEHATAN KUPANG**  
Direktorat Jln Piet A Tallo Liliba - Kupang, Telp : (0380) 8800256,  
Fax (0380) 8800256, Email poltekkeskupang@yahoo.com



---

**SURAT KETERANGAN MELAKUKAN PENELITIAN**  
**NOMOR : UM 01/05/12/140/2019.**

**Yang bertandatangan di bawah ini :**

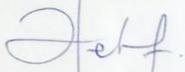
Nama : Agustina W.Djuma, S.Pd.,M.Sc  
NIP : 197308011993032001  
Pangkat/Gol : Penata Tk.I/III d  
Jabatan : Ketua Program Studi Analis Kesehatan

**Dengan ini menyatakan bahwa :**

Nama : Atria Larasati  
NIM : PO. 530333316055  
Judul Penelitian : Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* Penghasil ESBL di Ruang  
IGD RSUD Naibonat Kabupaten Kupang Tahun 2019

Akan melaksanakan penelitian (Pemeriksaan Sampel) di Laboratorium  
Mikrobiologi Program Studi Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Kupang.

Demikian Surat Keterangan ini kami buat, untuk dipergunakan sebagaimana  
mesitinya.

Kupang, April 2019  
Ketua Prodi Analis Kesehatan  
  
Agustina W. Djuma, S.Pd.,M.Sc  
NIP. 197308011993032001



**KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA  
BADAN PENGEMBANGAN DAN PEMBERDAYAAN  
SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN**

**POLITEKNIK KESEHATAN KUPANG**  
Direktorat: Jln. Piet A. Tallo Liliba - Kupang, Telp.: (0380) 8800256;  
Fax (0380) 8800256; Email: poltekkeskupang@yahoo.com



SURAT KETERANGAN SELESAI PENELITIAN

NOMOR : UM.01/05/12/140/2019

Yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Kuntum Ekawati Nurdin, S.ST  
NIP : 198609102014022002  
Pangkat/Gol : Penata Muda Tk.I/IIIb  
Jabatan : Kepala Unit Laboratorium Prodi Analis Kesehatan

Menyatakan bahwa :

Nama : Atria Larasati  
NIM : PO. 530333316055  
Judul Penelitian : Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* Penghasil ESBL di Ruang IGD  
RSUD Naibonat Kabupaten Kupang Tahun 2019

Telah melaksanakan penelitian pemeriksaan sampel dan diperoleh hasil pemeriksaan yang terlampir dalam surat ini.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Mengetahui,  
Ketua Prodi Analis Kesehatan

Kupang, 23 Mei 2019  
Kepala Sub. Unit Laboratorium

Agustina W. Djuma, S.Pd., M.Sc  
NIP. 197308011993032001

Kuntum Ekawati Nurdin, S. ST  
NIP. 198609102014022002



**KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA**  
**BADAN PENGEMBANGAN DAN PEMBERDAYAAN**  
**SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN**  
**POLITEKNIK KESEHATAN KUPANG**

Direktorat: Jln. Piet A. Tallo Liliba - Kupang, Telp.: (0380) 8800256;  
Fax (0380) 8800256; Email: poltekkeskupang@yahoo.com



**HASIL PEMERIKSAAN LABORATORIUM**

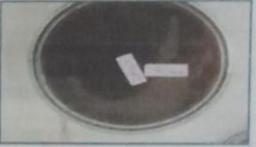
Nama : Atria Larasati  
NIM : PO. 530333316055  
Judul Penelitian : Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* Penghasil ESBL di Ruang IGD  
RSUD Naibonat Kabupaten Kupang Tahun 2019

Hasil Kultur Pada Media MCA (*Mac Conkey Agar*)

No	Instrumen	Petumbuhan Koloni	Gambar
1	Gagang Pintu /M.GP	a. Koloni sedang- besar b. Berwarna merah bata c. Smooth d. Cembung	
2	Wastefel / M.W	a. Koloni sedang- besar b. Berwarna merah bata c. Smooth d. Cembung	
3	Tempat Tidur 1 / M.TT1	a. Koloni sedang- besar b. Berwarna merah bata c. Smooth d. Cembung	
4	Tempat Tidur 2 / M.TT2	a. Koloni sedang- besar b. Berwarna merah bata c. Smooth d. Cembung	
5	Trolley Obat / M.TO	a. Koloni sedang- besar b. Berwarna merah bata c. Smoot d. Cembung	

6	Tiang Infus / M.TI	<ul style="list-style-type: none"> <li>a. Koloni sedang- besar</li> <li>b. Berwarna merah bata</li> <li>c. Smooth</li> <li>d. Cembung</li> </ul>	
7	Laci Lemari / M.LL	<ul style="list-style-type: none"> <li>a. Koloni sedang- besar</li> <li>b. Berwarna merah bata</li> <li>c. Smooth</li> <li>d. Cembung</li> </ul>	

Hasil Kultur Pada Media EMBA (*Eosin Methylen Blue*)

No	Instrumen	Petumbuhan Koloni	Gambar
1	Gagang Pintu /E.GP	<ul style="list-style-type: none"> <li>a. Koloni kecil-besar</li> <li>b. Berwarna hitam</li> <li>c. Smooth</li> <li>d. Cembung</li> </ul>	
2	Wastafel / E.W	<ul style="list-style-type: none"> <li>a. Koloni kecil-besar</li> <li>b. Berwarna hitam</li> <li>c. Smooth</li> <li>d. Cembung</li> </ul>	
3	Tempat Tidur 1 / E.TT1	<ul style="list-style-type: none"> <li>a. Koloni kecil-besar</li> <li>b. Berwarna hitam-merah muda</li> <li>c. Smooth</li> <li>d. Cembung</li> </ul>	
4	Tempat Tidur 2 / E.TT2	<ul style="list-style-type: none"> <li>a. Koloni kecil-besar</li> <li>b. Berwarna hitam</li> <li>c. Smooth</li> <li>d. Cembung</li> </ul>	
5	Trolley Obat / E.TO	<ul style="list-style-type: none"> <li>a. Koloni kecil-besar</li> <li>b. Berwarna hitam</li> <li>c. Smooth</li> <li>d. Cembung</li> </ul>	

6	Tiang Infus / E.TI	<ul style="list-style-type: none"> <li>a. Koloni kecil-besar</li> <li>b. Berwarna hitam</li> <li>c. Smooth</li> <li>d. Cembung</li> </ul>	
7	Laci Lemari / E.LL	<ul style="list-style-type: none"> <li>a. Koloni kecil-besar</li> <li>b. Berwarna hitam</li> <li>c. Smooth</li> <li>d. Cembung</li> </ul>	

Hasil Pewarnaan Gram

NO	Kode Sampel	Hasil Pengamatan
1	M.GP	Gram positif, batang panjang, warna biru
2	M.W	Gram negatif, batang pendek, warna merah
3	MTT1	Gram negatif, batang pendek, warna merah
4	MTT2	Gram negatif, batang pendek, warna merah
5	M.TO	Gram negatif, batang pendek, warna merah
6	M.TI	Gram negatif, batang pendek, warna merah
7	M.LL	Gram negatif, batang pendek, warna merah
8	E.GP	Gram positif, batang panjang, warna biru
9	E.W	Gram negatif, batang pendek, warna merah
10	E.TT1	Gram negatif, batang pendek, warna merah
11	E.TT2	Gram negatif, batang pendek, warna merah
12	E.TO	Gram negatif, batang pendek, warna merah
13	E.TI	Gram negatif, batang pendek, warna merah
14	E.LL	Gram negatif, batang pendek, warna merah

