

**EVALUASI SENSITIVITAS BAKTERI PENYEBAB ISPA PNEUMONIA
TERHADAP ANTIBIOTIKA AMOKSISILIN, SEFADROKSIL, TRIMETOPRIM,
SULFAMETOKSAZOL, SEFTRIAKSON DAN SEFOTAKSIM BERBASIS
MOLEKULAR DI RUMAH SAKIT UMUM DAERAH Dr. SLAMET KABUPATEN
GARUT**

**Nur ekawati risrina, Subarnas anas, Rostinawati tina
Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran**

Jl. Raya Bandung Sumedang Km. 21, Jatinangor, Jawa Barat, Indonesia
E-mail : risrinanurekawati1981@gmail.com

Abstrak

Salah satu upaya untuk mengurangi resistensi, pemberian antibiotika harus berdasarkan pola bakteri penyebab infeksi dan kepekaan bakteri terhadap antibiotik. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pola bakteri, sensitivitas dan resistensinya terhadap antibiotika di RSUD Dr. Slamet Kabupaten Garut. Sampel bakteri diambil dari sputum pasien ISPA pneumonia yang dirawat di ruang rawat inap Zamrud RSUD. Dr. Slamet Garut. Prosedur mikrobiologi standar yang digunakan yaitu analisis Polymerase Chain Reaction (PCR) untuk mengidentifikasi gen resistensi sedangkan uji difusi disk digunakan untuk menentukan pola resistensi antimikroba dari sputum pasien ISPA penumonia. Dari sampel sputum yang diteliti teridentifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*. *S. aureus* sudah resisten terhadap antibiotika amoksisilin, sefadroksil dan sulfametoksazol serta mengalami penurunan aktivitas terhadap antibiotika trimetoprim, seftriakson dan sefotaksim

Kata kunci: sensitivitas, bakteri, ISPA pneumonia, antibiotika, resistensi.

**EVALUATION OF BACTERIA SENSITIVITY CAUSES OF ISPA PNEUMONIA TO ANTIBIOTICS AMOCCISILINE, CEFADROKSIL, TRIMETOPRIM, SULFAMETOKSAZOL, CEFTRIAXON AND CEFOTAXSIM BASED ON MOLECULAR IN THE GENERAL HOSPITALS OF THE REGION
Dr. SLAMET DISTRICT GARUT**

Abstract

*One effort to reduce resistance, antibiotics should be based on patterns of bacteria that cause infection and bacterial susceptibility to antibiotics. The purpose of this study to determine the pattern of bacteria, sensitivity and resistance to antibiotics in RSUD Dr. Slamet Garut. Bacterial samples were taken from patient's sputum with ISPA pneumonia treated in Zamrud room RSUD. Dr. Slamet Garut. The standard microbiological procedure used is the analysis of Polymerase Chain Reaction (PCR) to identify resistance genes while the disk diffusion test is used to determine the antimicrobial resistance pattern of the ISPA pneumonia. From the sputum samples under study identified bacteria *Staphylococcus aureus*. *S. aureus* is resistant to the antibiotics of amoxicillin, cefadroxyl and sulfamethoxazole as well as inherent degradation of activity against trimethoprim antibiotics, ceftriaxone and cefotaxime.*

Keywords: sensitivity, bacteria, ARI pneumonia, antibiotics, resistance.

PENDAHULUAN

Pneumonia merupakan penyebab utama morbiditas dan mortalitas anak berusia di bawah lima tahun (balita). Diperkirakan hampir seperlima kematian anak di seluruh dunia, lebih kurang dua juta anak balita, meninggal setiap tahun akibat pneumonia, sebagian besar di Afrika dan

Asia Tenggara (Haryani et al., 2007). Berdasarkan data morbiditas 10 jenis penyakit terbanyak kasus rawat inap pada RSUD Dr. Slamet Kabupaten Garut Tahun 2014, ISPA pneumonia menempati urutan ke delapan dari sepuluh penyakit lainnya dengan jumlah kasus sebanyak 951 kasus (BP. RSUD dr. Slamet Kabupaten Garut, 2014).

Selain virus, agen utama penyebab infeksi saluran pernapasan adalah bakteri yang dapat menyebabkan infeksi primer atau super infeksi, sehingga membutuhkan pengobatan antibiotika (Nweze et al., 2011). Konsekuensi yang tidak terhindarkan akibat meluasnya penggunaan senyawa antibiotika adalah timbulnya galur bakteri resisten terhadap berbagai jenis antibiotika yang dapat menyebabkan pengobatan tidak lagi efektif dan efisien (Felmingham *et al.*, 2003). Salah satu upaya untuk mengurangi resistensi bakteri terhadap antibiotika, pemberian antibiotika harus berdasarkan pola bakteri penyebab infeksi dan kepekaan bakteri terhadap antibiotika (Smith et al., 2016).

Tujuan penelitian ini untuk memaparkan pola bakteri penyebab ISPA pneumonia, sensitivitas dan resistensinya terhadap antibiotika yang digunakan petugas kesehatan di ruang rawat inap Zamrud RSUD. Dr. Slamet Garut pada terapi ISPA pneumonia meliputi antibiotika amoksisilin, sefadroxil, trimetoprim, sulfametoksazol, seftriakson dan sefotaksim

dan kemungkinan adanya resistensi antibiotika.

BAHAN DAN METODE

1. Bahan

Bakteri uji yang akan digunakan adalah bakteri yang diambil dari sputum pasien ISPA pneumonia yang dirawat di ruang rawat inap Zamrud RSUD Dr. Slamet Kabupaten Garut. Antibiotika yang diuji meliputi Amoksisilin, Sefadroksil, Trimetoprim, Sulfametoksazol, Seftriakson dan Sefotaksim.

2. Pengumpulan sampel dan pengolahan

Sampel bakteri diambil dari sputum pasien ISPA pneumonia dengan cara dikumpulkan dalam pot plastik, diambil sebanyak 3 ml kemudian dimasukkan ke dalam media TSB yang telah disterilkan dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Bakteri ditanam pada media TSA dengan metode cawan gores. Media TSA steril dituangkan ke dalam cawan petri sebanyak 20 mL dan dibiarkan hingga padat. Kemudian 1 ose suspensi bakteri diambil dan digoreskan pada media TSA yang telah padat. Media TSA tersebut

diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Masing-masing koloni (*single koloni*) bakteri yang tumbuh dipindahkan ke dalam TSA baru. Identifikasi bakteri dilakukan dengan melihat morfologi koloni bakteri dan pewarnaan gram. Pewarnaan gram dilakukan untuk mengetahui bakteri tersebut bakteri negatif atau positif.

3. Identifikasi Bakteri Penyebab ISPA Pneumonia dengan Metode 16S rRNA PCR-Sekuensing.

Isolasi DNA total dilakukan dengan mengikuti protokol isolasi GeneJET™ Genomic DNA Purification Kit®. Amplifikasi gen 16S rRNA dilakukan dengan metode PCR. Primer yang digunakan dalam amplifikasi gen 16S rRNA adalah primer 1492R (5'GGTTACSTTGTTACGAC3') dan primer 27F (5'AGAGTTTGTATCMTGGCTCAG3').

Selanjutnya dilakukan elektroforesis DNA bakteri hasil PCR, pita DNA yang terbentuk diamati dengan *mini trans-iluminator UV*.

4. Sekuensing Fragmen 16S rRNA

Sekuensing fragmen DNA dilakukan dengan bantuan *Basic Local*

Alignment Search Tool (BLAST) urutan nukleotida yang kemudian dicocokkan dengan *data base* yang tersedia pada situs <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>.

5. Uji Sensitivitas/ Resistensi Bakteri

Sampel bakteri dari pasien diuji resistensi terhadap beberapa antibiotik yaitu Amoxicillin (10 µg), Sefadroksil (30 µg), Trimetoprim (5 µg), Sulfametoksazol (300 µg), Seftriakson (30 µg) dan Sefotaksim (30 µg). Media MHA cair (suhu 40-50 °C) ditambahkan ke dalam cawan petri yang telah berisi suspensi bakteri yang setara dengan standar 0,5 McFarland, lalu campuran tersebut dihomogenkan dan didiamkan hingga membeku. Setelah membeku, *paper disk* yang telah berisi antibiotik sebanyak 10 µl dengan masing-masing konsentrasinya ditempelkan pada media agar. Cawan ditutup dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam. Zona inhibisi (zona bening) yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong. Hasil yang diperoleh dibandingkan dengan buku pedoman *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI) tahun 2007.

6. Pengajuan *Ethical Clearance*

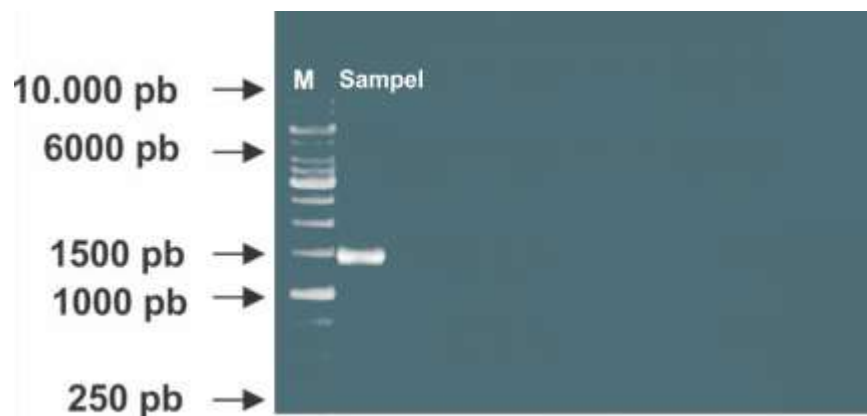
Sebelum penelitian ini dilakukan, proposal diajukan ke Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran untuk mendapatkan Persetujuan Setelah Penjelasan (PSP).

HASIL

1. Hasil Identifikasi Bakteri

Pewarnaan Gram isolat bakteri penyebab ISPA pneumonia pada sampel sputum menunjukkan adanya bakteri Gram positif. Identifikasi bakteri dilakukan menggunakan metode PCR 16S rRNA dari DNA bakteri yang telah diisolasi. Tahap PCR dilakukan tiga tahap yaitu denaturasi, penempelan primer (*annealing*) dan

pemanjangan (*extension*). Primer yang digunakan pada proses amplifikasi DNA yaitu primer 1492R (5' GGTTACSTTGTTACGAC 3') dan 27F (5' AGAGTTTGATCMTGGCTCAG 3') (Rinanda, 2011). Hasil amplifikasi DNA total kemudian dideteksi dengan elektroforesis gel agarosa 1% dengan DNA marker ukuran 1 kb dan divisualisasikan pada UV detektor. Elektroforesis dilakukan selama 40 menit dengan aliran arus listrik sebesar 100 volt. Hasil visualisasi DNA menunjukkan satu pita yang sejajar dengan marker pada ukuran basa 1500 pb, terlihat pada Gambar 1 pita yang dihasilkan sesuai dengan pemotongan pita yang dihasilkan oleh primer 1492R dan 27F yaitu 1500 pb.



Gambar 1. Visualisasi DNA Hasil Amplifikasi Gen Pengkode 16S rRNA

Pembacaan urutan basa (sekuensing) pada sampel bakteri dilakukan di Macrogen

Inc, Seoul, Korea. Proses ini dilakukan dengan membaca urutan DNA pada

fragmen 16S rRNA yang diperoleh pada proses PCR. Urutan DNA yang diperoleh kemudian dicocokkan dengan *database* yang terdapat pada situs <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov> dengan bantuan *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST). Bakteri yang teridentifikasi berdasarkan hasil sekuensing sampel sputum pasien ISPA Pneumonia adalah bakteri *S. aureus* dengan homologi 100%.

2. Hasil Uji Sensitivitas/ Resistensi Bakteri

Bakteri dari sampel sputum pasien ISPA pneumonia diuji resistensinya terhadap beberapa antibiotika untuk perawatan ISPA pneumonia yaitu Amoksisilin (10 µg/10 ml), Sefadroksil (30 µg/10 ml), Trimetoprim (5 µg/10 ml), Sulfametoksazol (300 µg/10 ml), Seftriakson (30 µg/10 ml) dan Sefotaksim (30 µg/10 ml). Hasil uji resistensi dapat dilihat pada Tabel 1 yang kemudian dibandingkan dengan buku pedoman uji resistensi yaitu CLSI tahun 2007.

Tabel 1. Hasil uji resistensi bakteri *S. aureus* terhadap antibiotika amoksisilin, sefadroksil, trimetoprim, sulfametoksazol, seftriakson dan sefotaksim.

Antibiotika	Diameter zona hambat (mm)	Diameter zona hambat berdasarkan CLSI 2007			Keterangan
		Resisten	Intermediet	Sensitif	
Amoksisilin	7,36 ± 1,41	≤ 28	-	≥ 29	Resisten
Sefadroksil	12,85 ± 2,00	≤ 14	15-17	≥ 18	Resisten
Trimetoprim	12,21 ± 3,00	≤ 10	11-15	≥ 16	Intermediet
Sulfametoksazol	5,53 ± 3,52	≤ 12	13-16	≥ 17	Resisten
Seftriakson	17,01 ± 1,42	≤ 13	14-20	≥ 21	Intermediet
Sefotaksim	20,51 ± 9,20	≤ 14	15-22	≥ 23	Intermediet

PEMBAHASAN

Bakteri yang teridentifikasi dari hasil pewarnaan Gram dan sekuensing merupakan bakteri Gram positif. Hal ini ditunjukkan dari warna yang diikat yaitu warna ungu. Bakteri yang teridentifikasi dari sampel sputum pasien ISPA

Pneumonia berdasarkan hasil sekuensing adalah bakteri *Staphylococcus aureus*. *S. aureus* adalah bakteri gram positif yang bersifat aerob fakultatif, tidak menghasilkan spora dan tidak motil, umumnya tumbuh berpasangan maupun berkelompok, dengan diameter sekitar 0,8-1,0 µm dan bentuk sel

kapsul. *S. aureus* merupakan patogen pada pasien yang dirawat di ICU, penyebab meningitis, arthritis dan nosokomial pneumonia, (Smith, 2016).

Pada penelitian ini diketahui bahwa *S. aureus* sudah resisten terhadap Amoksisilin, Sefadroksil dan Sulfametoksazol serta mengalami penurunan aktivitas terhadap antibiotika Trimetoprim, Seftriakson dan Sefotaksim. Berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Wai Ho Lim dkk (2012) ditunjukkan bahwa pada pengobatan infeksi *community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (CA-MRSA), strain CA-MRSA umumnya masih sensitif terhadap trimetoprim/ sulfametoksazol, flouroquinolon dan gentamisin tetapi sudah resisten terhadap klindamisin dan makrolida. Di Taiwan, 94-97% dari CA-MRSA resisten terhadap klindamisin dan erythromycin. Untuk mengatasi infeksi CA-MRSA invasif, glikopeptida seperti vankomisin dan linezolid, merupakan antibiotika alternatif yang disarankan untuk digunakan secara empiris dan dilanjutkan sampai uji sensitivitas.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada RSUD. Dr. Slamet Garut tempat pengambilan sampel sputum pasien ISPA pneumonia.

DAFTAR PUSTAKA

- Betz dan Cecily, L. 2002. *Buku Saku Keperawatan Pediatrik (Musby's Pediatric Nursing Reference)*, Ed.3, Jakarta : EGC.
- Bezoen, A., Van Haren, W., Hanekamp, J.C. 2001. Antibiotics : Use and Resistance Mechanisms. Human Health and Antibiotic Growth Promoters (AGPs), Geidelberg Appeal Nederland.
- Badan Pengelola Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Slamet Kabupaten Garut, 2014. *Profil BP. RSUD. Dr. Slamet Kabupaten Garut* . Garut.
- Direktorat Bina Komunitas dan Klinik Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2005. *Pharmaceutical Care untuk Infeksi Penyakit Saluran Pernafasan*, Direktorat Jenderal Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan;

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dirjen Pengendalian Penyakit dan Penyehatan Lingkungan. 2012. *Pedoman Penyakit Infeksi Saluran Pernapasan Akut*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Drancourt, M., Bollet, C., Carlioz, R., Martelin, R., Gayral, J.P., Raoult, D. 2000. 16S ribosomal DNA Sequence Analysis of A Large Collection of Environmental and Clinical Unidentifiable Bacterial Isolates. *J Clin Microbiol.* 38, 3623–3630.
- Felmingham, D., Farrella, D.J., Reinertb, R.R., Morrissey, I. 2003. Antibacterial resistance among children with community-acquired respiratory tract infections (PROTEKT 1999 – 2000). *Journal of Infection (2004)* 48, 39–55.
- Gotoh, K., Qin, L., Kiwao Watanabe Dang Duc Anh., Phan Le Thanh Huong., Nguyen Thi Hien Anh., Nguyen Dinh Lien Cat., Luong Linh Ha., Le Thi Thuy Ai., Nguyen Manh Tien., Truong Tan Minh., Kazunori Oishi., Hiroshi Watanabe. 2008. Prevalence of haemophilus influenzae with resistant genes isolated from young children with acute lower respiratory tract infections in Nha Trang, Vietnam. *J. Infect Chemother* : Japanese Society of Chemotherapy and The Japanese Association for Infectious Diseases ; 14:349–353.
- Hartmut, L., Thomas, M., Lionel, M., Peter, B., Rienk, P., Michael, T., and the 185 Gemifloxacin Study Group. Oral Gemifloxacin Versus Sequential Therapy with Intravenous Ceftriaxone/ Oral Cefuroxime with or without a Macrolide in the Teatment of Patients Hospitalized with Community – Acquired Pneumonia : A Randomized, Open-Label, Multicenter Study of Clinical Efficacy and Tolerability. *Clinical Therapeutics*, Vol 24. No 11., p. 1915-1936.
- Haryani, Y., Noorzaleha, A.S., Fatimah, A.B., Noorjahan., Patrick, G.B., Shamsinar, A.T., Laila, R.A.S., Son, R. 2006. Incidence of Klebsiella pneumonia in street foods sold in Malaysia and their characterization by antibiotic resistance,

- plasmid profiling, and RAPD-PCR analysis. *Food Control* 18 (2007) 847–853.
- Hideki Araoka., Masaru Baba., Chikako Okada., Masahiro Abe., Muneyoshi Kimura., Akiko Yoneyama. 2017. Evaluation of trimethoprim-sulfamethoxazole based combination therapy against *Stenotrophomonas maltophilia*: *in vitro* effects and clinical efficacy in cancer patients. *International Journal of Infectious Diseases*.
- Igor Rudan., Cynthia Boschi-Pinto., Zrinka Biloglav., Kim Mulholland., Harry Campbell. 2008. Epidemiology and etiology of childhood pneumonia. *Bulletin of the World Health Organization* 2008; 86: 408–416.
- Janda, J.M. dan Abbott, S.L. 2007. 16S rRNA Gene Sequencing for Bacterial Identification in the Diagnostic Laboratory: Pluses, Perils, and Pitfalls. *J. Clin. Microbiol.* Vol. 45, No. 9
- Jeff Powis., Allison McGeer., Karen Green., Otto Vanderkooi., Karl Weiss., George Zhanel., Tony Mazzulli., Magdalena Kuhn., Deirdre Church., Ross Davidson., Kevin Forward., Daryl Hoban., Andrew Simor., the Canadian Bacterial Surveillance Network., Donald E. Low. 2004. In Vitro Antimicrobial Susceptibilities of *Streptococcus pneumoniae* Clinical Isolates Obtained in Canada in 2002. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.*, p. 3305–3311.
- John G. Bartlett., Scott F. Dowell., Lionel A. Mandell., Thomas M. File Jr., Daniel M. Musher., and Michael J. Fine. 2016. *Practice Guidelines for the Management of Community-Acquired Pneumonia in Adults*. America : Guidelines From The Infectious Diseases Society Of America.
- Lane, D.J., Pace, B., Olsen, G.J., Stahl, D.A., Sogin, M.L., Pace, N.R. 1985. Rapid Determination of 16S ribosomal RNA Sequences for Phylogenetic Analyses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. Vol. 82, pp. 6955–6959.

- Nweze EI., Ezute S., Emeka Nweze CC., Ogbonna CC., Eze C. 2011. Bacteria etiological agents causing respiratory tract infections in children and their resistance patterns to a panel of ten antibiotics. *Asian pacific journal of tropical disease*; 1-6.
- Putri, O., Abrori, C., Astuti, I. 2015. Uji Sensitivitas Amoksisilin dan Eritromisin terhadap Infeksi Sekunder dari Spesimen Pasien ISPA. Jember : Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Rahman, M.T., Udin, M.S, Sultana, R., Moue, A., Setu, M. 2013. Polymerase Chain Reactions (PCR : A Short Review. *AKMMC J.* 4(1): 30-36.
- Refdanita., Maksum R., Nurgani A., Endang P. 2004. Pola Kepekaan Kuman Terhadap Antibiotika Di Ruang Rawat Intensif Rumah Sakit Fatmawati Jakarta Tahun 2001-2002. *Makara, Kesehatan*, VOL. 8, NO. 2. Jakarta.
- Rinanda, T. 2011. Analisis Sekuensing 16S rRNA di Bidang Mikrobiologi. *JKS.* 3:172-177.
- Smith Melanie N., Erdman Michael J., Ferreira Jason A., Aldridge Petra, Jankowski Christopher A. 2016. Clinical utility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal polymerase chain reaction assay in critically ill patients with nosocomial pneumonia, *Journal of Critical Care*.
- Wai Ho Lim a,b, Reyin Lien., Yhu-Chering Huang., Wen Jen Lee., Jing Yao Lai. 2012. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* necrotizing pneumonia in a healthy neonate. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 1-3.