

DETEKSI FENOTIPIK BAKTERI PENGHASIL *EXTENDED SPECTRUM* β -LACTAMASE PADA URIN PASIEN INFEKSI SALURAN KEMIH

Phenotypic Detection of Extended Spectrum β -lactamase Producing Bacteria in Urine of Patients with Urinary Tract Infections

Andi Wiguna Ainun Mulyani¹

¹Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Program Studi Sarjana Terapan
Poltekkes Kemenkes Makassar
Telepon : +6282393267591

*Email: andi_wiguna_tlm_20@poltekkes-mks.ac.id

ABSTRACT

Urinary tract infections (UTIs) are among the most prevalent infections globally. In Indonesia, the annual prevalence of UTIs reaches 180,000 cases. The use of broad-spectrum antibiotics for UTI management has led to an increase in bacterial resistance, particularly among bacteria producing Extended Spectrum β -lactamases (ESBL). This study aimed to detect the presence of ESBL-producing bacteria in urine samples from UTI patients. The method employed was the Double Disk Synergy Test (DDST) according to the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) guidelines for phenotypic confirmation. The study analyzed 12 urine samples and identified 5 bacterial species *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae*, *Alcaligenes faecalis*, and *Enterobacter aerogenes*. Three isolates were found to produce ESBL, with *Escherichia coli* accounting for 2 isolates (66.67%) and *Klebsiella pneumoniae* for 1 isolate (33.33%). The study indicates that *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* are the most common ESBL-producing bacteria in UTI patients. Monitoring antibiotic use is crucial to reduce resistance and enhance the effectiveness of UTI treatment.

Keywords: Antibiotic resistance, Extended Spectrum Beta-Lactamase, Double Disc Synergy Test, Urinary tract infection

ABSTRAK

Infeksi saluran kemih (ISK) merupakan salah satu infeksi dengan prevalensi tinggi di seluruh dunia. Di Indonesia, prevalensi kasus ISK mencapai 180.000 per tahun. Penggunaan antibiotik spektrum luas untuk penanganan ISK telah menyebabkan peningkatan resistensi bakteri, khususnya bakteri penghasil *Extended Spectrum β -lactamase* (ESBL). Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi keberadaan bakteri penghasil ESBL pada sampel urin pasien ISK. Metode yang digunakan adalah *Double Disk Synergy Test* (DDST) berdasarkan standar Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) untuk uji konfirmasi fenotipik. Dalam penelitian ini, diperoleh hasil 12 sampel urin, ditemukan 5 jenis bakteri, yaitu *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae*, *Alcaligenes faecalis*, dan *Enterobacter aerogenes*. Terdapat 3 isolat bakteri penghasil ESBL, dengan *Escherichia coli* sebanyak 2 isolat (66,67%) dan *Klebsiella pneumoniae* 1 isolat (33,33%). Penelitian ini menunjukkan bahwa *Escherichia coli* dan

Klebsiella pneumoniae adalah bakteri penghasil ESBL yang paling umum pada pasien ISK. Pemantauan penggunaan antibiotik sangat penting untuk mengurangi resistensi dan meningkatkan efektivitas pengobatan ISK.

Kata Kunci: *Extended Spectrum Beta-Lactamase, Double Disc Synergy Test, Infeksi Saluran Kemih, Resistensi antibiotik,*

PENDAHULUAN

Infeksi saluran kemih (ISK) merupakan salah satu infeksi yang paling banyak terjadi di seluruh dunia, ISK menyumbang 150 juta diagnosis setiap tahun serta lebih dari 50% wanita dan setidaknya 12% pria pernah mengalami ISK sekali dalam hidup mereka (Mlugu *et al.*, 2023). Di Indonesia, setidaknya terdapat 90 hingga 100 kasus per 100.000 orang per tahun, atau 180.000 kasus baru per tahun, menurut Survei Demografi dan Kesehatan Indonesia tahun 2014.

Penyebab terjadinya infeksi pada saluran kemih adalah adanya kolonisasi mikroorganisme pada saluran kemih mulai dari uretra hingga ginjal. Infeksi saluran kemih (ISK) disebabkan oleh bakteri yang menginfeksi saluran kemih melalui meatus uretra, lalu masuk ke kandung kemih, dan kemudian mengakibatkan sistitis. Jika bakteri menyebar ke bagian saluran kemih yang lebih tinggi, seperti ginjal, bakteri dapat menyebabkan pielonefritis (Scionti *et al.*, 2016). Sebanyak 75-90% ISK disebabkan oleh *Escherichia coli* (*E. coli*). Berikutnya adalah *Klebsiella sp*, *Proteus sp*, *Enterococcus sp*, dan *Staphylococcus saprophyticus* (Anggreini *et al.*, 2023).

Pada penatalaksanaan ISK, umumnya, menggunakan antibiotik spektrum luas (*broad spektrum*), yaitu antibiotik yang aktivitasnya mencakup dua atau lebih kelompok bakteri (Permenkes RI, 2021).

Namun, seiring berjalannya waktu, angka resistensi bakteri terhadap antibiotik semakin meningkat. Penggunaan antibiotik yang tidak tepat dalam terapi empiris, dapat menghasilkan pengobatan yang tidak efisien. (Adamus *et al.*, 2018).

Bakteri yang menghasilkan *Extended Spectrum β -lactamase* (ESBL) adalah salah satu jenis bakteri yang resisten terhadap antibiotik, terutama antibiotik β -laktam. ESBL pertama kali ditemukan pada tahun 1983 di Jerman dan pertama kali diidentifikasi pada bakteri *E. coli*. Bakteri ESBL menghasilkan enzim yang dapat menghidrolisis antibiotik golongan *penicillin*, *cephalosporin* generasi satu, dua, dan tiga serta golongan *monobactam* dan mengakibatkan resistensi terhadap antibiotik ini (Biutifasari, 2018; Castanheira *et al.*, 2021).

Secara epidemiologi prevalensi penyebaran ESBL di berbagai negara di dunia berbeda-beda. Prevalensi ESBL yang diproduksi oleh *E. coli* dan *Klebsiella pneumoniae* bervariasi, di Afrika sebanyak 44,3% dan 32,8%, Asia 35,7% dan 30,3%, Eropa 23,1% dan 25,4% isolat, dan Amerika Utara 28,1% dan 25%. Di Indonesia infeksi bakteri penghasil ESBL prevalensinya mencapai 65% (Maharani *et al.*, 2021; Ramatla *et al.*, 2023).

Resistensi antibiotik pada bakteri ESBL, terutama pada *E. coli*, menjadi penyebab tingginya prevalensi ISK komplikasi

(*complicated UTI*) yang sulit diobati. Kecenderungan peningkatan komplikasi ISK ini disebabkan oleh bakteri penghasil ESBL. Bakteri penghasil ESBL dapat menyebabkan pengobatan tidak efektif dan meningkatkan biaya perawatan akibat penggunaan antibiotik yang tidak sesuai (Maharani *et al.*, 2021).

METODE PENELITIAN

Desain, tempat dan waktu

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif yang bersifat observasi laboratorium yakni melakukan uji laboratorium bertujuan untuk mengetahui gambaran hasil pemeriksaan deteksi bakteri penghasil ESBL pada urin pasien ISK. Sampel penelitian diperoleh dari pasien ISK yang sedang menjalani perawatan di RSUD Labuang Baji Kota Makassar. Spesimen yang diperoleh diperiksa di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kemenkes Makassar. Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei sampai dengan bulan Juni 2024.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan adalah cawan petri, tabung reaksi, pipet tetes, gelas ukur, pinset, batang pengaduk, sendok tanduk, inkubator, ose (bulat dan nal), lampu spiritus, autoklaf, hot plate mikroskop, botol semprot, kapas, kapas lidi steril, dan obyek glass.

Bahan yang digunakan adalah reagen pewarna gram, disk antibiotik, dan media: *Mac Conkey Agar* (MCA), *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), *Sulfur Indol Motility* (SIM), Urea, *Simmount Citrate Agar* (SCA), Karbohidrat (Manitol, Glukosa, Maltosa, Laktosa, Sukrosa), *Mueller Hilton Agar* (MHA).

Isolasi dan Identifikasi Bakteri

Isolasi bakteri dari urin pasien ISK dilakukan dengan menggunakan metode gores pada medium MacConkey agar kemudian diinkubasi selama 16 – 24 jam dengan suhu 37°C. Setelah masa inkubasi diamati koloni bakteri yang tumbuh. Identifikasi bakteri dilakukan dengan uji karakteristik biokimia yaitu, dengan inokulasi pada media biokimia reaksi. Media biokimia reaksi yang digunakan adalah media kandungan gula (glukosa, sukrosa, maltose, laktosa, dan mannitol) sebagai sumber karbon, media TSIA, urea, medium untuk menguji Motilitas, dan mediaum IMVIC (Indol, MR, VP, Citrat)

Deteksi ESBL metode *Double Disc Synergy Test*

Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) dapat dideteksi menggunakan metode fenotipik yaitu *Double Disc Synergy Test* (DDST) berdasarkan panduan *Clinical And Laboratory Standards Institute* (CLSI) untuk ESBL.

Deteksi ESBL dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan media MHA. Pada uji ini terlebih dahulu disiapkan suspensi bakteri standar yang setara dengan 0,5 McFarland dan digoreskan pada media MHA. Selanjutnya, melakukan penempelan disk obat *ceftazidime* dan *ceftazidime/asam klavulanat* (30/10 µg), dan *cefotaxime* dan *cefotaxime/asam klavulanat* (30/10 µg) diletakkan dengan jarak 15 mm dari tengah lempengan agar MH, lalu diinkubasi selama 16-24 jam dengan suhu 37°C. Setelah dilakukan inkubasi, zona hambat pertumbuhan diukur dan dibandingkan dengan nilai standar. Bakteri positif menghasilkan ESBL jika dari pemeriksaan tersebut

terdapat peningkatan diameter zona hambat ≥ 5 mm dibandingkan dengan disk antibiotik dengan asam klavulanat. Zona hambat dengan sinergi khas yang terbentuk menyerupai ‘lubang kunci’ menunjukkan hasil positif ESBL. Zona hambat yang terjadi hanya pada cefotaxime atau sama sekali tidak terbentuk zona hambat pada kedua cakram disk, menunjukkan hasil negatif ESBL.

HASIL PENELITIAN

Sebanyak 12 sampel urin dari pasien ISK diisolasi pada Mac Conkey Agar (MCA) didapatkan hasil spesies bakteri pada urin pasien ISK adalah *Escherichia coli* 5 isolat (41,67%), *Serratia marcescens* 3 isolat (25%), *Klebsiella pneumoniae* 2 isolat (16,67%), *Alcaligenes faecalis* dan *Enterobacter aerogenes* masing-masing 1 isolat (8,33%).

Pada deteksi ESBL metode DDST dengan mengukur zona hambat disekitar cakram didapatkan hasil ESBL positif dari cefotaxime dengan amoxicillin clavulanate (30 µg/10 µg) adalah 3 sampel dari total 12 sampel, dengan isolat *Escherichia coli* sebanyak 2 isolat (66,67%) dan *Klebsiella pneumonia* 1 isolat (33,33%).

PEMBAHASAN

Deteksi fenotipik bakteri penghasil ESBL dengan metode DDST menunjukkan terdapat bakteri penghasil ESBL pada urin pasien ISK dengan persentase sebesar 25%. Dalam DDST, cakram amoxycillin-clavulanate (AMC) ditempatkan pada pelat agar Mueller-Hinton dengan jarak 20 mm dari cefotaxime (CTX 30 µg). Produksi ESBL ditandai oleh munculnya efek lubang kunci karena peningkatan aktivitas cefotaxime

dengan asam klavulanat (Ejaz *et al.*, 2013). Pembesaran zona dengan pola sinergitas antara cefotaxime dan menunjukkan adanya bakteri ESBL. Berdasarkan Uji konfirmasi CLSI, bakteri dianggap positif ESBL ketika zona penghambatan yang dihasilkan oleh efek gabungan cakram dengan asam klavulanat meningkat ≥ 5 mm daripada ceftazidim atau cefotaxime tanpa asam klavulanat (CLSI, 2020).

Dari 12 sampel yang diuji, ditemukan bahwa spesies bakteri yang positif ESBL adalah *E. coli* sebanyak 2 isolat (66,67%) dan *Klebsiella pneumonia* sebanyak 1 isolat (33,33%). *Escherichia coli* adalah bakteri penghasil ESBL yang dominan dan merupakan salah satu patogen paling umum penyebab ISK. *E. coli* adalah spesies bakteri yang paling banyak ditemukan dalam urin pasien ISK, dengan presentase 41,67%. Penelitian yang dilakukan oleh Ratna dkk. (2023) juga menunjukkan bahwa penyebab ISK terbanyak di laboratorium Prodia Blitar adalah bakteri *E. coli* (60%).

Berdasarkan hasil penelitian ini terdapat dua jenis bakteri penghasil ESBL, yaitu *E. coli* dan *Klebsiella pneumoniae*. Temuan ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Pratiwi dkk. (2023) yang menunjukkan bahwa bakteri umum menjadi penyebab ISK adalah *E. coli* (40,3%) dan *Klebsiella pneumoniae* (26,88%), merupakan bakteri penghasil ESBL dengan prevalensi yang cukup tinggi masing-masing 72,7% dan 67,4%. Penelitian oleh Ayu dkk (2021) di RSUP Sanglah juga menunjukkan bahwa prevalensi bakteri penghasil ESBL yang diisolasi dari pasien pneumonia periode 2019-2020 ditemukan lebih tinggi pada *E. coli* (93,3%) dibandingkan dengan

Klebsiella pneumoniae (69,2%) (Ayu et al., 2021; Pratiwi et al., 2023).

Berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Maharani dkk (2021) yang dilakukan di RSUP Dr. Soeradji Tirtonegoro Klaten tahun 2018 bakteri terbanyak penghasil ESBL adalah *Klebsiella pneumonia* yaitu sebesar 157 isolat (42,1%) di ikuti oleh *E. coli* sebesar 117 isolat (31,4%). Perbedaan hasil ini menunjukkan variasi prevalensi bakteri penghasil ESBL di berbagai lokasi dan waktu, yang dapat dipengaruhi oleh penggunaan antibiotik rumah sakit tersebut (Ayu et al., 2021).

Extended spectrum β -lactamase adalah enzim yang mempunyai kemampuan dalam menghidrolisis antibiotika golongan *penicillin*, *cephalosporin* generasi satu, dua, dan tiga serta golongan monobactam dan menyebabkan resistensi ke seluruh antibiotika tersebut. Pada deteksi ESBL secara fenotipik menurut panduan CLSI, terdapat dua langkah utama, yaitu tes skrining awal dan tes konfirmasi fenotipik. Tes skrining bertujuan untuk mendeteksi penurunan kerentanan terhadap berbagai *cephalosporin*, seperti *cefotaxime*, *ceftriaxone*, *ceftazidime*, *cefpodoxime*, dan *aztreonam*. Penurunan sensitivitas terhadap *cephalosporin* ini menunjukkan hasil positif. Jika hasil tes skrining positif, maka dilanjutkan dengan tes konfirmasi ESBL yang menunjukkan sinergi antara *ceftazidime* atau *cefotaxime* dengan *clavulanate*. Namun, dalam penelitian ini, hanya dilakukan tes konfirmasi ESBL tanpa melalui tahap tes skrining terlebih dahulu (CLSI, 2020).

Secara umum, bakteri *E. coli* dan *Klebsiella pneumoniae* penghasil ESBL ini telah terbukti memiliki prevalensi yang relatif tinggi sebagai penyebab kasus infeksi pada negara berkembang. Hal ini perlu di evaluasi lebih lanjut untuk membantu para tenaga medis mencegah kegagalan pengobatan pada pasien infeksi di rumah sakit. Penggunaan obat-obatan sefalosporin generasi ketiga yang sering dan meluas dianggap sebagai salah satu faktor yang berkontribusi terhadap peningkatan prevalensi kasus infeksi yang disebabkan oleh bakteri penghasil ESBL (Ayu et al., 2021).

Penyebab infeksi saluran kemih (ISK) sebagian besar berasal dari bakteri keluarga *Enterobacteriaceae*. *Enterobacteriaceae* terkenal karena kemampuannya memproduksi ESBL, enzim yang menyebabkan resistensi terhadap berbagai antibiotik β -laktam, termasuk *cephalosporin* dan *monobactam*. Namun, tidak semua strain dari spesies ini menghasilkan ESBL. Kemampuan untuk menghasilkan ESBL bergantung pada adanya gen spesifik yang mengkode enzim ESBL, seperti gen TEM, SHV, atau CTX-M, yang dapat hadir atau tidak pada strain tertentu. Bakteri lain yang biasanya tidak menghasilkan ESBL dapat mengakuisisi gen ESBL melalui transfer gen horizontal dari bakteri penghasil ESBL. Oleh karena itu, lingkungan dengan tekanan selektif tinggi, seperti rumah sakit dengan penggunaan antibiotik yang intensif, dapat memfasilitasi penyebaran gen ESBL di antara berbagai bakteri (Biutifasari, 2018).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa terdapat bakteri penghasil ESBL Pada urin

pasien ISK. Hasil dari kultur urin menunjukkan terdapat 5 jenis bakteri yang teridentifikasi, yaitu *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae*, *Alcaligenes faecalis*, dan *Enterobacter aerogenes* dan terdapat 3 isolat bakteri penghasil ESBL dari 12 sampel yang diisolasi dari sampel urin pasien ISK dengan isolat *Escherichia coli* sebanyak 2 isolat (66,67%) dan *Klebsiella pneumonia* 1 isolat (33,33%).

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada dosen, rekan, dan staf laboratorium yang telah membantu dan memberi arahan selama penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Adamus, B. W., Baraniak, A., Wawszczak, M., Głuszek, S., Gad, B., Wróbel, K., Bator, P., Majchrzak, M., & Parniewski, P. (2018). The Genetic Background of Antibiotic Resistance Among Clinical Uropathogenic *Escherichia coli* Strains. *Molecular Biology Reports*, 45(5), 1055–1065. <https://doi.org/10.1007/s11033-018-4254-0>
- Anggreini, H., Lamri, & Saputri, M. J. (2023). Pola Infeksi Bakteri Saluran Kemih Pada Spesimen Urin Pasien Diabetes Mellitus Di Ruang Rawat Inap RSUD A.W Sjahranie Tahun 2020-2021. 7(2), 48–55.
- Ayu, I., Pertiwi, S., Iswari, I. S., Januartha, K., & Pinatih, P. (2021). Prevalensi Bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae* Penghasil Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL) yang Diisolasi Dari Pasien Pneumonia di RSUP Sanglah Periode Tahun 2019-2020. *Jurnal Medika Udayana*, 10(12), 51–57.
- Biutifasari, V. (2018). Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL). *Oceana Biomedicina Journal*, 1(1), 1–11. <https://doi.org/10.30649/obj.v1i1.3>
- Castanheira, M., Simner, P. J., & Bradford, P. A. (2021). Extended-Spectrum β -lactamases: An Update on Their Characteristics, Epidemiology and Detection. *JAC-Antimicrobial Resistance*, 3(3), dlab092. <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlab092>
- CLSI. (2020). M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. In *Performance Standards for Antimicrobials Susceptibility Testing* (30th ed.). Clinical and Laboratory Institute (CLSI).
- Departemen Kesehatan RI. (2014). *Survei Demografi dan Kesehatan Indonesia*. Depkes RI.
- Ejaz, H., Ul-Haq, I., Mahmood, S., Zafar, A., & Mohsin Javed, M. (2013). Detection of extended-spectrum β -lactamases in *Klebsiella pneumoniae*: comparison of phenotypic characterization methods. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, 29(3), 768–772. <https://doi.org/10.12669/pjms.29.3.3576>
- Maharani, Y. R., Yuniarti, N., & Puspitasari, I. (2021). Prevalensi Bakteri Extended-Spectrum Beta-Lactamase dan Evaluasi Kesesuaian Antibiotik Definitif pada Pasien Rawat Inap Di

- RSUP Dr Soeradji Tirtonegoro Klaten. *Majalah Farmaseutik*, 17(2), 167–165. <https://doi.org/10.22146/farmaseutik.v17i2.48199>
- Mlugu, E. M., Mohamedi, J. A., Sangeda, R. Z., & Mwambete, K. D. (2023). Prevalence of urinary tract infection and antimicrobial resistance patterns of uropathogens with biofilm forming capacity among outpatients in morogoro, Tanzania: a cross-sectional study. *BMC Infectious Diseases*, 23(1), 660. <https://doi.org/10.1186/s12879-023-08641-x>
- Permenkes RI. (2021). Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 28 Tahun 2021 tentang Penggunaan Antibiotik. In *Permenkes RI* (pp. 1–97).
- Pratiwi, E., Linosefa, & Amelin, F. (2023). Perbandingan Pola Kepekaan Antibiotik Bakteri Penghasil Extended Spectrum Beta-Lactamase Penyebab Infeksi Saluran Kemih di Rumah Sakit Umum Pusat Dr. M. Djamil Padang. *Sari Pediatri*, 25(94), 163–169.
- Ramatla, T., Mafokwane, T., Lekota, K., Monyama, M., Khasapane, G., Serage, N., Nkhebenyane, J., Bezuidenhout, C., & Thekisoe, O. (2023). “One Health” perspective on prevalence of co-existing extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: a comprehensive systematic review and meta-analysis. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 22(1), 1–17. <https://doi.org/10.1186/s12941-023-00638-3>
- Scionti, A., Rossi, P., Gulino, P., Semeraro, A., Defilippi, C., & Tonerini, M. (2016). *Acute Pyelonephritis BT - Imaging Non-traumatic Abdominal Emergencies in Pediatric Patients* (V. Miele & M. Trinci (eds.); pp. 255–268). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-41866-7_17

Tabel 01
Hasil Isolasi dan Identifikasi Bakteri pada Urin Pasien ISK

Spesies Bakteri	Frekuensi	%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	16,67
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1	8,33
<i>Escherichia coli</i>	5	41,67
<i>Serratia marcescens</i>	3	25
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	8,33
Total	12	100

Tabel 02
Hasil Deteksi ESBL Metode DDST

Spesies Bakteri	ESBL	%	Non ESBL	%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	33,33	1	11,11
<i>Alcaligenes faecalis</i>	-	0	1	11,11
<i>Escherichia coli</i>	2	66,67	3	33,33
<i>Serratia marcescens</i>	-	0	3	33,33
<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	0	1	11,11
Total	3 (25%)		9 (75%)	



Gambar 1. ESBL positif pada deteksi ESBL metode DDST

