

DETEKSI BAKTERI *Klebsiella pneumonia* PADA ULKUS DIABETIKUM PADA PENDERITA DIABETES MELLITUS METODE MALDI-TOF

Detection of Klebsiella pneumoniae Bacteria in Diabetic Ulcers in Diabetes Mellitus Patients Using the MALDI-TOF Method

Ramlah

Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Makassar, Indonesia

Koresponden: ramlahsandu@gmail.com/081334985171

ABSTRACT

Diabetic ulcers are one of the serious complications in patients with Diabetes Mellitus (DM) caused by impaired tissue perfusion due to microorganism infection. One of the opportunistic pathogenic bacteria that is often found in this condition is Klebsiella pneumoniae. Rapid and accurate identification of bacteria is very important in determining the right antimicrobial therapy. Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) is one of the modern methods that offers high speed and accuracy in identifying microorganisms. This study aims to detect the presence of Klebsiella pneumoniae in diabetic ulcers using the MALDI-TOF method. The study was conducted in March-April 2025 at the Microbiology Laboratory of the Makassar Public Health Center. A total of 10 samples were taken using the total sampling technique from diabetic ulcers of DM patients by swabbing, then inoculated on MacConkey media and identified using the Vitek MS tool based on MALDI-TOF MS. The results showed that (30%) Klebsiella pneumoniae, (40%) Proteus mirabilis, (10%) Morganella morganii, and (20%) did not show colony growth. These results prove that MALDI-TOF MS is effective in detecting bacteria quickly and accurately. Therefore, this method is highly recommended to be implemented routinely in health laboratories, especially in facilities that handle diabetic ulcer cases, in order to accelerate the process of diagnosis and proper treatment of infections before they develop into chronic conditions.

Keywords : *Diabetic Ulcer, Klebsiella pneumonia, MALDI-TOF MS.*

ABSTRAK

Ulkus diabetikum merupakan salah satu komplikasi serius pada penderita Diabetes Mellitus (DM) yang disebabkan oleh gangguan perfusi jaringan akibat infeksi mikroorganisme. Salah satu bakteri patogen oportunistik yang sering ditemukan pada kondisi ini adalah *Klebsiella pneumoniae*. Identifikasi bakteri secara cepat dan akurat sangat penting dalam menentukan terapi antimikroba yang tepat. *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry* (MALDI-TOF MS) merupakan salah satu metode modern yang menawarkan kecepatan dan akurasi tinggi dalam identifikasi mikroorganisme. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi

keberadaan *Klebsiella pneumoniae* pada ulkus diabetikum menggunakan metode MALDI-TOF. Penelitian dilakukan pada bulan Maret–April 2025 di Laboratorium Mikrobiologi Balai Besar Kesehatan Masyarakat Makassar. Sebanyak 10 sampel diambil menggunakan teknik total sampling dari ulkus diabetikum pasien DM dengan cara swab, kemudian diinokulasi pada media *MacConkey* dan diidentifikasi menggunakan alat Vitek MS berbasis MALDI-TOF MS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa (30%) *Klebsiella pneumoniae*, (40%) *Proteus mirabilis*, (10%) *Morganella morganii*, dan (20%) tidak menunjukkan pertumbuhan koloni. Hasil ini membuktikan bahwa MALDI-TOF MS efektif dalam mendeteksi bakteri secara cepat dan akurat. Oleh karena itu, metode ini sangat direkomendasikan untuk diimplementasikan secara rutin dalam laboratorium kesehatan, terutama pada fasilitas yang menangani kasus ulkus diabetikum, guna mempercepat proses diagnosis dan pengobatan infeksi secara tepat sebelum berkembang menjadi kondisi kronis.

Kata kunci : Ulkus Diabetikum, *Klebsiella pneumonia*, MALDI-TOF MS

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus merupakan gangguan metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia akibat kelainan sekresi atau fungsi insulin (Soelistidjo *et al.*, 2021). **Ulkus diabetikum** merupakan salah satu komplikasi yang sering ditemukan pada penderita diabetes mellitus, terutama akibat gangguan perfusi jaringan yang disebabkan oleh neuropati dan infeksi mikroorganisme (Schaper, *et al.*, 2023). Infeksi ini dapat memperlambat proses penyembuhan dan meningkatkan risiko amputasi serta kematian (IDF, 2021).

Salah satu bakteri yang umum ditemukan pada ulkus diabetikum adalah *Klebsiella pneumoniae*, yang dikenal sebagai bakteri gram-negatif oportunistik yang dapat menyebabkan infeksi serius pada pasien dengan sistem imun yang lemah (Wyres & Holt, 2022). Identifikasi bakteri yang cepat dan akurat sangat diperlukan dalam penanganan ulkus diabetikum untuk mengoptimalkan terapi antimikroba yang sesuai. Metode MALDI-TOF MS telah dikenal sebagai teknologi

diagnostik modern yang memiliki tingkat sensitivitas dan spesifisitas tinggi dalam mengidentifikasi mikroorganisme berdasarkan sidik jari spektrum massa protein bakteri (Huo *et al.*, 2019).

Menurut penelitian Qona'ah *et al* bahwa, dari 39 pasien Diabetes Mellitus (DM) yang diteliti, 29 pasien (74,4%) positif mengalami infeksi bakteri. Infeksi paling banyak bakteri gram-negatif, 72,41% (21 dari 29 pasien), sedangkan infeksi gram-positif 27,59% (8 dari 29 pasien). Di antara bakteri Gram-negatif, spesies yang dominan meliputi *Escherichia coli* (ESBL) 13,79% (4 dari 29 pasien), *Klebsiella pneumoniae* 10,35% (3 dari 29 pasien), dan *Proteus mirabilis* 10,35% (3 dari 29 pasien (Qona'ah *et al.*, 2024).

Penelitian lain Mita Zuliana *et al* menganalisis 40 sampel ulkus pasien Diabetes Melitus dan menyatakan prevalensi banyak jenis bakteri. Menunjukkan *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* masing-masing ditemukan 22,5%

sampel. Selain itu, *Proteus mirabilis* dan *Pseudomonas aeruginosa* masing-masing terdeteksi 7,5% sampel, *Klebsiella pneumoniae* 15%, *Enterobacter agglomerans* 2,5%, *Enterobacter aerogenes* 5%, *Escherichia coli* 12,5% dan *Citrobacter freundii* 5% sampel (Mita, *et al.*, 2023).

Teknik identifikasi bakteri yang dilakukan di laboratorium mikrobiologi klinis pada umumnya menggunakan teknik diagnostik konvensional. Metode konvensional yang umum digunakan meliputi kultur bakteri, serangkaian uji biokimia dan mikroskopis untuk mengidentifikasi spesies bakteri penyebab infeksi (Pertiwi K *et al.*, 2021). Meskipun metode konvensional banyak digunakan dan dianggap efektif, metode ini memiliki keterbatasan. Salah satunya adalah waktu yang diperlukan untuk pertumbuhan kultur dan identifikasi bakteri, yang membutuhkan waktu beberapa hari. Selain itu, ada kemungkinan beberapa bakteri tidak dapat tumbuh pada media kultur standar, yang berpotensi menghasilkan hasil negatif palsu (Hleba *et al.*, 2021).

Dalam perkembangan teknologi ada teknik lain yang bisa diaplikasikan untuk uji diagnostik di Laboratorium Mikrobiologi Klinis untuk mendeteksi bakteri, yaitu *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry* (MALDI-TOF MS) digunakan menjadi pendukung dalam meningkatkan akurasi dan mempercepat proses deteksi bakteri (Prasetya, 2024). Metode MALDI-TOF MS menggunakan teknologi sidik jari (*Mass spectral fingerprints*), dimana tiap mikroorganisme ataupun mikroba mempunyai kode unik tersendiri hingga proses identifikasi mikroba atau mikroorganisme mempunyai tingkat keakuratan pada tingkat genus hingga tingkatan spesies (Damayanti, 2022). Oleh karena itu, isolasi dan identifikasi

bakteri *Klebsiella pneumonia* dengan kombinasi kultur untuk mendapatkan isolat murni dan dilanjutkan dengan teknologi MALDI-TOF menjadi langkah yang diperlukan (Mao *et al.*, 2024).

METODE

Desain, tempat dan waktu

Jenis penelitian ini adalah observasional dengan rancangan deskriptif. Penelitian ini dilaksanakan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Masyarakat Makassar dengan pengambilan sampel di RSUD Labuang Baji Makassar, Rumah Perawatan ETN Centre Makassar, dan Klinik Isam Cahaya Makassar pada bulan Maret–April tahun 2025.

Jumlah dan cara pengambilan subjek, bahan dan alat

Populasi penelitian ini yakni semua penderita Diabetes Mellitus Tipe 1 dan Tipe 2 dengan komplikasi ulkus diabetikum menjalani perawatan. Sampel penelitian ini yakni sampel jenuh atau semua populasi yaitu seluruh penderita diabetes mellitus Tipe 1 dan Tipe 2 dengan komplikasi ulkus diabetikum menjalani perawatan. Teknik pengambilan sampel dalam penelitian ini adalah *total Sampling*.

Bahan yang digunakan yaitu sampel pus ulkus pasien DM, media penanaman sampel (media *Mac Conkey*), alkohol 70%, NaCl fisiologis, aquadest, kertas pH, kain kasa steril, media swab Amies Collection & Transport dan label

Alat yang dipakai yaitu, pipet mikro, erlenmeyer, gelas ukur, batang pengaduk, sendok tanduk, neraca analitik, cawan petri, ose, inkubator, hot plate, Biosafety Cabinet (BSC), lemari pendingin, autoklaf, *coolbox*, Vitek MS dan alat tulis serta lembar persetujuan (*informed consent*).

Langkah-Langkah Penelitian

1. Pra Analitik

a. Sterilisasi alat

Sterilisasi peralatan yang akan digunakan terdiri dari cawan petri, ose lingkar, batang pengaduk, erlenmeyer, gelas ukur dan sendok tanduk dilakukan dengan memakai autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Langkah ini penting menghilangkan mikroorganisme diman mungkin ada pada peralatan sehingga sampel media yang dihasilkan bersih dan bebas dari kontaminasi sebelum digunakan dalam proses kultur dan pengujian mikroba.

b. Pengambilan sampel ulkus diabetikum

Langkah pertama menghilangkan kotoran dan eksudat kering menggunakan kain kasa dengan NaCl fisiologis. Kemudian kapas dari media dikeluarkan dari wadahnya, kemudian diusapkan ke dalam pus tanpa menyentuh tepi luka. Setelah itu, kapas dimasukkan pada media Amies lalu ditutup dengan rapat. Kemudian pada tabung Amies diberi identitas berupa nama, jenis kelamin, dan tanggal lahir yang kemudian dimasukkan kedalam *coolbox* dan dibawa ke laboratorium untuk diuji.

2. Analitik

a. Pembuatan Media *MacConkey*

Menimbang 15 gram bubuk media *MacConkey*, memasukkan kedalam Erlenmeyer dan larutkan dengan aquadest sebanyak 300 ml, memanaskan menggunakan *hot plate* hingga larut dan homogen, mensterilkan dengan autoklaf

pada suhu 121°C selama 15 menit. Sesudah, jika larutan media berada pada suhu 26–34°C, melakukan pengukuran pH menggunakan kertas pH (pH normal 7,4+0,2). Jika pH larutan media terlalu asam (pH di bawah nilai normal), maka dapat ditambahkan NaOH 0,1 N, sedangkan jika pH larutan media terlalu basa (pH di atas nilai normal), maka menambahkan HCL 0,1 N, menunggu suhu sampai hangat kuku (45°C–50°C), menghomogenkan dan menuang ke cawan petri. Kemudian media didiamkan hingga padat dan dibungkus, selanjutnya menyimpan pada lemari pendingin.

b. Isolasi dan Purifikasi Sampel Ulkus Diabetikum ke Media *MacConkey*

Sampel swab diinokulasikan pada media *MacConkey* dengan cara menggores pada permukaan media agar secara zig-zag untuk membentuk quadran streak, dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian mengamati pertumbuhan koloni dan perubahan warna pada media. Koloni yang tumbuh pada media MC selanjutnya dipurifikasi ke media MC yang baru dengan teknik yang sama seperti proses inokulasi sebelumnya untuk menghasilkan isolat murni dari pertumbuhan bakteri yang diduga *Klebsiella pneumonia* dengan waktu 24 jam.

c. Identifikasi bakteri dengan Vitek MS Metode MALDI-TOF

Hasil isolat ulkus diabetikum yang diperoleh kemudian dilanjutkan ke pemeriksaan menggunakan Vitek MS, yaitu

dengan mengambil 1 koloni murni yang diduga *Klebsiella pneumonia* pada media MC menggunakan ose lingkaran yang steril. Tempelkan koloni tersebut di spot pada plate MALDI-TOF dan ratakan secara merata. Setelah itu, tambahkan 1 µl matriks ke setiap spot yang berisi sampel lalu biarkan matriks kering pada suhu ruang selama 1-2 menit hingga mengeras. Input data identitas pasien, ke dalam perangkat lunak Vitek MS. Kemudian masukkan plate MALDI-TOF yang sudah berisi sampel ke dalam chamber Vitek MS dan jalankan perangkat lunak serta pilih mode analisis yang sesuai. Lalu mulai proses pembacaan. Proses pembacaan dimulai dan hasil identifikasi akan ditampilkan dalam bentuk grafik spektrum massa. Grafik hasil yang keluar akan dicocokkan berdasarkan grafik database yang tersimpan pada alat. (Biomérieux, 2019).

3. Pasca Analitik

a. Interpretasi hasil

Interpretasi hasil yang diperoleh yaitu pengamatan bakteri *Klebsiella pneumonia* dengan melihat pertumbuhan koloni pada media *MacConkey* (MC) dan grafik hasil dari alat Vitek MS.

b. Pemusnahan mikroorganisme yang tumbuh di media

Media dimana sudah digunakan akan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian peralatan yang telah digunakan dicuci bersih dan diangin-anginkan hingga kering..

Pengolahan dan analisis data

Data yang dipakai yakni data primer yang dihasilkan secara langsung dari proses isolasi sampel ulkus diabetikum, kemudian diidentifikasi sebagai bakteri *Klebsiella pneumonia*. Data dihasilkan pada penelitian ini dianalisis dengan cara deskriptif serta disajikan bentuk tabel kemudian di narasikan.

HASIL

Pada Tabel 4.1 Distribusi Sampel Ulkus Diabetikum Berdasarkan Jenis Kelamin, menunjukkan prevalensi ulkus pada penderita diabetes mellitus lebih tinggi pada Perempuan sebanyak 6 orang (60%) dibandingkan laki-laki yaitu 4 orang (40%).

Tabel 4.2 menunjukkan hasil isolasi pada media *MacConkey* dengan kode sampel 01 yaitu tidak berwarna, kecil, mengkilat, cembung, pinggirannya rata. Berikutnya pada kode sampel 02, 05 dan 06 yaitu merah muda, sedang, cembung menyerupai kubah. Selanjutnya pada kode sampel 03, 04, 09 dan 10 yaitu keruh, sedang, cembung dan pinggirannya rata. Terakhir untuk kode sampel 07 dan 08 tidak terjadi pertumbuhan koloni bakteri. Adanya pertumbuhan dengan beberapa morfologi koloni pada media *MacConkey* tidak cukup dalam mengidentifikasi bakteri, maka perlu dilakukan identifikasi lanjutan yaitu menggunakan MALDI-TOF MS.

Hasil identifikasi isolat bakteri menggunakan MALDI-TOF MS, menunjukkan bahwa *Klebsiella pneumonia* (30%) terdapat pada sampel 02, 05 dan 06. Selain itu, *Proteus mirabilis* (40%) pada sampel 03, 04, 09 dan 10. Selanjutnya *Morganella morganii* (10) pada sampel 01 dan pada sampel 07 dan 08 tidak diidentifikasi (20%) sebab tidak terjadi pertumbuhan

koloni pada Media *MacConkey*.

PEMBAHASAN

Diabetes merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia, atau peningkatan kadar gula darah di atas normal (Primadani & Safitri, 2021). Masalah kesehatan seperti serangan jantung, stroke, gagal ginjal, kerusakan saraf, amputasi anggota tubuh bagian bawah, dan kebutaan dapat timbul akibat hiperglikemia yang tidak terkontrol dalam tubuh. Akibatnya, diabetes melitus menimbulkan risiko besar bagi kesehatan masyarakat (Widyastuti et al., 2023).

Salah satu komplikasi yang umum terjadi pada penderita diabetes adalah luka pada bagian ekstremitas bawah, yang dikenal sebagai ulkus diabetikum. Kondisi ini merupakan kerusakan pada kulit atau infeksi yang dapat menyebar hingga ke jaringan yang lebih dalam, seperti otot, ligamen, dan tulang. Beberapa faktor yang memicu ulkus diabetikum antara lain gangguan pada pembuluh darah perifer, kerusakan saraf (neuropati), kurangnya perawatan kaki, durasi diabetes yang lama, serta gaya hidup yang tidak sehat (Primadani & Safitri, 2021).

Infeksi pada ulkus sering kali memperlambat proses penyembuhan. Keberadaan nanah yang terus-menerus pada luka menunjukkan aktivitas bakteri di area luka, (Idris, 2020). Infeksi kemudian dimulai ketika bakteri masuk ke dalam tubuh dan kadar gula yang tinggi menciptakan lingkungan yang ideal bagi pertumbuhan bakteri. Untuk itu, identifikasi bakteri merupakan langkah penting dalam diagnosis penyakit infeksi dan pengembangan strategi pengobatan yang efektif.

Hasil penelitian pada tabel 4.1 menunjukkan hasil prevalensi ulkus diabetikum penderita diabetes mellitus

lebih tinggi pada jenis kelamin perempuan sebanyak 6 orang (60%) dibandingkan laki-laki sebanyak 4 orang (40%). Hal ini menunjukkan bahwa penderita ulkus diabetikum di RSUD Labuang Baji Sulawesi Selatan, Klinik Isam Cahaya Makassar dan Klinik Luka "ETN Center" Makassar lebih banyak perempuan dibandingkan dengan laki-laki. Penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh (Herdianawati ringgu, 2023) pasien ulkus diabetik di Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin lebih banyak perempuan dibandingkan dengan laki-laki yaitu laki-laki sebanyak 4 orang dengan persentase 40%, dan jumlah responden perempuan sebanyak 6 orang dengan persentase 60%. Berdasarkan jurnal (Detty et al., 2020) menjelaskan bahwa setiap orang berisiko terkena diabetes melitus, namun wanita lebih mungkin terkena diabetes melitus dengan komplikasi ulkus diabetik daripada laki-laki.

Hal ini disebabkan wanita lebih jarang bergerak, tidak menghabiskan karbohidrat atau glukosa untuk aktivitas fisik, tidak berolahraga, dan memiliki komponen insulin yang meningkat selama kehamilan (IDF, 2021). Banyaknya penderita DM perempuan yang mengalami ulkus diabetik dikarenakan adanya perubahan hormonal pada perempuan yang memasuki masa menopause dimana produksi hormon estrogen mulai menurun sehingga terjadi penurunan elastisitas pembuluh darah yang menyebabkan terjadinya aterosklerosis, hipertensi, dan secara fisik lebih muda bagi perempuan untuk meningkatkan indeks massa tubuh (Febiola, R., & Wicaksana, A. Y, 2021).

Kejadian ulkus diabetikum ada pada siapa saja yang terkena diabetes melitus, dan hal tersebut dapat meningkatkan infeksi bakteri, sehingga

memerlukan metode untuk menentukan bakteri spesifik yang menjadi penyebab infeksi. Prosedur untuk mendeteksi bakteri dalam sampel ulkus diabetikum dapat dilakukan dengan isolasi bakteri pada media pertumbuhan. Dalam penelitian ini, media pertumbuhan bakteri yang digunakan adalah *MacConkey*, yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Hasil isolasi ulkus diabetikum menggunakan media *MacConkey* berdasarkan tabel 4.2 menunjukkan dari 10 sampel hanya terdapat 8 sampel yang mengalami pertumbuhan koloni yaitu pada sampel 01, 02, 03 04, 05, 06 09 dan 10, sedangkan 2 sampel lainnya tidak menunjukkan adanya pertumbuhan sampel 07 dan 08. Media *MacConkey* merupakan media selektif dan diferensial yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram-positif dan mampu membedakan bakteri Gram-negatif berdasarkan kemampuan fermentasi laktosa (Ryan, 2020).

Tabel 4.2 menunjukkan hasil kultur pada kode sampel 02, 05, dan 06 berdasarkan cirinya terjadi perubahan warna indikator pH menjadi merah muda yang menandakan bahwa bakteri yang tumbuh mampu memfermentasi laktosa dan berbentuk cembung serta berukuran sedang sehingga memiliki kemiripan ciri-ciri bakteri *Klebsiella pneumoniae*, ciri ini sesuai dengan karakteristik khas *Klebsiella pneumoniae*, yang merupakan bakteri Gram-negatif, fermentatif, dan kapsul-positif. Kapsul polisakarida menyebabkan koloni menjadi berlendir, dan kemampuan memfermentasi laktosa menghasilkan asam yang menurunkan pH media dan mengubah warna indikator menjadi merah muda serta kapsul memberi tekanan dari dalam sehingga koloni menonjol dan berbentuk cembung (Ranjbar &

Farahani, 2022). Hasil ini sesuai dengan penelitian Nofri et al., 2022 didapatkan hasil pada media *MacConkey Klebsiella pneumoniae* memiliki ciri koloni bulat, cembung dan berwarna pink (Nofri et al., 2022).

Sedangkan yang tidak memfermentasi laktosa, spesies bakteri Gram-negatif akan tetap membentuk koloni, tetapi koloni akan tampak berwarna putih pucat dan buram karena tidak ada perubahan pH karena tidak terjadi fermentasi laktosa. Pada kode sampel 01, 03, 04, 09, dan 10 berdasarkan ciri koloninya menunjukkan warna putih keruh hingga buram (tidak berwarna) yang menunjukkan bahwa bakteri yang tumbuh tidak memfermentasi laktosa sehingga tidak memiliki kemiripan ciri-ciri dari bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

Selanjutnya sampel kode 07 dan 08 menunjukkan tidak terjadinya pertumbuhan bakteri, sehingga dicurigai ditumbuhi bakteri Gram-positif karena bakteri Gram-positif tidak akan membentuk koloni apa pun pada media *MacConkey* sehingga tidak menunjukkan adanya pertumbuhan koloni bakteri pada media *MacConkey*. Hal ini sejalan dengan teori (Al-Tamimi et al., 2021) bahwa ada beberapa faktor yang dapat mengakibatkan tidak terjadinya pertumbuhan bakteri, antara lain : kesalahan teknik pengambilan atau transportasi sampel, adanya faktor penghambat pertumbuhan dalam sampel dan sampel mengandung bakteri Gram-positif atau anaerob yang tidak tumbuh di media *MacConkey*.

Adanya dugaan pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* pada 8 sampel ulkus diabetikum dengan berbagai morfologi koloni maka tidak sepenuhnya bisa dijadikan patokan untuk mendiagnosis infeksi, perlu dilakukan identifikasi lanjutan menggunakan teknik yang sensitivitas

dan spesifitas yang tinggi yaitu metode MALDI-TOF MS dengan menggunakan alat Vitek MS.

Hasil identifikasi bakteri dari isolasi ulkus diabetikum dengan metode MALDI-TOF MS berdasarkan Tabel 4.2, pada 8 sampel ada 3 sampel teridentifikasi bakteri *Klebsiella pneumonia* (37,5%) yaitu kode sampel 02, 05 dan 06. Selanjutnya 3 sampel teridentifikasi bakteri *Proteus mirabilis* (50%) yaitu kode sampel 03, 04, 09 dan 10. Kemudian 1 sampel teridentifikasi bakteri *Morganella morganii* (12,5%) yaitu kode sampel 01.

Hal ini sesuai pada penelitian yang dilakukan oleh Qona'ah *et al.* (2024) bahwa, dari 39 pasien Diabetes Mellitus (DM) yang diteliti, 29 pasien (74,4%) positif mengalami infeksi bakteri. Infeksi paling banyak bakteri Gram-negatif, 72,41% (21 dari 29 pasien), sedangkan infeksi Gram-positif 27,59% (8 dari 29 pasien). Di antara bakteri Gram-negatif, spesies yang dominan meliputi *Escherichia coli* (ESBL) 13,79% (4 dari 29 pasien), *Klebsiella pneumoniae* 10,35% (3 dari 29 pasien), dan *Proteus mirabilis* 10,35% (3 dari 29 pasien) (Qona'ah *et al.*, 2024).

Penelitian Pinem & Roslina, (2020) juga mengatakan diperoleh hasil bakteri Gram-negatif lebih banyak 72,8% daripada bakteri Gram-positif 27,2%. Bakteri Gram-negatif yang paling banyak diidentifikasi yaitu *Klebsiella sp* 43,75% (7 bakteri) dan *Proteus sp* 37,5% (6 bakteri), sedangkan bakteri Gram-positif yang paling banyak diidentifikasi yaitu *Staphylococcus aureus* 27,2% (6 bakteri).

Klebsiella pneumonia merupakan bakteri patogen yang memiliki kemampuan untuk bertahan hidup di dalam luka dengan membentuk lapisan komunitas mikroba ekstraseluler

yang melindungi diri sendiri. Ketika penderita diabetes dengan kadar gula darah meningkat disaat yang sama terjadi luka maka luka yang dibiarkan terbuka, *Klebsiella pneumonia* akan melekat pada jaringan luka menggunakan fimbriae dan adhesin kemudian terjadi edema, kemerahan, nyeri, dan eksudat luka (sering purulen) hingga terjadi ulkus diabetikum. Produksi faktor virulensi kapsul polisakarida pada *Klebsiella pneumonia* menyebabkan infeksi lebih parah dan bakteri lebih resisten terhadap antibiotik (Dendy *et al.*, 2020).

Sistem pencernaan, kulit, dan mulut sering menjadi tempat berkembang biaknya *Klebsiella pneumonia*. Meskipun demikian, tanah adalah tempat asalnya. Bakteri ini sering menyerang mereka yang memiliki sistem kekebalan tubuh yang lemah, termasuk penderita diabetes, pecandu alkohol, dan penderita penyakit paru-paru jangka panjang (Rahman & Prihartini, 2022).

Pada media *MacConkey* morfologi koloni *Klebsiella pneumonia* merah muda, sedang, dan cembung menyerupai kubah. Perubahan warna koloni menjadi merah muda menunjukkan bahwa bakteri ini mampu memfermentasi laktosa, maka selanjutnya dilakukan identifikasi metode MALDI-TOF MS, dengan melakukan pemilihan satu koloni murni pada media *MecConkey* yang di isolat dari sampel ulkus diabetikum dan ternyata menunjukkan hasil bakteri *Klebsiella pneumonia* yang sesuai dengan ciri-ciri pertumbuhannya.

Dalam identifikasi spesies bakteri untuk melihat reaksi metabolisme dari suatu spesies, seharusnya juga dilakukan dengan serangkaian uji biokimia IMViC (Indole, Methyl Red-Voges Proskauer dan Citrate). Namun, identifikasi dengan metode konvensional seperti ini

membutuhkan waktu yang cukup lama. maka proses identifikasi bakteri dilakukan dengan metode MALDI-TOF MS dengan proses pengerjaan dan preparasi sampel yang tidak membutuhkan waktu yang lama. Sehingga penerapan metode MALDI-TOF MS dalam identifikasi suatu spesies bakteri sangat dibutuhkan untuk kecepatan dan keakuratan karena alat ini mempunyai sensitivitas dan spesifitas yang tinggi.

Pemilihan koloni yang tumbuh pada media sangat berpengaruh pada keakuratan hasil identifikasi bakteri dengan teknologi MALDI-TOF MS sebab setiap spesies bakteri memiliki pola spektrum protein (fingerprint) yang khas dan hanya koloni tunggal dan morfologi khas yang menghasilkan profil protein konsisten dengan data referensi di database MALDI-TOF.

Selanjutnya berdasarkan tabel 4.2, *Proteus mirabilis* juga teridentifikasi pada sampel 03, 04, 09 dan 10. *Proteus mirabilis* termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae* yang merupakan bakteri aerob, bakteri ini termasuk bakteri patogen dan salah satu agen infeksi yang paling banyak ditemukan pada komplikasi kronis penderita diabetes mellitus yang umumnya terjadi di ekstremitas bawah (kaki). Bakteri ini bersifat opportunistic pathogen, artinya menyerang ketika pertahanan tubuh lemah, sehingga mudah menginfeksi luka yang terbuka, memproduksi enzim seperti protease dan urease yang memperburuk jaringan, membentuk biofilm yang membuat infeksi kronis dan sulit sembuh dan menyebabkan bau tidak sedap pada luka karena produksi senyawa amonia (Mahdani Wilda., et al, 2024).

Pada media *MacConkey* tampak morfologi koloni cembung, sedang, pinggiran rata, dan keruh. Maka selanjutnya dilakukan identifikasi

metode MALDI-TOF MS, dengan melakukan pemilihan satu koloni murni pada media *MecConkey* yang di isolat dari sampel ulkus diabetikum dan ternyata spektrum yang dihasilkan pada alat Vitek MS ini mengidentifikasi spesies *Proteus mirabilis*. Meskipun berdasarkan ciri pada media pertumbuhan tidak menunjukkan adanya perubahan warna menjadi merah muda, namun *Proteus mirabilis* ternyata mampu memfermentasi laktosa, (Sulastri , 2022).

Selain itu *Morganella morganii* juga teridentifikasi berdasarkan tabel 4.2. *Morganella morganii* merupakan bakteri opportunistik, artinya memanfaatkan kondisi luka terbuka dan sistem imun lemah untuk berkembang. Bakteri ini menginfeksi melalui luka terbuka, sering kali akibat trauma ringan atau tekanan yang dialami pada penderita diabetes mellitus dengan komplikasi ulkus diabetikum terutama pada neuropati diabetik (kerusakan saraf), selain itu mampu membentuk biofilm, yaitu lapisan komunitas bakteri yang terbungkus matriks polisakarida pelindung sehingga membuat infeksi kronik dan sulit disembuhkan (Liu, J. et al, 2022).

Morfologi koloni yang tampak pada media *MecConkey* adalah tidak berwarna, kecil, mengkilat, cembung, dan pinggiran rata. Ciri ini menunjukkan bahwa bakteri yang tumbuh lemah atau lambat dalam memfermentasi laktosa meskipun terjadi fermentasi laktosa. Adanya pertumbuhan koloni pada media *MecConkey* maka dilanjutkan dengan identifikasi menggunakan MALDI-TOF MS dan ternyata menghasilkan spektrum grafik dan mengidentifikasi bakteri sebagai *Morganella morganii*. Maka Metode ini menunjukkan bahwa identifikasi menggunakan MALDI-TOF MS betul memiliki ketepatan dan

keakuratan yang baik dalam penelitian ini.

Selain dari keakuratan dan ketepatan pada identifikasi bakteri metode MALDI-TOF MS, bakteri yang teridentifikasi pada responden terdapat berbagai spesies bakteri patogen pada masing-masing responden ulkus diabetikum bisa disebabkan oleh berbagai faktor, menurut Ayu *et al.*, (2022) ada beberapa faktor yaitu faktor respons imun seseorang, pola pemakaian antibiotik, dan kontaminan dari lingkungan serta adanya faktor lingkungan mikrobiologi pada kulit akibat terjadinya peningkatan konsentrasi glukosa pada keringat (Ayu *et.al.*, 2022). Adanya faktor pola pemakaian antibiotik khususnya dalam penanganan perawatan luka ulkus diabetikum, tenaga medis hendaknya memberikan antibiotik kepada pasien berdasarkan hasil kultur bakteri dan uji sensitivitas, dengan mempertimbangkan derajat infeksi ulkus diabetikum dan perlunya pengendalian penggunaan antibiotik di rumah sakit maupun di pelayanan kesehatan lainnya.

Pada penelitian ini, proses identifikasi bakteri menggunakan alat Vitek MS yang menerapkan metode MALDI-TOF MS merupakan teknik modern untuk mengidentifikasi mikroorganisme dalam sampel klinis dengan lebih cepat dan akurat. Isolat yang tumbuh pada media *MecConkey* dapat diketahui spesiesnya dengan menggunakan teknik ini karena memiliki sensitivitas dan spesifitas yang tinggi serta proses identifikasi yang membutuhkan waktu yang bervariasi tergantung dari banyaknya jumlah koloni yang diletakkan pada spot plate yang akan diidentifikasi.

Metode ini menggunakan isolat murni dari hasil kultur mikroorganisme bukan dari sampel pemeriksaan secara langsung sehingga menjadi salahsatu

kekurangan dari metode ini. Kekurangan lainnya dalam penelitian ini yaitu keberadaan mikroorganisme yang tidak dapat diidentifikasi oleh sistem database Vitek MS yang digunakan dan biaya yang terkait dengan penggunaan peralatan dan reagen Vitek MS yang relatif mahal sehingga menjadi hambatan dalam penggunaan rutin alat ini di laboratorium dengan anggaran terbatas atau dalam konteks penelitian yang memerlukan analisis dalam skala besar.

Metode identifikasi ini masih perlu dilakukan kombinasi metode lain seperti teknik molekuler yang cukup dengan menggunakan sampel pemeriksaan secara langsung, tidak dengan melakukan isolasi bakteri pada media pertumbuhan yang berpotensi meningkatkan akurasi diagnosis infeksi bakteri dengan memberikan pendekatan diagnostik yang lebih menyeluruh dan dalam identifikasi.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dengan sebanyak 10 sampel ulkus diabetikum pada penderita diabetes mellitus menggunakan metode MALDI-TOF MS diperoleh hasil identifikasi *Klebsiella pneumoniae* (30%), *Proteus mirabilis* (40%), *Morganella morganii* (10%), dan tidak menunjukkan pertumbuhan koloni (20%).

SARAN

1. Bagi peneliti selanjutnya perlu dilakukan penelitian dengan jumlah sampel lebih banyak, jenis bakteri lebih beragam dan dilanjutkan uji sensitivitas antibiotik agar dapat mengetahui efektifitas suatu antibiotik dalam membunuh suatu bakteri dengan mengembangkan metode identifikasi yang lebih sensitif dan spesifik dengan

- mengintegrasikan metode ke pemeriksaan berbasis molekuler.
2. Penggunaan metode identifikasi cepat seperti MALDI-TOF sebaiknya diterapkan secara rutin pada penderita DM yang dicurigai mengalami infeksi, agar terapi antimikroba dapat segera diberikan sebelum infeksi menyebar atau menjadi kronis.
 3. Laboratorium di rumah sakit maupun pelayanan kesehatan lainnya, khususnya yang menangani penderita DM komplikasi ulkus diabetikum sebaiknya melengkapi fasilitas dengan MALDI-TOF MS guna mempercepat proses identifikasi patogen, terutama dalam kasus infeksi yang berulang atau sulit diobati.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada kedua orang tua, dosen pembimbing, dan teman-teman mahasiswa yang telah berkontribusi dalam penelitian ini. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Direktur Poltekkes Kemenkes Makassar, Ketua Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, seluruh Dosen, dan Staf Jurusan Teknologi Laboratorium Medis yang telah mendukung dan memberikan bimbingan kepada peneliti agar penelitian yang dilakukan berjalan lancar.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Tamimi, M., Al-Mayah, A., & Al-Awadi, S. (2021). Factors influencing bacterial culture results in clinical microbiology: A review. *Journal of Infection and Public Health*, 14(5), 627–632. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2021.01.005>.
- Ayu NMD, Supono, Rahmawati I. (2022). Faktor-Faktor Yang

Mempengaruhi Terjadinya Ulkus Kaki Diabetik Pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2. *J Keperawatan dan Kesehatan Masy STIKES Cendekia Utama Kudus*. 2022;11(2):117–25.

Dendy, D., Nasrul, E., & Alia, E. (2020). Identifikasi Bakteri Gram Negatif Dan Uji Sensitivitas Antibiotik Ulkus Kaki Diabetes Di Rsup Dr. M. Djamil Padang. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 8(4). <https://doi.org/10.25077/Jka.V8i4.1111>

Febiola, R., & Wicaksana, A. Y. (2021). *Identifikasi Bakteri Patogen Dengan Hasil Uji Kultur Pada Kasus Ulkus Diabetik Di Rsud Kota Yogyakarta*.

Hleba, L., Hlebová, M., Kováčik, A., Čuboň, J., & Medo, J. (2021). Carbapenemase producing klebsiella pneumoniae (Kpc): What is the best maldi-tof ms detection method. *Antibiotics*, 10(12). <https://doi.org/10.3390/antibiotics10121549>

International Diabetes Federation. (2021). IDF Diabetes Atlas. In *Diabetes Research and Clinical Practice* (Vol. 102, Issue 2). <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2013.10.013>.

Liu, J. et al. (2022). *Pathogenic mechanisms and clinical characteristics of Morganella morganii in chronic wound infections*

Mahdani Wilda., et al. (2024). *Proteus mirabilis Dari Spesimen Luka Diabetik Di RSUD dr. Zainoel Abidin Banda Aceh*. SEL Jurnal Penelitian Kesehatan Vol. 14 No.1,

Juni 2024, 1-13.

Mita Zuliana, N., Suliati, S., & Endarini, L. H. (2023). Identifikasi Bakteri pada Luka Ulkus Pasien Diabetes Mellitus. *JPP (Jurnal Kesehatan Poltekkes Palembang)*, 18(2), 205–211.

Nofri Eka Yuliandi, Apriani, & Ariska Verri Marantika. (2022). Identifikasi Cemar Bakteri Escherichia Coli Pada Ayam Broiler Di Pasar Pos Duri Jakarta Barat. *Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan Indonesia*, 2(2). <https://doi.org/10.55606/jiki.v2i2.362>.

Pertiwi K, M., Wulandari, K. K., Rodja, H. A., Urjiyah, U. G., Fibriani, E., & Putri, F. A. (2021). Teknik Diagnostik Konvensional Dan Lanjutan Untuk Infeksi Bakteri Dan Resistensi Antibakteri Di Indonesia. *Jurnal Widya Biologi*, 12(02), 98–116.

Pinem, D. R. A., & Roslina, A. (2020). Pola Bakteri Pada Ulkus Penderita Diabetes Melitus dan Uji Kepekaan Terhadap Antibiotik Ceftriaxone dan Cotrimoxazole di Rumah Sakit Murni Teguh Medan. 4(4), 138–141.

Prasetya, S. N. A. A. O. Y. A. (2024). Deteksi Gen Nuc Pada Bakteri Staphylococcus aureus Dari Pasien Ulkus Diabetikum dan Pola Sensitivitasnya. 2024, VOL 3(Dm).

Primadani, A. F., & Safitri, D. N. P. (2021). Proses Penyembuhan Luka Kaki Diabetik Dengan Perawatan Luka Metode Moist Wound Healing. *Ners Muda*, 2(1), 9.

Qona'ah, I., Sundari, A. S., Wahyuni, R., & Indriati, D. W. (2024). Bacterial Profile and Antibiotic Susceptibility Test Among Diabetes Mellitus Patients With Gangrene in Surabaya. *Journal of Vocational Health Studies*, 7(3), 151–160.

Rahman, I. W., & Prihartini, A. (2022). Uji Antibiotik Pertumbuhan Pneumonia Penderita Sensitivitas Terhadap Klebsiella Dari Infeksi Sputum Saluran Pernapasan Bawah. *J-Hest Journal Of Health Education Economics Science Technology*, And 3(2).

Ryan, K. J., & Ray, C. G. (2020). *Sherrie Medical Microbiology* (7th ed.). New York: McGraw-Hill Education

Schaper, C., van Netten, J. J., Apelqvist, J., Bus, S. A., Fitridge, R., Game, F., & Monteiro-Soares, M. (2023). *AUTHORS Nicolaas IWGDF Practical Guidelines IWGDF Guidelines IWGDF Guidelines*. www.iwgdfguidelines.org

Soelistijo, S.A., & dkk. (2021). Pedoman Pengolahan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 Dewasa di Indonesia 2021. In Global Initiative for Asthma. PB. Perkeni. www.ginasthma.org.

Widyastuti, Wa Ode Sri Asnaniar, & Ernasari. (2023). Tingkat Pengetahuan Pasien Diabetes Melitus pada Pencegahan Luka Kaki Diabetes. *Window of Nursing Journal*, 4(1), 1–8.

Wyres, K. L., & Holt, K. E. (2022). *Klebsiella pneumoniae* as a key

trafficker of drug resistance genes
from environmental to clinically
important bacteria. *Current*

Opinion in Microbiology, 65, 104–

Tabel :

Tabel 4.1 Distribusi Sampel Ulkus Diabetikum Berdasarkan Jenis Kelamin

Jenis Kelamin	Frekuensi	Persentase
Laki-laki	4	40%
Perempuan	6	60%
Total	10	100%

Tabel 4.2 Hasil Isolasi Ulkus Diabetikum pada Media *MacConkey* dan Identifikasi menggunakan Metode MALDI-TOF MS

Kode Sampel	Hasil Isolasi	Hasil identifikasi (Metode MALDI-TOF MS)
01	Tidak berwarna, kecil, mengkilat, cembung, pinggiran rata	<i>Morganella morganii</i>
02	Merah muda, sedang, cembung menyerupai kubah	<i>Klebsiella pneumonia</i>
03	Keruh, sedang, cembung, pinggiran rata	<i>Proteus mirabilis</i>
04	Keruh, sedang, cembung, pinggiran rata	<i>Proteus mirabilis</i>
05	Merah muda, sedang, cembung menyerupai kubah	<i>Klebsiella pneumonia</i>
06	Merah muda, sedang, cembung menyerupai kubah	<i>Klebsiella pneumonia</i>
07	Tidak Tumbuh	-
08	Tidak Tumbuh	-
09	Keruh, sedang, cembung, pinggiran rata	<i>Proteus mirabilis</i>
10	Keruh, sedang, cembung, pinggiran rata	<i>Proteus mirabilis</i>