

**SELEKTIVITAS MEDIUM AGAR DARAH DENGAN
SUPLEMENTASI FOSFOMISIN PADA IDENTIFIKASI
Corynebacterium diphtheriae TERHADAP
Staphylococcus aureus DAN *Streptococcus
sanguinis***

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



**Oleh:
Widya Elsi Adriati
NIM 155070101111067**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

DAFTAR ISI

Judul.....	i
Lembar Pengesahan.....	ii
Lembar Orisinalitas.....	iii
Kata Pengantar.....	iv
Abstrak.....	vi
Abstract.....	vii
Daftar Isi.....	viii
Daftar Gambar.....	xii
Daftar Tabel.....	xiii
Daftar Singkatan.....	xiv

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan.....	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaat.....	4
1.4.1 Manfaat Akademis.....	4
1.4.2 Manfaat Praktis.....	4

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diferi.....	5
2.1.1 Pengertian Diferi.....	5
2.1.2 Epidemiologi.....	5
2.1.3 Patogenesis dan Patologi.....	6
2.1.4 Manifestasi Klinik.....	8
2.1.5 Uji Diagnosis.....	9
2.1.6 Tatalaksana.....	10
2.1.7 Pencegahan.....	10
2.2 Normal Flora.....	11
2.2.1 Pengertian Normal Flora.....	11

2.2.2 Normal Flora pada Mulut dan Saluran Nafas Atas.....	12
2.3 <i>Corynebacterium diphtheiae</i>	12
2.3.1 Taksonomi.....	12
2.3.2 Morfologi.....	13
2.3.3 Diagnostik Laboratorium.....	14
2.4 <i>Staphylococcus aureus</i>	15
2.4.1 Taksonomi.....	15
2.4.2 Morfologi.....	15
2.4.3 Diagnostik Laboratorium.....	16
2.5 <i>Streptococcus sanguinis</i>	17
2.5.1 Taksonomi.....	17
2.6 Fosfomisin.....	18
2.7 Cawan Agar Darah.....	19
BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	
3.1 Kerangka Konsep.....	20
3.2 Hipotesis.....	22
BAB 4. METODE PENELITIAN	
4.1 Rancangan Penelitian.....	23
4.2 Waktu dan Lokasi Penelitian.....	23
4.2.1 Waktu Penelitian.....	23
4.2.2 Lokasi Penelitian.....	23
4.3 Sampel dan Estimasi Jumlah Pengulangan.....	23
4.4 Variabel Penelitian.....	24
4.4.1 Variabel Bebas.....	24
4.4.2 Variabel Tergantung.....	25
4.5 Definisi Operasional.....	25
4.6 Instrumen Penelitian.....	26
4.6.1 Alat dan Bahan Identifikasi Bakteri.....	26
4.6.1.1 Pewarnaan Gram.....	26
4.6.1.2 Pewarnaan Neisser.....	27
4.6.1.3 Uji Katalase.....	27
4.6.1.4 Uji Koagulase.....	28

4.6.2	Alat dan Bahan untuk Pembuatan Suspensi Bakteri.....	28
4.6.3	Alat dan Bahan Dilusi Agar.....	29
4.7	Prosedur Penelitian.....	29
4.7.1	Identifikasi Bakteri.....	29
4.7.1.1	Pewarnaan Gram.....	29
4.7.1.2	Pewarnaan Neisser.....	30
4.7.1.3	Uji Katalase.....	31
4.7.1.4	Uji Koagulase.....	31
4.7.2	Pembuatan Suspensi Bakteri.....	32
4.7.3	Pembuatan Dilusi Agar.....	33
4.7.4	Pengamatan dan Pengukuran.....	34
4.8	Alur Penelitian.....	35
4.9	Pengumpulan dan Analisis Data.....	36

BAB 5. HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1	Hasil Penelitian.....	37
5.1.1	Identifikasi <i>Corynebacterium diphtheriae</i>	37
5.1.1.1	Penanaman pada Medium CTBA.....	37
5.1.1.2	Pewarnaan Neisser.....	38
5.1.1.3	Uji Katalase.....	39
5.1.1.4	Uji Koagulase.....	40
5.1.2	Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i>	40
5.1.2.1	Penanaman pada Medium Agar Nutrien.....	41
5.1.2.2	Pewarnaan Gram.....	41
5.1.2.3	Uji Katalase.....	42
5.1.2.4	Uji Koagulase.....	43
5.1.3	Identifikasi <i>Streptococcus sanguinis</i>	44
5.1.3.1	Penanaman pada Medium Agar Darah.....	44
5.1.3.2	Pewarnaan Gram.....	45
5.1.3.3	Uji Katalase.....	45
5.1.3.4	Uji Koagulase.....	46
5.1.4	Hasil Pertumbuhan Bakteri pada Agar Darah Fosfomisin.....	46
5.2	Analisis Data.....	50
5.2.1	Uji Kruskal Wallis.....	51

5.2.2 Uji Mann Whitney.....	52
-----------------------------	----

5.2.3 Uji Korelasi Spearman.....	57
----------------------------------	----

BAB 6. PEMBAHASAN

6.1 Pembahasan Hasil Penelitian.....	61
--------------------------------------	----

BAB 7. PENUTUP

7.1 Kesimpulan.....	70
---------------------	----

7.2 Saran.....	70
----------------	----

Daftar Pustaka.....	72
---------------------	----

Lampiran.....	75
---------------	----



HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

SELEKTIVITAS MEDIUM AGAR DARAH DENGAN SUPLEMENTASI
FOSFOMISIN PADA IDENTIFIKASI *Corynebacterium diphtheriae*
TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Streptococcus sanguinis*

Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran

Oleh :

Widya Elsi Adriati
NIM 155070101111067

Telah dituji pada

Hari : Rabu
Tanggal : 7 November 2018

Penguji,

Dr. dr. Retny Ratnawati, M.Sc
NIP. 195502011985032001

Penguji III/ Pembimbing I,

dr. Yuanita Mulyastuti, M.Si
NIP. 198208092009122004

Penguji III/ Pembimbing II,

dr. Elly Mayangsari, M.Biomed
NIP. 198405162009122005

Mengetahui,

Ketua Program Studi Pendidikan Dokter,

dr. Tri Wahyu Astuti, M.Kes, Sp P (K)
196310221996012001

ABSTRAK

Adriati, Widya Elsi. 2018. **Selektivitas Medium Agar Darah dengan Suplementasi Fosfomisin pada Identifikasi *Corynebacterium diphtheriae* terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus sanguinis***. Tugas Akhir, Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) dr. Yuanita Mulyastuti, M.Si (2) dr. Elly Mayangsari, M.Biomed

Difteri merupakan infeksi yang disebabkan oleh *Corynebacterium diphtheriae*. Diagnosis pasti kasus difteri yaitu menggunakan uji mikrobiologi dengan menemukan pertumbuhan pada biakan *Corynebacterium diphtheriae*. Medium yang digunakan untuk kultur *Corynebacterium diphtheriae* adalah CTBA. Masalah dalam proses identifikasi *Corynebacterium diphtheriae* adalah munculnya kontaminasi dari flora normal pada saluran nafas. Saat ini mulai dikembangkan medium semi selektif selain CTBA untuk medium alternatif kultur *Corynebacterium diphtheriae*. Salah satu medium semi selektif yang bisa digunakan adalah medium agar darah yang disuplementasi dengan fosfomisin. Fosfomisin merupakan antibiotik yang menghambat pertumbuhan *Corynebacterium diphtheriae* karena bakteri tersebut memiliki resistensi intrinsik terhadap fosfomisin. Normal flora yang digunakan sebagai pembanding adalah *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus sanguinis*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek medium agar darah yang disuplementasi dengan fosfomisin dalam meningkatkan selektivitas medium agar darah terhadap kultur *Corynebacterium diphtheriae* dibandingkan dengan *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus sanguinis*. Konsentrasi fosfomisin yang digunakan adalah 0 µg/ml, 16 µg/ml, 32 µg/ml, 64 µg/ml, 128 µg/ml, dan 256 µg/ml dengan lima kali pengulangan. Berdasarkan hasil penelitian, pertumbuhan *Corynebacterium diphtheriae* tidak dihambat oleh fosfomisin, pertumbuhan *Staphylococcus aureus* berhenti pada konsentrasi 16 µg/ml kecuali pada salah satu pengulangan dalam konsentrasi 128 µg/ml, dan pertumbuhan *Streptococcus sanguinis* berhenti pada konsentrasi 32 µg/ml kecuali pada salah satu pengulangan dalam konsentrasi 128 µg/ml. Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa agar darah yang disuplementasi dengan fosfomisin dapat meningkatkan selektivitas medium agar darah terhadap kultur *Corynebacterium diphtheriae* dibandingkan dengan *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus sanguinis*.

Kata kunci: *Corynebacterium diphtheriae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sanguinis*, fosfomisin

ABSTRACT

Adriati, Widya Elsi. 2018. **The Selectivity of Blood Agar Plate with Fosfomycin Supplementation on Identification of *Corynebacterium diphtheriae* to *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus sanguinis*.** Final Assignment, Medical Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) dr. Yuanita Mulyastuti, M.Si (2) dr. Elly Mayangsari, M.Biomed

Diphtheria is an infection caused by *Corynebacterium diphtheriae*. The definitive diagnosis of diphtheria is to use a microbiological test to find isolate of *Corynebacterium diphtheriae*. The medium used for culture *Corynebacterium diphtheriae* is CTBA. The problem in the identification of *Corynebacterium diphtheriae* is the contamination from normal flora in the airways. Currently, semi-selective mediums are being developed in addition to CTBA for an alternative medium of *Corynebacterium diphtheriae* culture. One semi-selective medium that can be used is blood agar medium supplemented with fosfomycin. fosfomycin is an antibiotic that shows low activity in preventing the growth of *Corynebacterium diphtheriae* because it has intrinsic resistance to fosfomycin. Normal flora used as the comparison are *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus sanguinis*. The purpose of this study was to determine the effect of blood agar medium supplemented with fosfomycin in increasing the selectivity of blood agar medium to *Corynebacterium diphtheriae* culture compared to *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus sanguinis*. fosfomycin concentrations used were 0 µg / ml, 16 µg / ml, 32 µg / ml, 64 µg / ml, 128 µg / ml, and 256 µg / ml with five repetitions. Based on the results of the study, the growth of *Corynebacterium diphtheriae* was not inhibited by fosfomycin, the growth of *Staphylococcus aureus* invisible at a concentration of 16 µg / ml except at one repetition in a concentration of 128 µg / ml, and *Streptococcus sanguinis* growth invisible at a concentration of 32 µg / ml except in one repetition in a concentration of 128 µg / ml. Based on this study it can be concluded that blood supplemented with fosfomycin can increase the selectivity of blood agar medium to *Corynebacterium diphtheriae* culture compared to *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus sanguinis*.

Keywords: *Corynebacterium diphtheriae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sanguinis*, fosfomycin

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kasus difteri dapat ditemukan di seluruh dunia. Difteri merupakan penyakit endemik di beberapa negara di Asia, Pasifik Selatan, Timur Tengah, Eropa Timur, Haiti, dan Republik Dominica. Angka kejadian yang rendah kasus difteri terjadi di negara industri seperti Amerika Serikat (CDC, 2015).

Sejak tahun 2011, wabah difteri banyak terjadi di Indonesia, Thailand, dan Laos (CDC, 2015). Tahun 2014 terdapat 7321 kejadian difteri yang dilaporkan kepada World Health Organization (WHO) dengan kasus tertinggi di negara India sejumlah 6094 kasus, Nepal sejumlah 1079 kasus, dan Indonesia sejumlah 430 kasus (WHO, 2016).

Data dari Kementerian Kesehatan Republik Indonesia menunjukkan pada tahun 2015 sebanyak 252 kasus difteri dilaporkan dan 5 kasus diantaranya meninggal dunia, sehingga *Case Fatality Rate* atau CFR sebesar 1,98%. Dari 13 provinsi yang melaporkan terjadinya kasus difteri, yang terbanyak adalah provinsi Sumatera Barat dengan 110 kasus.

Di Sumatera Barat terjadi peningkatan kasus atau disebut Kejadian Luar Biasa (KLB) dibanding tahun sebelumnya yang hanya sejumlah 9 kasus.

Setelah Sumatera Barat, provinsi dengan kasus difteri terbanyak selanjutnya adalah Jawa Timur dengan 67 kasus. Jumlah kasus difteri di

Jawa Timur mengalami penurunan dibandingkan tahun 2014 yang

jumlahnya 396 kasus, dan tahun 2013 dengan jumlah 610 kasus (Kemenkes RI, 2016).

Diagnosis difteri biasanya dilakukan secara klinis, karena difteri merupakan kasus yang memerlukan penanganan cepat (Kandun, 2016).

Tantangan yang terjadi adalah pada beberapa kasus adalah sulitnya untuk mengidentifikasi difteri secara klinis terutama di wilayah yang jarang terjadi

kasus difteri. Hal ini dikarenakan difteri sering menyerupai kondisi *Streptococcal sore throat*, *Vincent angina*, atau *glandular fever*. Oleh karena itu, diperlukan uji diagnostik secara mikrobiologi yang akurat (Efstratiou, 2000).

WHO merekomendasikan standar untuk melakukan uji diagnostik pada difteri maupun kasus-kasus lain yaitu uji diagnostik tersebut haruslah sederhana, cepat, dan dapat dipercaya serta diandalkan (Efstratiou, 2000).

Kultur bakteri dilakukan untuk mengkonfirmasi diagnosis dari difteri (Kandun, 2016). Medium *cysteine tellurite blood agar* merupakan medium yang selektif untuk pertumbuhan *Corynebacterium diphtheriae*. Medium ini akan menekan pertumbuhan bakteri lain. CTBA merupakan rekomendasi dari WHO untuk melakukan kultur terhadap *Corynebacterium diphtheriae* (Efstratiou, 2000).

Namun, CTBA merupakan medium yang hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri lain selain *Corynebacterium diphtheriae* sebesar 0,4%. Selain hal tersebut, medium ini masih dapat ditumbuhi oleh bakteri *Staphylococcus* dan *Streptococcus* (Efstratiou, 2000).

Beberapa medium semi selektif selain CTBA telah diujikan untuk *Corynebacterium* multiresisten lipofilik. Medium tersebut mengandung

tryptose agar yang disuplementasi dengan Tween 80, lecithin, histidin, gliserol, sodium thiosulfate, fosfomisin, ticarcillin, dan 5-fluorocytosine (Wichmann, 1984). Fosfomisin adalah antibiotik spektrum luas yang efektif terhadap bakteri kokus gram positif dan bakteri basil gram negatif seperti *Staphylococcus* dan *Streptococcus* (Wichmann, 1984). Selain itu, fosfomisin menunjukkan aktivitas yang rendah dalam mencegah pertumbuhan *Corynebacterium* (Soriano, 1994)

Bakteri yang menjadi pembanding dalam penelitian ini yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus sanguinis*. *Staphylococcus aureus* merupakan normal flora di saluran nafas atas, sedangkan *Streptococcus sanguinis* juga normal flora pada rongga mulut manusia. Kedua bakteri tersebut merupakan bakteri kokus gram positif yang sering ditemukan pada saat pengambilan spesimen dari *Corynebacterium diphtheriae* pada nasofaring ataupun tonsil.

Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dilihat selektivitas medium agar darah dengan suplementasi fosfomisin pada identifikasi *Corynebacterium diphtheriae* terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus sanguinis*.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah agar darah dengan suplementasi fosfomisin dapat meningkatkan selektivitas medium agar darah terhadap kultur *Corynebacterium diphtheriae* dibandingkan dengan *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus sanguinis*?

1.3 Tujuan

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui efek medium agar darah dengan suplementasi fosfomisin dalam meningkatkan selektivitas medium agar darah

terhadap kultur *Corynebacterium diphtheriae* dibandingkan dengan

Staphylococcus aureus dan *Streptococcus sanguinis*.

1.3.2 Tujuan Khusus

Mengetahui hubungan antara suplementasi fosfomisin pada agar

darah terhadap laju pertumbuhan *Corynebacterium diphtheriae*,

Staphylococcus aureus dan *Streptococcus sanguinis*.

1.4 Manfaat

1.4.1 Manfaat Akademis

a. Dapat dijadikan sebagai dasar teori untuk menambah ilmu pengetahuan di bidang kedokteran mikrobiologi, khususnya tentang selektivitas medium untuk kultur *Corynebacterium diphtheriae*.

b. Dapat menambah ilmu yang dapat digunakan untuk mengembangkan penelitian lebih lanjut mengenai selektivitas medium untuk kultur *Corynebacterium diphtheriae*.

1.4.2 Manfaat Praktis

Dapat dijadikan sebagai dasar aplikasi kultur *Corynebacterium diphtheriae* menggunakan medium agar darah fosfomisin.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Difteri

2.1.1 Pengertian difteri

Difteri merupakan infeksi lokal membran mukosa yang disebabkan oleh bakteri *Corynebacterium diphtheriae*. Karakteristik dari lokasi infeksi adalah ditemukannya *pseudomembran*. Beberapa strain dari *Corynebacterium diphtheriae* memproduksi toksin difteri, yaitu berupa protein yang dapat menyebabkan miokarditis, polineuritis, dan efek toksisitas yang lain. difteri di saluran pernafasan biasanya disebabkan oleh *Corynebacterium diphtheriae* toksinogenik (*tox*⁺), sedangkan difteri kulit seringnya disebabkan oleh *Corynebacterium diphtheriae* non-toksinogenik (*tox*⁻) (Kasper et al, 2015).

2.1.2 Epidemiologi

Kasus difteri dapat ditemukan di seluruh dunia. Difteri merupakan penyakit endemik di beberapa negara di Asia, Pasifik Selatan, Timur Tengah, Eropa Timur, Haiti, dan Republik Dominica. Angka kejadian yang rendah kasus difteri terjadi di negara industri seperti Amerika Serikat (CDC, 2015).

Sejak tahun 2011, wabah difteri banyak terjadi di Indonesia, Thailand, dan Laos. (CDC, 2015) Tahun 2014 terdapat 7321 kejadian difteri yang dilaporkan kepada World Health

Organization (WHO) dengan kasus tertinggi di negara India sejumlah 6094 kasus, Nepal sejumlah 1079 kasus, dan Indonesia sejumlah 430 kasus (WHO, 2016).

Data dari Kementerian Kesehatan Republik Indonesia menunjukkan pada tahun 2015 sebanyak 252 kasus difteri dilaporkan dan 5 kasus diantaranya meninggal dunia, sehingga

Case Fatality Rate atau CFR sebesar 1,98%. Dari 13 provinsi yang melaporkan terjadinya kasus difteri, yang terbanyak adalah provinsi Sumatera Barat dengan 110 kasus. Di Sumatera Barat terjadi peningkatan kasus atau disebut Kejadian Luar Biasa (KLB) dibanding tahun sebelumnya yang hanya sejumlah 9 kasus.

Setelah Sumatera Barat, provinsi dengan kasus difteri terbanyak selanjutnya adalah Jawa Timur dengan 67 kasus. Jumlah kasus difteri di Jawa Timur mengalami penurunan dibandingkan tahun 2014 yang jumlahnya 396 kasus, dan tahun 2013 dengan jumlah 610 kasus.

2.1.3 Patogenesis dan Patologi

Corynebacterium diphtheriae menginfeksi membran mukosa, paling sering pada saluran pernafasan, dan bisa menginvasi pada lesi kulit yang terbuka karena gigitan serangga atau trauma. Pada infeksi yang disebabkan oleh *tox* + *Corynebacterium diphtheriae*, edema awal dan hiperemia sering diikuti oleh nekrosis epithelial dan inflamasi akut. Koagulasi dari eksudat fibrinopurulen padat memproduksi pseudomembran, dan

reaksi inflamasi disertai kepadatan vaskular memperpanjang menjadi jaringan utama, disertai kongesti vaskular. Dalam pseudomembran banyak terdapat *Corynebacterium diphtheriae*, tetapi bakteri tersebut jarang terisolasi dari darah dan organ dalam (Kasper et al, 2015).

Toksin difteri bekerja baik secara lokal dan sistemik.

Jumlah yang sangat kecil menyebabkan dermonekrosis, seperti pada Schick test, dan toksin tersebut kiranya berkontribusi dalam pembentukan pseudomembran. Dosis lethal toksin difteri bagi seseorang yang tidak memiliki imunitas dan memiliki kerentanan yang tinggi yaitu sekitar 0,1 mikrogram/ kgBB. Toksin yang telah diabsorpsi dapat menyebabkan myocarditis, neuritis, dan nekrosis fokal pada organ lain termasuk ginjal, liver, dan kelenjar adrenal (Kasper et al, 2015).

Toksin difteri diproduksi oleh *Corynebacterium diphtheriae* sebagai polipeptida ekstraseluler. Toksin difteri dibagi oleh protease untuk membentuk toksin yang terbagi, terdiri dari fragmen A dan B yang dihubungkan dengan ikatan disulfide. Fragmen B berikatan kepada reseptor spesifik pada membran plasma sel dari manusia atau hewan yang rentan, dan toksin yang terikat akan masuk melalui proses endositosis yang diperantarai oleh reseptor. Fragmen A akan berpindah melalui membran endosomal dan keluar masuk ke dalam sitoplasma yang akan dikatalisis reaksi adenosin diphospat bagian dari *nicotinamide adenine dinucleotide* (NAD) menjadi modifikasi histidin residu (diphthamide) pada *elongation*

factor 2 (EF-2), inaktivasi EF-2 akan menghambat sintesis protein.

Satu molekul fragmen A pada sitoplasma mampu membunuh sel

(Kasper et al, 2015).

2.1.4 Manifestasi Klinik

Tanda dan gejala sangat tergantung terganggu pada lokasi dan keparahan

derajat dari infeksi lokal, usia pasien, penyakit nasofaringeal sebelumnya, dan penyakit sistemik yang sedang berlangsung secara bersamaan. Timbulnya penyakit biasanya bertahap, tapi banyak pasien menuju fasilitas kesehatan dalam beberapa hari setelah sakit dirasa bertambah parah. Sakit tenggorokan adalah gejala yang paling sering muncul. Demam 37,8^o C hingga 38,9^o C dan disfagia timbul pada beberapa pasien (Kasper et al, 2015)

Infeksi difteri paling sering terjadi di daerah tonsilar dan faringeal. Tanda awalnya seperti gejala difteri pada umumnya, tetapi tanda khasnya ditemukan pseudomembran.

Pseudomembran yang berlebihan akan menyebabkan obstruksi saluran nafas. Difteri yang semakin memburuk bisa menyebabkan edema pada area submandibular dan leher anterior disertai limfadenopati menyebabkan karakteristik seperti "bullneck" (CDC, 2015).

2.1.5 Uji Diagnosis

Prinsip utama diagnosis yang digunakan adalah dengan metode yang cepat, sederhana, dan dapat diandalkan (Efstratiou et al, 2000). Untuk mendiagnosis pasti kasus difteri yaitu dengan menemukan dan mengisolasi bakteri *Corynebacterium diphtheriae* atau dengan pemeriksaan mikrobiologi (Sariadji et al, 2015).

Pemeriksaan mikrobiologi diawali dengan pengambilan spesimen swab tenggorok. Spesimen diambil sejak kasus tersebut merupakan suspect difteri baik dengan pemberian antibiotik atau tidak sebelumnya. Swab dari spesimen tersebut harus segera dibawa ke laboratorium. Pengiriman spesimen menuju laboratorium harus menggunakan transport medium yang tepat. Medium yang digunakan untuk mengirimkan spesimen yaitu medium *Amie's* (CDC, 2015).

Sebelum dilakukan kultur bakteri, dilakukan pengecatan dengan pengecatan Gram dan Neisser. Hasil dari pengecatan Gram akan ditemukan tampilan seperti huruf Cina (CDC, 2015). Sedangkan melalui pengecatan Neisser akan menunjukkan adanya *methachromatic granule* (Brooks et al, 2013). Untuk inokulasi bakteri maka dilakukan kultur dengan medium yang spesifik, misalnya CTBA (Sariadji et al, 2015). Koloni yang telah ditemukan digunakan untuk mengonfirmasi kasus difteri (CDC, 2015).

2.1.6 Tatalaksana

Prinsip tatalaksana dari difteri adalah dengan menetralkan toksin difteri yang berada di sirkulasi dan membunuh *Corynebacterium diphtheriae*. Menurut CDC pada tahun 2015, tatalaksana yang bisa diberikan pada pasien kasus difteri antara lain:

1. Antitoksin Difteri

Antitoksin difteri diberikan dengan tujuan menetralkan toksin difteri yang masuk ke dalam tubuh. Setiap pasien yang suspect difteri langsung diberikan Antitoksin difteri dengan dosis yang tepat selama menunggu hasil kultur spesimen.

2. Antibiotik

Antibiotik yang diberikan untuk terapi yaitu eritromisin oral atau injeksi dengan dosis 40mg/kgBB/hari selama 14 hari. Antibiotik lain yang bisa digunakan selain tersebut diatas adalah pencillin procain G secara intramuscular (300.000 U/hari jika berat badan kurang dari 10 kg dan 600.000 U/hari jika berat badan lebih dari 10 kg) selama 14 hari.

2.1.7 Pencegahan

Untuk pencegahan difteri yang paling efektif adalah pemberian vaksin (Galazkaa, 2000). Vaksin yang diberikan berupa vaksin DPT. DPT merupakan gabungan vaksin untuk melawan penyakit difteri, pertussis, dan tetanus. Sesuai pedoman imunisasi dari IDAI, imunisasi DPT diberikan 3 kali sebagai imunisasi dasar (IDAI, 2015). Dengan pemberian imunisasi DPT, anak akan

terlindung penyakit berbahaya difteri, pertussis, dan tetanus yang sebenarnya penyakit tersebut dapat dicegah (IDAI, 2013). Data menunjukkan terjadi penurunan kasus difteri yang signifikan dari era sebelum vaksinasi dan setelah vaksinasi (Galazkaa, 2000).

2.2 Normal Flora

2.2.1 Pengertian Normal Flora

Normal flora merukan populasi organisme yang berada pada kulit maupun membran mukosa yang ada pada orang sehat (tidak menimbulkan penyakit). Penelitian menunjukkan normal flora merupakan salah satu lini pertama pertahanan terhadap bakteri, berperan dalam degradasi toksin, dan berkontribusi dalam maturasi sistem imun (Brooks et al, 2013).

Normal flora dibagi menjadi dua klasifikasi, yaitu normal flora residen dan normal flora transien. Normal flora residen merupakan mikroorganisme yang menetap, secara umum ditemukan pada area dan usia tertentu. Apabila mikroorganisme tersebut mengalami gangguan, maka mikroorganisme bisa mengembalikan dirinya kembali seperti semula (Brooks et al, 2013).

Normal flora transien mengandung mikroorganisme nonpatogenik maupun berpotensi patogenik yang berada pada kulit maupun membran mukosa selama beberapa jam, hari, atau minggu.

Mikroorganisme ini berasal dari lingkungan dan normalnya tidak menyebabkan penyakit, tetapi apabila diganggu mikroorgansme ini

akan berkoloni, berproliferasi, dan menyebabkan penyakit (Brooks et al, 2013).

2.2.2 Normal Flora pada Mulut dan Saluran Nafas Atas

Pada mulut, terutama pada dental plak, normal flora yang sering muncul normal flora yaitu *Streptococcus sanguinis* (Brooks et al, 2013)

Pada saluran nafas atas, normal flora yang terbanyak adalah corynebacteria, streptococci, dan staphylococci (*Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*) (Brooks et al, 2013).

2.3 *Corynebacterium diphtheriae*

2.3.1 Taksonomi

Berdasarkan konsensus yang disepakati, taksonomi dari *Corynebacterium diphtheriae* yaitu:

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Subkingdom	: <i>Posibacteria</i>
Phylum	: <i>Actinobacteria</i>
Subclass	: <i>Actinobacteridae</i>
Order	: <i>Actinomycetales</i>
Suborder	: <i>Corynebacterineae</i>
Family	: <i>Corynebacteriaceae</i>
Genus	: <i>Corynebacterium</i>
Species	: <i>Corynebacterium diphtheriae</i>

2.3.2 Morfologi

Corynebacterium diphtheriae memiliki diameter 0,5-1 mikrometer. Bakteri ini bentuknya *club-shaped*. Dalam pengecatan Gram, akan terlihat distribusi bakteri irregular atau membentuk penampakan seperti huruf Cina. *Corynebacterium diphtheriae* memiliki *granules* atau bentukan seperti butiran di ujungnya yang ketika diwarnai dengan pengecatan Neisser akan berwarna lebih gelap (*metachromatic granules*) sehingga basilnya memiliki bentuk seperti manik-manik (Brooks et al, 2013).

Koloni *Corynebacterium diphtheriae* yang dikultur pada agar darah akan memiliki morfologi kecil, granular, dan berwarna keabuan dengan tepi irregular serta memiliki zona hemolisis yang kecil. Pada medium agar yang mengantung *potassium tellurite*, koloninya berwarna coklat kehitaman karena tellurithnya berkurang secara intraselular (pada *Staphylococcus* dan *Streptococcus* akan menghasilkan warna hitam) (Brooks et al, 2013).

Ada 4 biotipe *Corynebacterium diphtheriae* yaitu *gravis*, *mitis*, *intermedius*, dan *belfanti*. Pembagian ini berdasarkan karakteristik pertumbuhannya seperti morfologi koloni, reaksi biokimia, dan keparahan infeksi yang ditimbulkannya (Brooks et al, 2013).

Corynebacterium diphtheriae tumbuh secara aerobik pada media yang biasa digunakan di laboratorium. Pada medium *Loeffler*, bakteri tumbuh lebih mudah dibandingkan dengan organisme lain di saluran pernafasan (Brooks et al, 2013).

2.3.3 Diagnostik Laboratorium

Pengambilan sampel dilakukan dengan swab hidung, tenggorok, atau lesi yang diduga terinfeksi bakteri. Sampel kemudian ditempatkan di medium transport semisolid seperti medium *Amie's* (Brooks et al, 2013).

Spesimen diinokulasi pada agar darah dan medium selektif seperti *tellurite plate* (Cystine Tellurite Blood Agar / CTBA) dan diinkubasi pada 37°C dengan 5% CO₂. Medium kemudian diamati selama 18-24 jam. Setelah 36-48 jam, koloni pada medium tellurite agar sudah bisa dikenali sebagai *Corynebacterium diphtheriae*.

Pada CTBA koloninya berwarna hitam dengan warna coklat disekitarnya (Brooks et al, 2013).

Untuk melihat toksigenitas dari *Corynebacterium diphtheriae*, beberapa pemeriksaan yang bisa dilakukan antara lain:

(Brooks et al, 2013)

1. Filter paper disk yang mengandung antitoksin (10 IU/disk)
2. PCR untuk mendeteksi *tox*
3. *Enzyme linked immunosorbent assays* untuk mendeteksi toksin difteri dari isolasi *Corynebacterium diphtheriae*
4. *Immunochromographic strip assays* untuk mendeteksi toksin difteri dalam hitungan jam. Pemeriksaan ini memiliki sensitivitas yang tinggi

2.4 *Staphylococcus aureus*

2.4.1 Taksonomi

Berdasarkan konsensus yang telah disepakati, taksonomi dari *Staphylococcus aureus* yaitu:

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Subkingdom	: <i>Posibacteria</i>
Phylum	: <i>Firmicutes</i>
Class	: <i>Bacilli</i>
Order	: <i>Bacillales</i>
Family	: <i>Staphylococcaceae</i>
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i>

2.4.2 Morfologi

Staphylococcus aureus merupakan bakteri kokus gram positif yang tersusun seperti anggur yang berkelompok. Bakteri ini dapat tumbuh dalam beberapa media dan dapat melakukan fermentasi karbohidrat (Brooks et al, 2013).

Staphylococcus aureus merupakan normal flora pada kulit dan mukosa dan bisa menyebabkan keracunan makanan, infeksi kulit, dan penyakit infeksi lain (Brooks et al, 2013).

Kultur *Staphylococcus aureus* pada mediumnya akan membentuk koloni yang terlihat bulat kecil, halus, menonjol, dan mengkilat, serta membentuk pigmen warna abu-abu hingga kuning keemasan (Brooks et al, 2013).

Staphylococcus dapat dibedakan dengan organisme *Streptococcus* karena mampu melakukan katalase positif.

Staphylococcus aureus merupakan bakteri dengan koagulase positif yang membedakan dengan bakteri *Staphylococcus* yang lain

(Brooks et al, 2013).

2.4.3 Diagnostik Laboratorium

Uji diagnostik laboratorium yang umum dilakukan untuk pemeriksaan *Staphylococcus aureus* adalah dilakukan pengecatan dan kultur. Berikut uji diagnostik laboratorium untuk identifikasi

Staphylococcus aureus : (Brooks et al, 2013)

1. Spesimen

Spesimen diambil dengan swab pada bagian yang mengalami infeksi, seperti pada nasal swab, pus, abses, aspirasi trakea, maupun cairan tulang belakang.

2. Smears

Spesimen dilakukan pengecatan Gram dan terdapat bakteri gram positif.

3. Kultur

Kultur dilakukan pada blood agar dan diinkubasi dalam CO₂ atau inkubasi dilakukan di dalam *candle jar* selama 18 jam, tetapi tidak akan terbentuk pigmen dari bakteri. Untuk medium khususnya dapat menggunakan *Mannitol Salt Agar*.

4. Katalase

Uji katalase digunakan untuk mendeteksi adanya sitokrom oksidase enzim. Hidrogen peroksida 3% ditetaskan dalam slide yang sudah terdapat bakteri maka akan terbentuk gelembung-gelembung yang menandakan terbentuk oksigen, menunjukkan uji katalase positif.

5. Koagulase

Koagulase tes positif akan menunjukkan terbentuknya endapan atau gumpalan pada bakteri yang ditetesi dengan reagen.

2.5 *Streptococcus sanguinis*

2.5.1 Taksonomi

Berdasarkan konsensus yang telah disepakati, taksonomi dari *Streptococcus sanguinis* yaitu:

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Subkingdom	: <i>Terrabacteria</i>
Phylum	: <i>Firmicutes</i>
Class	: <i>Bacilli</i>
Order	: <i>Lactobacillales</i>
Family	: <i>Streptococcaceae</i>
Genus	: <i>Streptococcus</i>
Species	: <i>Streptococcus sanguinis</i>

Awalnya *Streptococcus sanguinis* bernama *Streptococcus sanguis*, kemudian penamaan ini berubah menjadi *Streptococcus sanguinis* karena menyesuaikan tata bahasa Latin (Caufield et al, 2000).

Streptococcus sanguinis pertama kali diisolasi dan diidentifikasi sebagai spesimen independen oleh White dan Niven (40). Semenjak itu, organisme ini sering diisolasi dari darah pasien dengan subakut bakterial endocarditis. *Streptococcus sanguinis* merupakan normal flora pada dental plak (Hamada et al, 1980).

2.6 Fosfomisin

Fosfomisin merupakan obat golongan antibiotik yang berspektrum luas. Fosfomisin biasanya digunakan untuk infeksi saluran urinaria tanpa komplikasi pada wanita terutama infeksi karena bakteri *Escheresia coli* dan *Enterococcus faecalis*. Mekanisme kerja dari fosfomisin adalah dengan menghambat sintesis dinding sel dari bakteri. Spektrum luas dari fosfomisin bisa melawan bakteri gram positif dan negatif pada konsentrasi ≥ 125 mcg/mL (Katzung et al, 2012).

Fosfomisin memiliki dua bentuk sediaan, oral dan injeksi. Fosfomisin oral memiliki bioavailability sekitar 40%. Waktu paruh dari fosfomisin sekitar 4 jam. Obat ini aman digunakan saat kehamilan (Katzung et al, 2012).

Fosfomisin menunjukkan aktivitas hambat bakteri yang rendah terhadap *Corynebacterium diphtheriae*, sehingga fosfomisin bisa

digunakan sebagai antibiotik tambahan untuk membuat medium selektif bagi *Corynebacterium diphtheriae* (Soriano et al, 1995).

Fosfomisin memiliki aktivitas hambat bakteri yang sangat bagus untuk bakteri kokus gram positif, seperti Methicillin-resistant

Staphylococcus aureus, Cephalosporin dan Penicillin resistant

Streptococcus pneumoniae, dan spesies *Enterococci* (García et al, 2013).

Fosfomisin juga menunjukkan aktivitas yang baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif, seperti *E. coli*, *Proteus*

mirabilis, *K. pneumoniae*, spesies *Enterobacter*, *Citrobacter Sp*, *Serratia*

marcescens, *Neisseria meningitides*, *Shigella Sp*, dan *Salmonella typhi*

(García et al, 2013).

2.7 Cawan agar darah

Cawan agar merupakan cawan petri yang di dalamnya

terkandung medium pertumbuhan berupa komponen agar dan nutrisi

untuk pertumbuhan bakteri yang akan dikultur (Brooks et al, 2013). Agar

biasanya ditambahkan antibiotik sebagai komponen selektif terhadap

bakteri yang akan dikultur. Untuk menjadi medium yang selektif, maka

bahan yang ditambahkan harusnya merupakan antibiotik yang resisten

terhadap bakteri yang akan dikultur (Sariadji et al, 2015).

Agar darah merupakan cawan agar yang mengandung darah

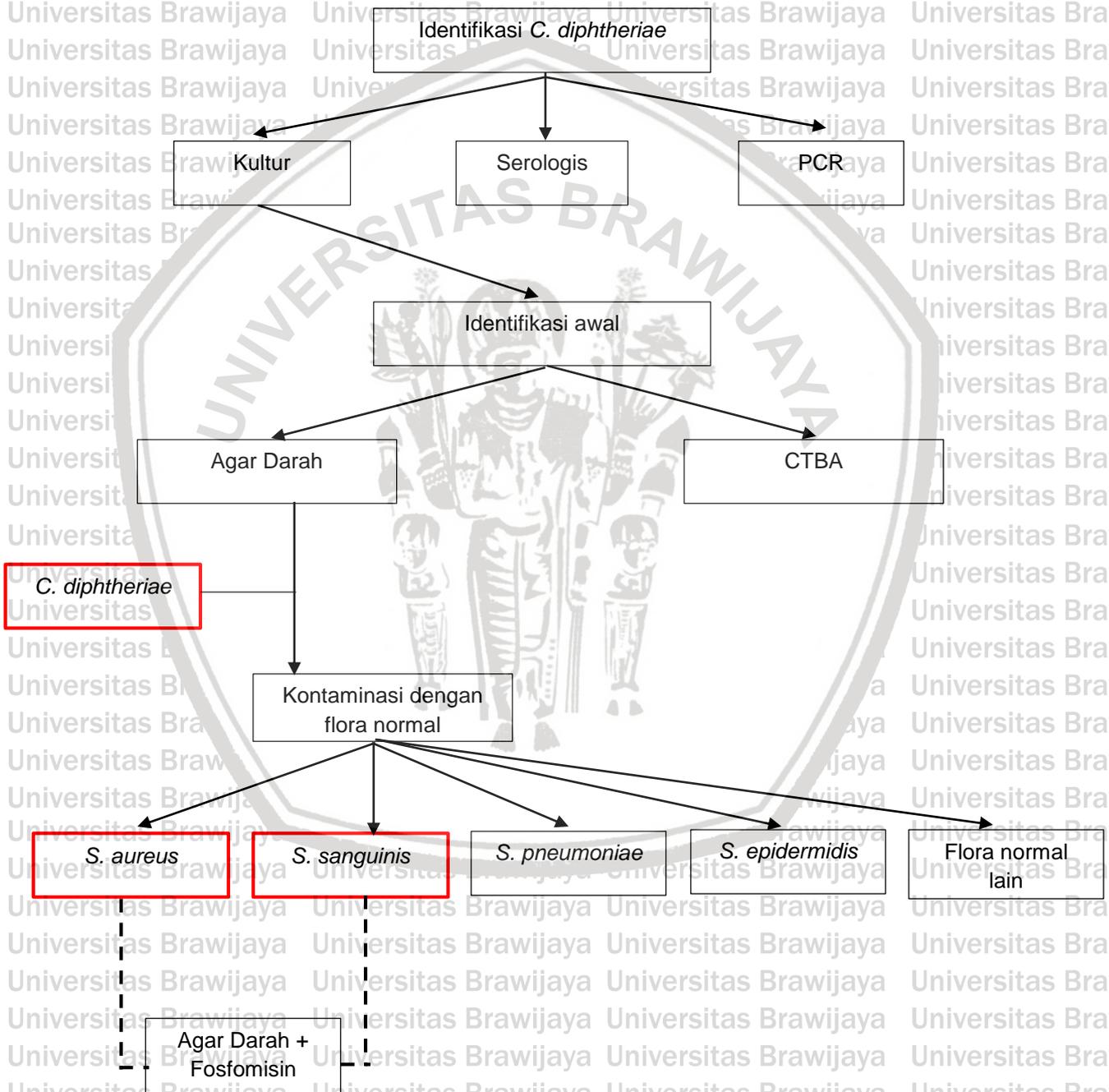
mamalia, biasanya domba atau kuda (Russell et al, 2006). Agar darah

digunakan untuk melihat aktivitas hemolitik dari bakteri yang akan

dikultur (Brooks et al, 2013).

BAB III
KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan:

Brawijaya : Variabel yang diteliti

----- : Menghambat pertumbuhan

Pada awal ditemukan kasus difteri, pemeriksaan secara klinis sering mengalami kesulitan karena tanda klinis yang hampir mirip dengan kasus gangguan saluran pernafasan yang lain. Oleh karena itu, untuk diagnosis kasus difteri perlu melalui pemeriksaan penunjang terlebih dahulu. Pemeriksaan yang sering dilakukan antara lain kultur bakteri, tes serologis, dan PCR.

Dalam kultur bakteri, untuk melakukan identifikasi awal bakteri yang menginfeksi, maka dilakukan kultur pada medium agar darah dan CTBA. Kultur dengan medium agar darah sering mengalami kesulitan identifikasi karena terjadi kontaminasi dengan bakteri lain. Bakteri yang sering menjadi kontaminan dalam kultur adalah normal flora yang berada pada mulut dan saluran nafas atas. Normal flora dominan yang berada pada mulut dan saluran nafas atas adalah *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, dan *Streptococcus sanguinis*.

Hasil penelitian menunjukkan fosfomisin memiliki sifat resistensi intrinsik dan daya hambat yang rendah terhadap *Corynebacterium diphtheriae* dan sensitif terhadap bakteri gram positif dan beberapa gram negatif yang lain, seperti *Staphylococci* dan *Streptococci*.

Pada penelitian ini akan diujikan medium alternatif untuk identifikasi awal bakteri pada kasus difteri bisa menggunakan agar darah

yang disuplementasi dengan fosfomisin. Oleh karena itu, dalam penelitian ini akan dibandingkan efek selektifitas agar darah yang ditambah fosfomisin dalam kultur *Corynebacterium diphtheriae* dibandingkan dengan *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus sanguinis*. Diharapkan agar darah yang ditambah fosfomisin akan menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus sanguinis* tetapi *Corynebacterium diphtheriae* tetap akan tumbuh.

3.2 Hipotesis

Hipotesis penelitian ini, yaitu:

Penambahan fosfomisin dapat meningkatkan selektivitas medium agar darah dalam kultur *Corynebacterium diphtheriae* yang dibandingkan dengan *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus sanguinis*.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Pada penelitian ini akan digunakan rancangan penelitian eksperimental laboratoris dengan desain penelitian *post test only control group* untuk mengetahui selektivitas medium agar darah yang disuplementasi dengan fosfomisin terhadap pertumbuhan bakteri *Corynebacterium diphtheriae* dibandingkan dengan *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus sanguinis* dengan metode dilusi agar.

4.2 Waktu dan Lokasi Penelitian

4.2.1 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2017-Februari 2018

4.2.2 Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang

4.3 Sampel dan Estimasi Jumlah Pengulangan

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri *Corynebacterium diphtheriae*, *Staphylococcus aureus*, dan *Streptococcus sanguinis* dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.

Menurut Solimun (2001), untuk penelitian eksperimental, jumlah pengulangan (N) pada tiap medium dapat diperoleh dari hasil perhitungan dibawah ini:

$$p(n-1) \geq 15$$

$$6(n-1) \geq 15$$

$$6n - 6 \geq 15$$

$$6n \geq 15 + 6$$

$$6n \geq 21$$

$$n \geq 3,5$$

Keterangan:

p : banyaknya kelompok perlakuan

n : jumlah pengulangan

Pada penelitian ini digunakan jumlah macam konsentrasi atau P sama dengan enam beserta kontrol negatif, maka jumlah pengulangan atau N sama dengan atau lebih dari tiga setengah. Jadi, pada penelitian ini dibulatkan dengan dilakukan lima kali pengulangan.

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah larutan fosfomisin dengan konsentrasi 0 µg/ml, 16 µg/ml, 32 µg/ml, 64 µg/ml, 128 µg/ml, 256 µg/ml. Konsentrasi tersebut didapatkan melalui referensi yang sudah ada sebelumnya. Bakteri disebut memiliki resistensi terhadap antibiotik apabila pada konsentrasi diatas 128 µg/ml,

maka nilai 128 µg/ml dijadikan sebagai nilai tengah serta dipilih satu konsentrasi diatas 128 µg/ml yaitu 256 µg/ml untuk menilai bakteri yang memiliki resistensi terhadap fosfomisin. Serta pemilihan konsentrasi 16 µg/ml hingga 64 µg/ml untuk melihat konsentrasi yang menyebabkan bakteri pembeding mati.

4.4.2 Variabel tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pertumbuhan bakteri *Corynebacterium diphtheriae*, *Staphylococcus aureus*, dan *Streptococcus sanguinis* dalam medium agar darah yang ditambah fosfomisin.

4.5 Definisi Operasional

1. Agar darah fosfomisin adalah agar darah yang ditambah dengan fosfomisin yang sudah diencerkan dengan kadar yang berbeda dengan metode dilusi agar. Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 0 µg/ml, 16 µg/ml, 32 µg/ml, dan 64 µg/ml, 128 µg/ml, 256 µg/ml .
2. *Corynebacterium diphtheriae* yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Corynebacterium diphtheriae* ATCC 27012 yang dimiliki oleh Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
3. *Staphylococcus aureus* digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* yang dimiliki oleh Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4. *Streptococcus sanguinis* digunakan dalam penelitian ini adalah *Streptococcus sanguinis* yang dimiliki oleh Laboratorium Mikrobiologi

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

5. Uji selektivitas dilakukan dengan melihat pertumbuhan bakteri dalam medium fosfomisin blood agar dengan melihat pertumbuhan *Corynebacterium diphtheriae* dan hambatan pertumbuhan

Streptococcus pneumoniae dan *Streptococcus sanguinis*. Interpretasi

pertumbuhan bakteri dengan menggunakan skala yang berdasarkan

Efstratiou tahun 2000:

+ 0 = tidak ada pertumbuhan bakteri

+ 1 = bakteri tumbuh dengan koloni tipis dan jumlah koloni sedikit

+ 2 = bakteri tumbuh dengan koloni tipis dan jumlah koloni banyak

+ 3 = bakteri tumbuh dengan koloni tidak penuh dan kurang padat

+ 4 = bakteri tumbuh dengan koloni penuh dan padat

4.6 Instrumen Penelitian

4.6.1 Alat dan Bahan Identifikasi Bakteri

4.6.1.1 Pewarnaan Gram

A. Alat

- Kertas penghisap
- Korek api
- Mikroskop
- Minyak emersi
- Object glass
- Ose

- Penjepit tabung reaksi

B. Bahan

- Bakteri *Corynebacterium diphtheriae*
- Bakteri *Staphylococcus aureus*
- Bakteri *Streptococcus sanguinis*
- Pewarna Gram

4.6.1.2 Pewarnaan Neisser

A. Alat

- Kertas penghisap
- Korek api
- Mikroskop
- Minyak emersi
- Object glass
- Ose
- Penjepit tabung reaksi

B. Bahan

- Bakteri *Corynebacterium diphtheriae*
- Pewarna Neisser

4.6.1.3 Uji Katalase

A. Alat

- Object glass
- Pipet tetes
- Ose

B. Bahan

- Bakteri *Corynebacterium diphtheriae*
- Bakteri *Staphylococcus aureus*
- Bakteri *Streptococcus sanguinis*
- Reagen Uji Katalase (H_2O_2 3%)

4.6.1.4 Uji Koagulase

A. Alat

- Object glass
- Pipet tetes
- Ose

B. Bahan

- Bakteri *Corynebacterium diphtheriae*
- Bakteri *Staphylococcus aureus*
- Bakteri *Streptococcus sanguinis*
- Reagen Uji Koagulase

4.6.2 Alat dan Bahan untuk Pembuatan Suspensi Bakteri

A. Alat

- Ose
- Tabung reaksi
- Spektrofotometer

B. Bahan

- Bakteri *Corynebacterium diphtheriae*
- Bakteri *Staphylococcus aureus*

- Bakteri *Streptococcus sanguinis*
- *Nutrient broth*
- Pengencer (*Water for Injection*)

4.6.3 Alat dan Bahan Dilusi Agar

A. Alat

- Tabung reaksi
- Plate atau disc
- Pipet
- *Vorteks*
- *Laminary cabinet*
- Inkubator
- Jangka sorong

B. Bahan

- Bakteri *Corynebacterium diphtheriae*
- Bakteri *Staphylococcus aureus*
- Bakteri *Streptococcus sanguinis*
- Nutrient agar cair
- Darah domba 5 %

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Identifikasi Bakteri

4.7.1.1 Pewarnaan Gram

Prosedur Pewarnaan Gram

1. Menyiapkan alat dan bahan
2. Membuat sediaan apusan kuman pada gelas objek
3. Menuang kristal violet ke atas sediaan, dibiarkan selama 1 menit. Kemudian buang sisa kristal violet dan membilas dengan air.
4. Menuang lugol ke atas sediaan lalu didiamkan selama 1 menit. Kemudian buang lugol dan membilas dengan air.
5. Menuang alkohol 96% ke atas sediaan selama 5-10 detik lalu buang alkohol dan membilas dengan air
6. Menuang safranin ke atas sediaan selama 30 detik lalu buang sisa safranin dan membilas dengan air.
7. Mengeringkan sediaan dengan menggunakan kertas penghisap.
8. Melihat sediaan dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000 x dengan bantuan minyak emersi.

4.7.1.2 Pewarnaan neisser

Prosedur pewarnaan neisser.

1. Menggenangi sediaan bakteri dengan Neisser AB selama 1 menit. Lalu buang genangan.
2. Menggenangi sediaan bakteri dengan Neisser C selama 30 detik lalu buang genangan.
3. Mengeringkan sediaan dengan kertas saring.

4. Melihat sediaan dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000 x dengan bantuan minyak emersi.

4.7.1.3 Uji Katalase

Uji katalase dilakukan dengan menyediakan koloni bakteri *Corynebacterium diphtheriae*, *Staphylococcus aureus*, dan *Streptococcus sanguinis* pada gelas objek.

Kemudian sediaan tersebut ditetesi dengan larutan H₂O₂ 3%. Perhatikan ada tidaknya gelembung udara yang terjadi. Hasil untuk *Corynebacterium diphtheriae* dan *Staphylococcus aureus* adalah ada gelembung atau tes katalase positif, sedangkan pada *Streptococcus sanguinis* adalah tidak ada gelembung atau tes katalase negatif.

4.7.1.4 Uji Koagulase

Uji koagulase dilakukan dengan menyediakan koloni bakteri *Corynebacterium diphtheriae*, *Staphylococcus aureus*, dan *Streptococcus sanguinis* pada gelas objek.

Kemudian sediaan tersebut ditetesi dengan reagen untuk uji koagulase. Perhatikan ada tidaknya endapan yang terbentuk. Hasil untuk *Corynebacterium diphtheriae* dan *Streptococcus sanguinis* adalah tidak ada endapan, sedangkan pada *Staphylococcus aureus* ditemukan endapan.

4.7.2 Pembuatan Suspensi Bakteri

1. Mengambil koloni *Corynebacterium diphtheriae* dari medium asal dengan menggunakan ose
2. Memasukkan bakteri ke dalam tabung reaksi steril yang berisi *Nutrient broth*, kemudian melakukan spektrofotometri pada tabung reaksi tersebut dengan panjang gelombang 625nm untuk mengetahui *optical density* dari suspensi tersebut
3. Untuk mendapatkan konsentrasi bakteri sebesar 10^8 /ml yang setara dengan OD = 0,1 (Murray et al, 1999), dilakukan dengan penghitungan sebagai berikut:

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

Keterangan:

N_1 = Hasil Spektrofotometri

V_1 = Volume bakteri yang akan ditambah dengan pengencer

N_2 = OD (0,1 setara dengan 10^8)

V_2 = Volume suspensi bakteri uji (10 ml)

4. Dari perhitungan di atas, setelah diperoleh volume (ml) bakteri yang akan ditambah pengencer untuk mendapatkan bakteri dengan konsentrasi 10^8 /ml sebanyak 10 ml
5. Setelah diperoleh suspensi bakteri dengan konsentrasi 10^8 /ml sebanyak 10 ml, dilakukan pengenceran sebanyak

100 kali dengan menggunakan NaCl dan nutrient broth, sehingga konsentrasi bakteri menjadi $10^6/ml$

4.7.3 Pembuatan Dilusi Agar

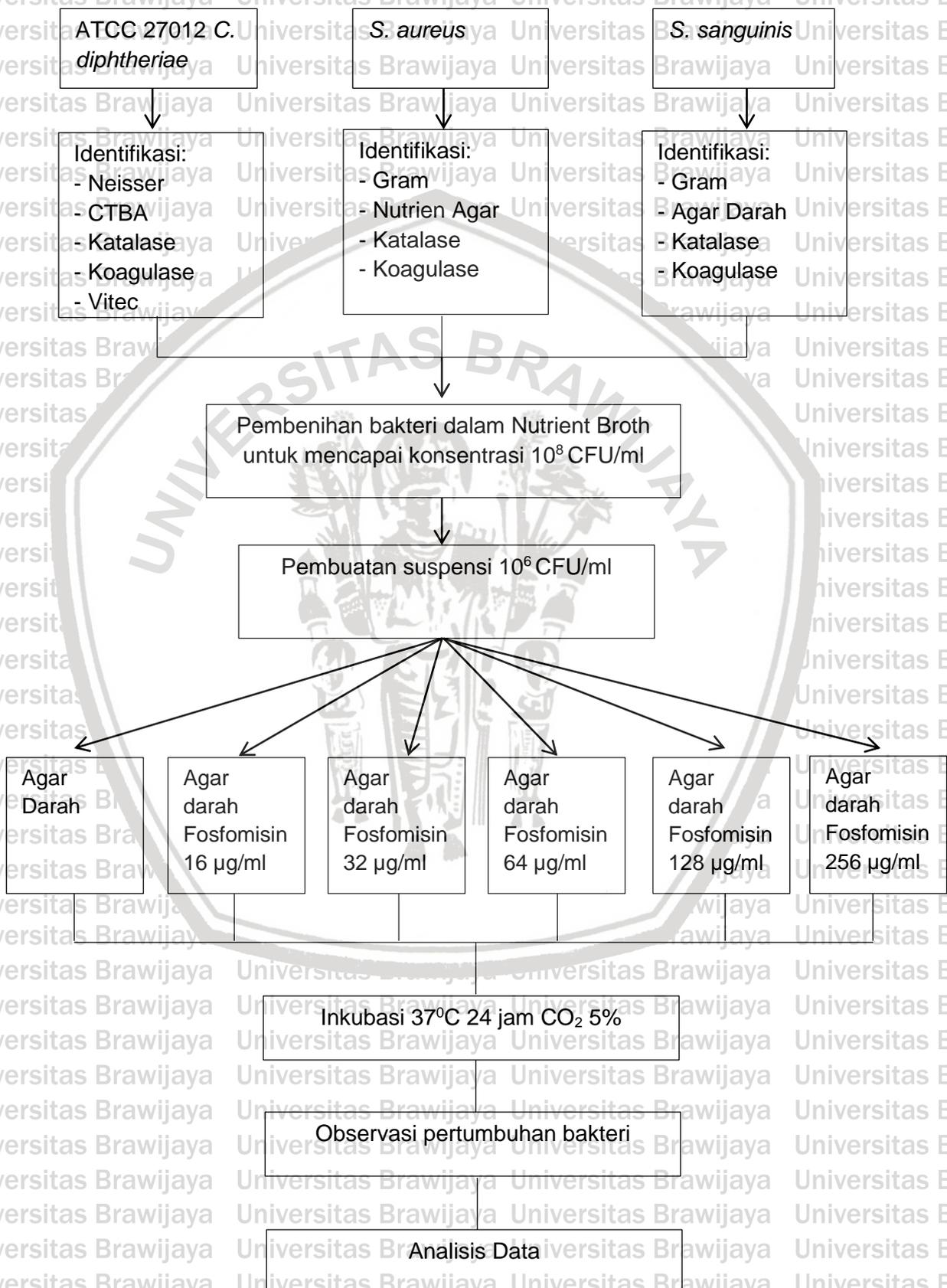
1. Disiapkan cawan petri sebanyak 5 buah sesuai jumlah pengulangan
2. *Water for Injection* sebanyak 10 ml ditambahkan ke dalam fosfomisin hingga mencapai konsentrasi 1 gram/ 10 ml atau $10^6 \mu g/ml$
3. Fosfomisin dilarutkan hingga mencapai konsentrasi $10^4 \mu g/ml$
4. Medium agar darah Columbia yang sudah diautoclave dituangkan ke dalam cawan petri dan dicampurkan darah domba sebanyak 5% dari volume total
5. Fosfomisin dituangkan ke dalam medium sesuai konsentrasi yang diinginkan
6. Larutan medium dari fosfomisin dituangkan ke dalam cawan petri sebanyak 15-20 ml
7. Cawan petri diberi label identitas dan tanggal pembuatan medium
8. Suspensi bakteri diteteskan sebanyak 1 tetes ke permukaan cawan
9. Melakukan inkubasi bakteri ke dalam inkubator

4.7.4 Pengamatan dan Pengukuran

Uji selektivitas dilakukan dengan melihat adanya pertumbuhan bakteri dalam medium. Konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus sanguinis*, tetapi tidak menghambat pertumbuhan *Corynebacterium diphtheriae* merupakan konsentrasi yang paling optimal untuk meningkatkan selektivitas medium agar darah.



4.8 Alur Penelitian



4.9 Pengumpulan dan Analisis Data

Penelitian ini menggunakan variabel numerik berupa pertumbuhan

Corynebacterium diphtheriae, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sanguinis* yang telah diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan

data konsentrasi fosfomisin yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri tersebut. Analisis yang digunakan adalah uji statistik Kruskal Wallis,

Uji hipotesis Mann Whitney, dan uji korelasi Spearman untuk melihat hubungan pemberian konsentrasi fosfomisin dengan pertumbuhan koloni bakteri.



BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Identifikasi *Corynebacterium diphtheriae*

Sebelum diberikan perlakuan, terlebih dahulu dilakukan beberapa uji identifikasi *Corynebacterium diphtheriae* yang tersedia di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. *Corynebacterium diphtheriae* yang digunakan adalah hasil isolat *Corynebacterium diphtheriae* ATCC 27012.

5.1.1.1 Penanaman pada Medium CTBA

Langkah pertama dalam uji identifikasi adalah penanaman bakteri pada medium CTBA. Medium CTBA merupakan medium selektif untuk pertumbuhan *Corynebacterium diphtheriae*. Hasil dari penanaman *Corynebacterium diphtheriae* yaitu koloni bulat, permukaan halus, dan berwarna hitam seperti yang ditunjuk anak panah. Medium CTBA mengandung Cysteine tellurite, sehingga koloni yang terbentuk akan berwarna hitam karena mengubah cysteine tellurite menjadi potassium tellurite.



Gambar 1. Koloni *Corynebacterium diphtheriae* pada Medium CTBA.

Keterangan gambar: anak panah menunjukkan koloni *Corynebacterium diphtheriae* yang berwarna hitam dengan bentuk bulat dengan permukaan koloni yang halus

5.1.1.2 Pewarnaan Neisser

Uji identifikasi selanjutnya adalah dilakukan pewarnaan Neisser dari koloni pada medium CTBA. Hasil dari pewarnaan Neisser menunjukkan bakteri batang dan memiliki *metachromatic granule* berwarna ungu di ujung bakteri. Bakteri tersusun seperti huruf V atau *Chinese word*.



Gambar 2. Pewarnaan Neisser *Corynebacterium diphtheriae*

Keterangan gambar: anak panah menunjukkan *metachromatic granule* pada *Corynebacterium diphtheriae* yang diwarnai dengan pewarnaan neisser

5.1.1.3 Uji Katalase

Uji identifikasi yang ketiga adalah uji katalase.

Pada uji katalase *Corynebacterium diphtheriae* menunjukkan katalase positif yang ditandai dengan terbentuk gelembung-gelembung kecil seperti yang ditunjuk oleh anak panah. Gelembung terbentuk karena bakteri memiliki enzim katalase yang mampu menghidrolisis hidrogen peroksida (H_2O_2)

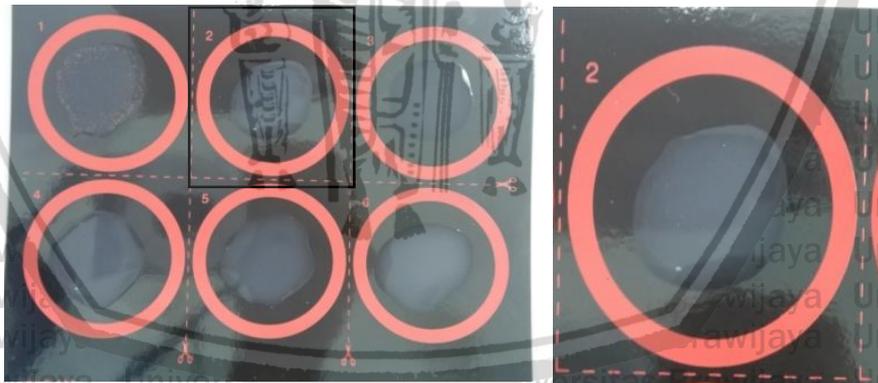


Gambar 3. Uji Katalase *Corynebacterium diphtheriae*

Keterangan gambar: anak panah menunjukkan gelembung-gelembung kecil yang memberikan kesimpulan bahwa *Corynebacterium diphtheriae* memiliki hasil uji katalase positif

5.1.1.4 Uji Koagulase

Uji identifikasi yang keempat adalah uji koagulase. Pada uji koagulase, *Corynebacterium diphtheria* menunjukkan koagulase negatif yang ditandai dengan tidak terbentuknya endapan.



Gambar 4. Uji Koagulase *Corynebacterium diphtheriae*

Keterangan gambar: tidak ditekan endapan pada uji koagulase, menunjukkan hasil uji koagulase negatif

5.1.2 Identifikasi *Staphylococcus aureus*

Sebelum diberikan perlakuan, terlebih dahulu dilakukan beberapa uji identifikasi *Staphylococcus aureus* yang tersedia di

Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. *Staphylococcus aureus* yang digunakan adalah hasil isolate yang berasal dari pasien yang terinfeksi *Staphylococcus aureus* di Rumah Sakit Saiful Anwar, Malang.

5.1.2.1 Penanaman pada Medium Agar Nutrien

Langkah pertama dalam uji identifikasi adalah penanaman bakteri pada medium agar nutrien. Hasil dari penanaman *Staphylococcus aureus* yaitu koloni bulat, permukaan halus, dan berwarna keemasan.



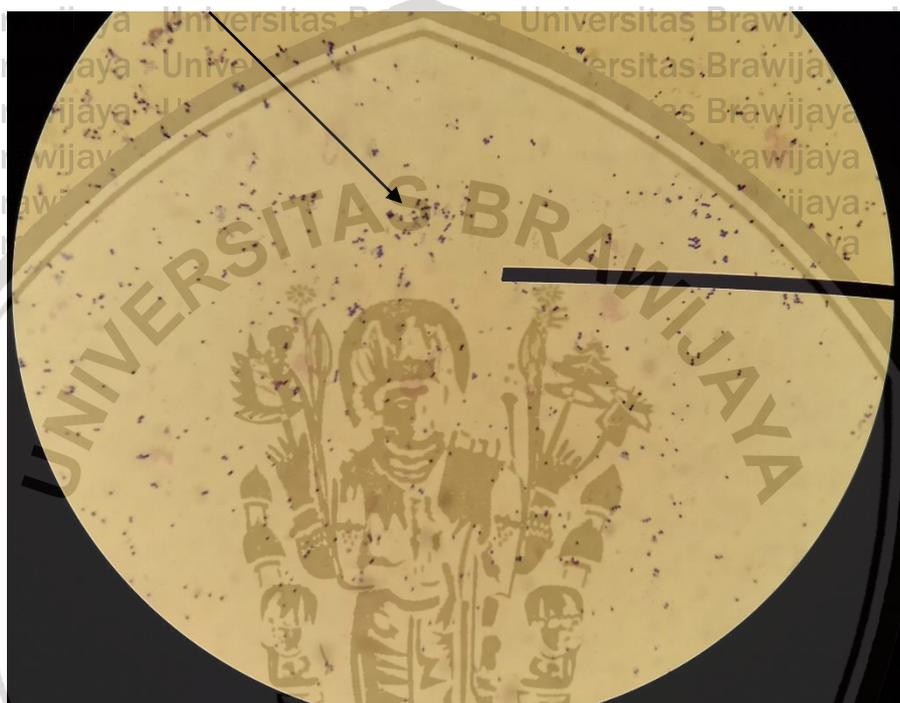
Gambar 5. Koloni *Staphylococcus aureus* pada NAP

Keterangan gambar: anak panah menunjukkan koloni dari *Staphylococcus aureus* yang berwarna kuning keemasan, dengan permukaan halus, bentuk koloni bulat

5.1.2.2 Pewarnaan Gram

Uji identifikasi selanjutnya adalah dilakukan pewarnaan Gram dari koloni pada medium agar nutrien.

Hasil dari pewarnaan Gram menunjukkan bakteri kokus berwarna ungu dan bergerombol seperti anggur. Warna ungu pada pewarnaan Gram menunjukkan bahwa *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif.



Gambar 6. Pewarnaan Gram *Staphylococcus aureus*

Keterangan gambar: anak panah menunjukkan hasil pewarnaan gram *Staphylococcus aureus* berbentuk kokus, warna ungu, dan bakteri berkumpul seperti anggur

5.1.2.3 Uji Katalase

Uji identifikasi yang ketiga adalah uji katalase. Pada uji katalase *Staphylococcus aureus* menunjukkan katalase positif yang ditandai dengan terbentuk gelembung-gelembung kecil seperti yang ditunjuk oleh anak panah. Uji katalase positif menunjukkan bahwa

Staphylococcus aureus memiliki enzim katalase yang mampu menghidrolisis hidrogen peroksida (H_2O_2)

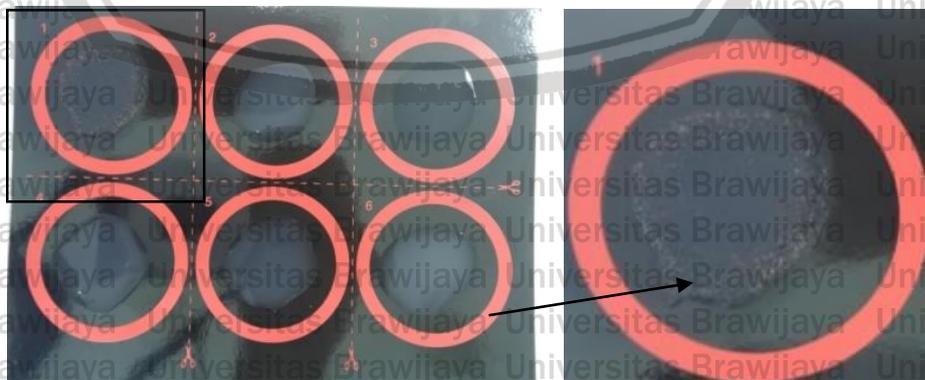


Gambar 7. Uji Katalase *Staphylococcus aureus*

Keterangan gambar: anak panah menunjukkan gelembung-gelembung kecil yang terbentuk akibat uji katalase positif pada *Staphylococcus aureus*

5.1.2.4 Uji Koagulase

Uji identifikasi yang keempat adalah uji koagulase. Pada uji koagulase, *Staphylococcus aureus* menunjukkan koagulase positif yang ditandai dengan terbentuknya endapan seperti yang ditunjuk oleh anak panah. Endapan terbentuk karena bakteri memiliki faktor koagulase yang mampu mengendapkan reagen.



Gambar 8. Uji Koagulase *Staphylococcus aureus*

Keterangan gambar: anak panah menunjukkan endapan karena uji koagulase positif karena

5.1.3 Identifikasi *Streptococcus sanguinis*

Sebelum diberikan perlakuan, terlebih dahulu dilakukan beberapa uji identifikasi *Streptococcus sanguinis* yang tersedia di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. *Streptococcus sanguinis* yang digunakan adalah hasil isolat yang berasal dari pasien yang terinfeksi *Streptococcus sanguinis* di Rumah Sakit Saiful Anwar, Malang.

5.1.3.1 Penanaman pada Medium Agar Darah

Langkah pertama dalam uji identifikasi adalah penanaman bakteri pada medium agar darah. Hasil dari penanaman *Streptococcus sanguinis* yaitu koloni bulat, permukaan halus, dan berwarna putih, dan tidak ada zona hemolisis.



Gambar 9. Koloni *Streptococcus sanguinis* pada BAP

Keterangan gambar: anak panah menunjukkan koloni dari *Streptococcus sanguinis* yang berwarna putih dengan permukaan halus. Sekitar bakteri tidak ditemukan perubahan warna pada medium yang menunjukkan tidak adanya zona hemolisis.

5.1.3.2 Pewarnaan Gram

Uji identifikasi selanjutnya adalah dilakukan pewarnaan Gram dari koloni pada medium agar darah.

Hasil dari pewarnaan Gram menunjukkan bakteri coccus

berwarna ungu dan tersusun seperti rantai. Warna ungu

pada pewarnaan Gram menunjukkan bahwa

Streptococcus sanguinis merupakan bakteri gram positif.



Gambar 10. Pewarnaan Gram *Streptococcus sanguinis*

Keterangan gambar: anak panah merupakan bakteri *Streptococcus sanguinis*, warna ungu berbentuk bulat, dan tersusun seperti rantai

5.1.3.3 Uji Katalase

Uji identifikasi yang ketiga adalah uji katalase.

Pada uji katalase *Streptococcus sanguinis* menunjukkan

katalase negatif yang ditandai dengan tidak terbentuk

gelembung-gelembung kecil.

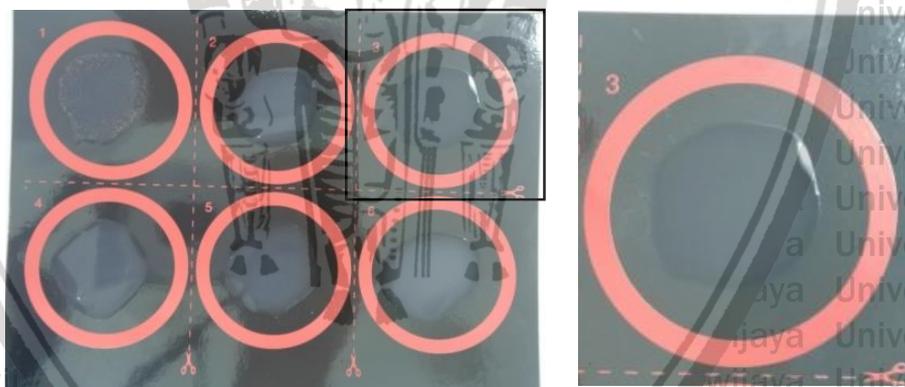


Gambar 11. Uji Katalase *Streptococcus sanguinis*

Keterangan gambar: tidak ada gelembung yang terbentuk maka menunjukkan uji katalase pada *Streptococcus sanguinis* negatif

5.1.3.4 Uji Koagulase

Uji identifikasi yang keempat adalah uji koagulase. Pada uji koagulase, *Streptococcus sanguinis* menunjukkan koagulase negatif yang ditandai dengan tidak terbentuknya endapan.



Gambar 12. Uji Koagulase *Streptococcus sanguinis*

Keterangan gambar: tidak ditemukan endapan menunjukkan bahwa uji koagulase *Streptococcus sanguinis* negatif

5.1.4 Hasil Pertumbuhan Bakteri pada Agar Darah Fosfomisin

Penelitian menggunakan konsentrasi fosfomisin dalam Agar Darah Fosfomisin 0 $\mu\text{g/mL}$, 16 $\mu\text{g/mL}$, 32 $\mu\text{g/mL}$, 64 $\mu\text{g/mL}$,

128 µg/mL, 256 µg/mL dan dilakukan sebanyak lima kali pengulangan. Pengamatan pertumbuhan bakteri menggunakan skala 0, +1, +2, +3, dan +4 secara langsung tanpa menggunakan alat bantu apapun.



Tabel 1. Hasil Pertumbuhan Bakteri pada Agar Darah Fosfomisin

Bakteri	Konsentrasi	Pengulangan					Rerata Skor
		I	II	III	IV	V	
<i>C. diphtheriae</i>	0 µg/mL	4	4	4	4	4	4
	16 µg/mL	4	4	4	4	4	4
	32 µg/mL	4	4	4	4	4	4
	64 µg/mL	4	4	4	4	4	4
	128 µg/mL	4	4	4	4	4	4
	256 µg/mL	4	4	4	4	4	4
<i>S. aureus</i>	0 µg/mL	2	2	2	2	2	2
	16 µg/mL	0	0	0	3	0	0.6
	32 µg/mL	0	0	0	0	0	0
	64 µg/mL	0	0	0	0	0	0
	128 µg/mL	0	3	0	0	0	0.6
	256 µg/mL	0	0	0	0	0	0
<i>S. sanguinis</i>	0 µg/mL	3	3	3	2	2	2.6
	16 µg/mL	2	1	2	2	2	1.8
	32 µg/mL	0	0	0	0	0	0
	64 µg/mL	0	0	0	0	0	0
	128 µg/mL	0	3	0	0	0	0.6
	256 µg/mL	0	0	0	0	0	0

Keterangan:

+4: Koloni bakteri sangat jelas, rapat, dan tidak dapat dihitung

+3: Koloni bakteri tebal, ada sedikit jarak antar koloni dan tidak dapat dihitung

+2: Bakteri tumbuh tipis dan tidak terhitung

+1: Bakteri tumbuh sangat tipis dan tidak dapat dihitung

0: Tidak ada pertumbuhan bakteri

Dari Tabel 1. menunjukkan pertumbuhan bakteri *Corynebacterium diphtheriae*, *Staphylococcus aureus*, dan *Streptococcus sanguinis* pada Agar Darah Fosfomisin dengan konsentrasi fosfomisin yang berbeda-beda menunjukkan hasil yang berbeda pula. Pada hasil pengamatan tampak *Corynebacterium diphthriae* pada semua konsentrasi menunjukkan pertumbuhan +4, yaitu *Corynebacterium diphtheriae* tidak dihambat oleh fosfomisin mulai dari konsentrasi 16 µg/mL hingga 256 µg/mL.

Pada *Staphylococcus aureus* menunjukkan semakin tinggi konsentrasi maka semakin rendah pertumbuhannya. Mulai konsentrasi 16 µg/mL sudah tidak ditemukan pertumbuhan *Staphylococcus aureus* kecuali pada satu pengulangan di konsentrasi 16 µg/mL dan satu pengulangan di konsentrasi 128 µg/mL.

Pada *Streptococcus sanguinis* menunjukkan semakin tinggi konsentrasi maka semakin rendah pertumbuhannya. Mulai

konsentrasi 32 µg/mL sudah tidak ditemukan pertumbuhan *Streptococcus sanguinis* kecuali pada satu pengulangan di konsentrasi 128 µg/mL.

5.2 Analisis Data

Data yang diperoleh adalah data kualitatif berupa data jenis bakteri, dan data kuantitatif berupa konsentrasi fosfomisin pada Agar Darah Fosfomisin, dan pertumbuhan bakteri. Hasil penelitian dianalisis dengan *software* SPSS versi 20.00 dan *output* hasil analisis dapat dilihat pada lembar lampiran.

Analisis data dengan metode parametrik harus memenuhi syarat, sampel yang digunakan harus memiliki distribusi normal (dilakukan uji normalitas data) dan homogen (dilakukan uji homogenitas data). Hasil dari uji normalitas data dan homogenitas menunjukkan bahwa distribusi data tidak normal dan tidak homogen, sehingga tidak dapat dilakukan uji statistik dengan metode parametrik.

Uji statistik yang digunakan adalah dengan metode nonparametrik, yaitu Kruskal Wallis untuk melihat adakah hubungan antara konsentrasi pemberian fosfomisin terhadap pertumbuhan bakteri, tersebut pada masing-masing jenis bakteri. Uji statistik selanjutnya adalah Uji Korelasi Spearman untuk melihat kekuatan hubungan antara variabel konsentrasi fosfomisin pada Agar Darah Fosfomisin dan besarnya pertumbuhan bakteri pada masing-masing jenis bakteri. Uji statistik yang terakhir adalah Mann Whitney untuk melihat adanya perbedaan yang signifikan dalam pemberian konsentrasi fosfomisin.

5.2.1 Uji Kruskal Wallis

Uji Kruskal Wallis digunakan untuk mengetahui adakah hubungan antara konsentrasi fosfomisin terhadap pertumbuhan bakteri yang dilakukan terhadap masing-masing bakteri, yaitu *Corynebacterium diphtheriae*, *Staphylococcus aureus*, dan *Streptococcus sanguinis*. Hipotesis ditegakkan dengan h_0 dan h_1 , dimana h_0 adalah tidak ada hubungan antara pemberian konsentrasi fosfomisin terhadap pertumbuhan bakteri. H_0 diterima apabila nilai $p > 0,05$ dan ditolak apabila nilai $p < 0,05$. H_1 adalah hipotesis kebalikan dari h_0 yang akan disimpulkan apabila h_0 ditolak.

Tabel 2. Uji Kruskal Wallis *Coynebacterium diphtheriae*

Test Statistics ^{a,b}	
	Pertumbuhan Bakteri
Chi-Square	.000
df	5
Asymp. Sig.	1.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
Konsentasi Fosfomisin

Tabel 3. Uji Kruskal Wallis *Staphylococcus aureus*

Test Statistics ^{a,b}	
	Pertumbuhan Bakteri
Chi-Square	17.400
df	5
Asymp. Sig.	.004

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

Konsentrasi Fosfomisin

Tabel 4. Uji Kruskal Wallis *Streptococcus sanguinis*

Test Statistics^{a,b}

	Pertumbuhan Bakteri
Chi-Square	23.505
df	5
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

Konsentrasi Fosfomisin

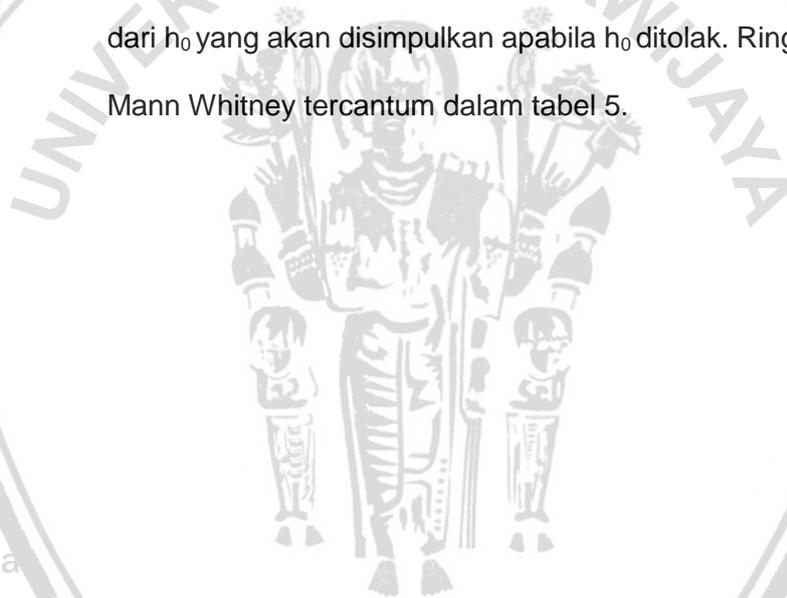
Hasil Uji Kruskal Wallis menunjukkan bahwa pada *Corynebacterium diphtheriae* memiliki nilai $p = 1,000 > 0,05$ sehingga tidak ada hubungan dalam perbedaan pemberian konsentrasi fosfomisin pada medium agar darah terhadap pertumbuhan bakterinya, sedangkan pada *Staphylococcus aureus* memiliki nilai $p = 0,004 < 0,05$ dan *Streptococcus sanguinis* memiliki nilai $p = 0,000 < 0,05$ sehingga memiliki hubungan antara perbedaan pemberian konsentrasi fosfomisin pada medium agar darah terhadap pertumbuhan bakterinya.

5.2.2 Uji Mann Whitney

Uji Mann Whitney digunakan untuk mengetahui apakah pertumbuhan bakteri pada dua kelompok konsentrasi yang dibandingkan memiliki populasi yang identik (tidak berbeda secara

signifikan) atau tidak identik (berbeda secara signifikan). Metode ini dilakukan dengan cara membandingkan dua konsentrasi fosfomisin yang berbeda, sehingga diketahui signifikansi perbedaan pertumbuhan ketiga bakteri antara dua konsentrasi fosfomisin yang dibandingkan.

Hipotesis ditegakkan dengan h_0 dan h_1 , dimana h_0 adalah tidak ada hubungan antara jenis bakteri dibandingkan dengan pertumbuhan kedua bakteri tersebut. H_0 diterima apabila nilai $p > 0,05$ dan ditolak apabila nilai $p < 0,05$. H_1 adalah hipotesis kebalikan dari h_0 yang akan disimpulkan apabila h_0 ditolak. Ringkasan hasil uji Mann Whitney tercantum dalam tabel 5.



Tabel 5. Rangkuman Uji Mann Whitney

Perbandingan antar Perlakuan	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus sanguinis</i>
16 µg/mL	1,000	0,083	[0,042]
32 µg/mL	1,000	[0,003]	[0,005]
0 µg/mL	64 µg/mL	1,000	[0,003]
128 µg/mL	1,000	0,083	[0,044]
256 µg/mL	1,000	[0,003]	[0,005]
32 µg/mL	1,000	0,317	[0,004]
64 µg/mL	1,000	0,317	[0,004]
16 µg/mL	128 µg/mL	1,000	1,000
256 µg/mL	1,000	0,317	[0,004]
64 µg/mL	1,000	1,000	1,000
32 µg/mL	128 µg/mL	1,000	0,317
256 µg/mL	1,000	1,000	1,000
64 µg/mL	128 µg/mL	1,000	0,317
256 µg/mL	1,000	1,000	1,000
128 µg/mL	256 µg/mL	1,000	0,317

Keterangan:

[.....] = berbeda signifikan

..... = tidak berbeda signifikan

Berikut pembahasan hasil uji Mann Whitey pada *Corynebacterium diphtheriae*:

1. Pertumbuhan koloni *Corynebacterium diphtheriae* pada kontrol negatif yaitu konsentrasi 0 µg/mL tidak terdapat perbedaan signifikan dengan konsentrasi 16 µg/mL, 32 µg/mL, 64 µg/mL, 128 µg/mL, dan 256 µg/mL
2. Pertumbuhan koloni *Corynebacterium diphtheriae* pada konsentrasi 16 µg/mL tidak terdapat perbedaan signifikan dengan konsentrasi 32 µg/mL, 64 µg/mL, 128 µg/mL, dan 256 µg/mL.
3. Pertumbuhan koloni *Corynebacterium diphtheriae* pada konsentrasi 32 µg/mL tidak terdapat perbedaan signifikan dengan konsentrasi 64 µg/mL, 128 µg/mL, dan 256 µg/mL.
4. Pertumbuhan koloni *Corynebacterium diphtheriae* pada konsentrasi 64 µg/mL tidak terdapat perbedaan signifikan dengan konsentrasi 128 µg/mL, dan 256 µg/mL. Pertumbuhan koloni *Corynebacterium diphtheriae* pada konsentrasi 128 µg/mL tidak terdapat perbedaan signifikan dengan konsentrasi 256 µg/mL.

Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi fosfomisin 0 µg/mL, 16 µg/mL, 32 µg/mL, 64 µg/mL, 128 µg/mL, dan 256 µg/mL memiliki

potensi yang sama (tidak memiliki potensi) dalam menghambat pertumbuhan *Corynebacterium diphtheriae*, dalam kasus ini bahkan fosfomisin tidak menghambat pertumbuhan dari *Corynebacterium diphtheriae* karena koloni pertumbuhannya berupa +4.

Berikut pembahasan hasil uji Mann Whitney pada *Staphylococcus aureus*:

1. Pertumbuhan koloni pada kontrol negatif yaitu 0 µg/mL tidak terdapat perbedaan signifikan dengan konsentrasi 16 µg/mL dan 128 µg/mL, dan memiliki perbedaan signifikan dengan konsentrasi 32 µg/mL, 64 µg/mL, dan 256 µg/mL.
2. Pertumbuhan koloni *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 16 µg/mL tidak berbeda signifikan dengan konsentrasi 32 µg/mL, 64 µg/mL, 128 µg/mL, dan 256 µg/mL. Pertumbuhan koloni
3. *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 32 µg/mL tidak berbeda signifikan dengan konsentrasi 64 µg/mL, 128 µg/mL, dan 256 µg/mL.
4. Pertumbuhan koloni *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 64 µg/mL tidak berbeda signifikan dengan konsentrasi 128 µg/mL dan 256 µg/mL.
5. Pertumbuhan koloni *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 128 µg/mL tidak berbeda signifikan dengan konsentrasi 256 µg/mL.

Berikut pembahasan hasil uji Mann Whitney pada *Streptococcus sanguinis*:

1. Pertumbuhan koloni pada kontrol negatif yaitu konsentrasi 0 $\mu\text{g/mL}$ memiliki perbedaan yang signifikan dengan konsentrasi 16 $\mu\text{g/mL}$, 32 $\mu\text{g/mL}$, 64 $\mu\text{g/mL}$, 128 $\mu\text{g/mL}$, dan 256 $\mu\text{g/mL}$.
2. Pertumbuhan koloni *Streptococcus sanguinis* pada konsentrasi 16 $\mu\text{g/mL}$ tidak berbeda signifikan dengan konsentrasi 128 $\mu\text{g/mL}$ dan berbeda signifikan dengan konsentrasi 32 $\mu\text{g/mL}$, 64 $\mu\text{g/mL}$, dan 256 $\mu\text{g/mL}$.
3. Pertumbuhan koloni *Streptococcus sanguinis* pada konsentrasi 32 $\mu\text{g/mL}$ tidak berbeda signifikan dengan konsentrasi 64 $\mu\text{g/mL}$, 128 $\mu\text{g/mL}$, dan 256 $\mu\text{g/mL}$.
4. Pertumbuhan koloni *Streptococcus sanguinis* pada konsentrasi 64 $\mu\text{g/mL}$ tidak berbeda signifikan dengan konsentrasi 128 $\mu\text{g/mL}$ dan 256 $\mu\text{g/mL}$.
5. Pertumbuhan koloni *Streptococcus sanguinis* pada konsentrasi 128 $\mu\text{g/mL}$ tidak berbeda signifikan dengan konsentrasi 256 $\mu\text{g/mL}$.

5.2.3 Uji Korelasi Spearman

Uji Korelasi Spearman digunakan untuk mengetahui kekuatan hubungan antara konsentrasi fosfomisin terhadap pertumbuhan bakteri yang dilakukan terhadap masing-masing bakteri, yaitu *Corynebacterium diphtheriae*, *Staphylococcus aureus*,

dan *Streptococcus sanguinis*. Hipotesis ditegakkan dengan h_0 dan h_1 , dimana h_0 adalah tidak ada hubungan antara pemberian konsentrasi fosfomisin terhadap pertumbuhan bakteri atau angka korelasinya 0. H_0 diterima apabila nilai $p > 0,05$ dan ditolak apabila nilai $p < 0,05$. H_1 adalah hipotesis kebalikan dari h_0 yang akan disimpulkan apabila h_0 ditolak. Pada uji korelasi Spearman dapat dilihat angka koefisiennya untuk melihat kekuatan hubungan antar variabel.

Tabel 6. Uji Korelasi Spearman pada *Corynebacterium diphtheriae*

Correlations			Konsentrasi Fosfomisin	Pertumbuhan Bakteri
Spearman's rho	Konsentrasi Fosfomisin	Correlation Coefficient	1.000	.
		Sig. (2-tailed)	.	.
		N	30	30
Pertumbuhan Bakteri	Pertumbuhan Bakteri	Correlation Coefficient	.	.
		Sig. (2-tailed)	.	.
		N	30	30

Tabel 7. Uji Korelasi Spearman pada *Staphylococcus aureus*

Correlations			Konsentrasi Fosfomisin	Pertumbuhan Bakteri
Spearman's rho	Konsentrasi Fosfomisin	Correlation Coefficient	1.000	-.535**
		Sig. (2-tailed)	.	.002
		N	30	30
Pertumbuhan Bakteri	Pertumbuhan Bakteri	Correlation Coefficient	-.535**	1.000
		Sig. (2-tailed)	.002	.
		N	30	30

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Tabel 8. Uji Korelasi Spearman pada *Streptococcus sanguinis*

Correlations		Konsentrasi Fosfomisin	Pertumbuhan Bakteri
Konsentrasi Fosfomisin	Correlation Coefficient	1.000	-.721**
	Sig. (2-tailed)		.000
Pertumbuhan Bakteri	Correlation Coefficient	-.721**	1.000
	Sig. (2-tailed)	.000	
N		30	30

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Pada *Corynebacterium diphtheriae* probabilitas menunjukkan simbol titik (.) sehingga tidak dapat ditentukan hubungan antara pemberian fosfomisin terhadap pertumbuhan bakteri.

Pada *Staphylococcus aureus*, nilai probabilitasnya adalah 0,00 berarti $< 0,05$, maka H_0 ditolak, maka ada hubungan (korelasi) antara variabel konsentrasi fosfomisin terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan koefisien korelasi -0,535.

Tanda – menunjukkan adanya hubungan yang berlawanan, yaitu semakin besar konsentrasi fosfomisin maka semakin kecil pertumbuhan bakteri. Angka 0,535 menunjukkan korelasi yang kuat antara variabel konsentrasi fosfomisin dan pertumbuhan

Staphylococcus aureus (karena diatas 0,5).

Pada *Streptococcus sanguinis*, nilai probabilitasnya adalah 0,000 berarti $< 0,05$, maka H_0 ditolak, maka ada hubungan

(korelasi) antara variabel konsentrasi fosfomisin terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus sanguinis* dengan koefisien korelasi $-0,721$. Tanda $-$ menunjukkan adanya hubungan yang berlawanan, yaitu semakin besar konsentrasi fosfomisin maka semakin kecil pertumbuhan bakteri. Angka $0,721$ menunjukkan korelasi yang kuat antara variabel konsentrasi fosfomisin dan pertumbuhan *Streptococcus sanguinis* (karena diatas $0,5$).



BAB VI PEMBAHASAN

6.1 Pembahasan Hasil Penelitian

Latar belakang penelitian ini adalah masih banyaknya kasus difteri yang dilaporkan, baik di dunia maupun di Indonesia. Diagnosis kasus difteri dilakukan secara klinis dengan melihat tanda serta gejala pasien dan laboratoris dengan melakukan kultur *Corynebacterium diphtheriae*.

Spesimen untuk kultur *Corynebacterium diphtheriae* diambil melalui swab dari saluran nafas atas. Saluran nafas atas merupakan tempat yang memiliki banyak flora normal. Oleh karena itu, penelitian ini memiliki tujuan untuk mengetahui selektivitas dari medium agar darah yang disuplementasi dengan fosfomisin pada pertumbuhan bakteri *Corynebacterium diphtheriae* yang dibandingkan dengan *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus sanguinis* yang merupakan normal flora pada saluran nafas atas.

Fosfomisin dipilih sebagai bahan yang disuplementasikan ke dalam medium agar darah karena *Corynebacterium diphtheriae* memiliki resistensi intrinsik terhadap fosfomisin dan *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus sanguinis* sensitif terhadap fosfomisin. Harapannya, dengan suplementasi fosfomisin pada medium agar darah mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus sanguinis* dan tidak menghambat pertumbuhan *Corynebacterium diphtheriae*. Oleh karena itu, medium agar darah yang telah disuplementasi dengan fosfomisin dapat digunakan sebagai medium alternatif dalam diagnosis kasus difteri.

Ketiga bakteri sebelum digunakan dalam penelitian, lebih dahulu dilakukan uji identifikasi. *Corynebacterium diphtheriae* diidentifikasi dengan pengecatan Neisser, uji katalase yang menghasilkan katalase positif, uji koagulase yang menghasilkan koagulase negatif, lalu ditanam pada medium CTBA yang menghasilkan koloni bakteri berwarna hitam, serta dilakukan uji biokimia dengan mesin vitek.

Staphylococcus aureus diidentifikasi dengan pengecatan Gram yang menghasilkan bakteri kokus gram positif, uji katalase yang menghasilkan katalase positif, uji koagulase yang menghasilkan koagulase positif, lalu ditanam pada medium nutrisi agar yang menghasilkan koloni bakteri berwarna keemasan.

Streptococcus sanguinis diidentifikasi dengan pengecatan Gram yang menghasilkan bakteri kokus gram positif, uji katalase yang menghasilkan katalase negatif, uji koagulase yang menghasilkan koagulase negatif, lalu ditanam pada medium agar darah dan menghasilkan koloni bakteri yang tidak memiliki zona hemolisis.

Pada penelitian ini menggunakan konsentrasi fosfomisin sebesar 16 µg/mL, 32 µg/mL, 64 µg/mL, 128 µg/mL, dan 256 µg/mL serta 0 µg/mL sebagai kontrol negatif. Pengulangan pada penelitian ini dilakukan sebanyak 5 kali pengulangan. Pada kontrol negatif semua bakteri tumbuh.

Corynebacterium diphtheriae tetap tumbuh sampai konsentrasi 256 µg/mL.

Staphylococcus aureus mayoritas tidak didapatkan pertumbuhan pada konsentrasi 16 µg/mL, kecuali pada salah satu pengulangan pada konsentrasi 16 µg/mL dan 128 µg/mL. *Streptococcus sanguinis* mayoritas

tidak didapatkan pertumbuhan pada konsentrasi 32 µg/mL, kecuali pada salah satu pengulangan pada konsentrasi 128 µg/mL.

Untuk menganalisis data pada penelitian ini menggunakan SPSS 20 dengan uji Kruskal Wallis untuk mengetahui adakah hubungan antara konsentrasi fosfomisin terhadap pertumbuhan bakteri yang dilakukan terhadap masing-masing bakteri, yaitu *Corynebacterium diphtheriae*, *Staphylococcus aureus*, dan *Streptococcus sanguinis*. Hasil uji Kruskal Wallis didapatkan nilai $p = 1,000$ pada *Corynebacterium diphtheriae* yang artinya $p > 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak ada hubungan antara konsentrasi fosfomisin terhadap pertumbuhan *Corynebacterium diphtheriae*. Pada *Staphylococcus aureus* didapatkan nilai $p = 0,004$ yang artinya $p < 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa ada hubungan antara konsentrasi fosfomisin terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Pada *Streptococcus sanguinis* didapatkan nilai $p = 0,000$ yang artinya $p < 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa ada hubungan antara konsentrasi fosfomisin terhadap pertumbuhan *Streptococcus sanguinis*.

Uji kedua yang dilakukan adalah Mann Whitney untuk mengetahui apakah pertumbuhan bakteri pada dua kelompok konsentrasi yang dibandingkan memiliki populasi yang identik (tidak berbeda secara signifikan) atau tidak identik (berbeda secara signifikan). Pada *Corynebacterium diphtheriae* semua konsentrasi tidak memiliki perbedaan yang signifikan karena nilai $p = 1,000$ yang artinya $p > 0,05$.

Pada *Staphylococcus aureus* perbandingan antara konsentrasi 0 µg/mL terhadap konsentrasi 16 µg/mL dan 128 µg/mL tidak memiliki perbedaan secara signifikan karena nilai $p = 0,083$ yang artinya $p > 0,05$.

Pada perbandingan konsentrasi 0 µg/mL terhadap konsentrasi 32 µg/mL, 64 µg/mL, dan 256 µg/mL memiliki perbedaan secara signifikan karena nilai $p = 0,003$ yang artinya $p < 0,05$. Pada perbandingan konsentrasi dimulai dari 16 µg/mL hingga 128 µg/mL terhadap semua konsentrasi menunjukkan tidak ada perbedaan secara signifikan karena nilai $p = 0,317$ dan $p = 1,000$ yang artinya $p > 0,05$.

Pada *Streptococcus sanguinis* perbandingan antara konsentrasi 0 µg/mL terhadap semua konsentrasi menunjukkan perbedaan yang signifikan karena nilai $p = 0,042$, $p = 0,005$, dan $p = 0,044$ yang artinya $p < 0,05$. Pada perbandingan konsentrasi 16 µg/mL terhadap konsentrasi 128 µg/mL menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan karena nilai $p = 0,095$ yang artinya $p > 0,05$. Pada perbandingan konsentrasi 16 µg/mL terhadap konsentrasi 32 µg/mL, 64 µg/mL dan 256 µg/mL menunjukkan perbedaan yang signifikan karena nilai $p = 0,004$ yang artinya $p < 0,05$. Pada perbandingan konsentrasi dimaulia dari 32 µg/mL hingga 128 µg/mL terhadap semua konsentrasi menunjukkan tidak ada perbedaan secara signifikan karena nilai $p = 1,000$ dan $p = 0,317$ yang artinya $p > 0,05$.

Uji ketiga yang dilakukan adalah uji korelasi Spearman untuk mengetahui kekuatan hubungan antara konsentrasi fosfomisin terhadap pertumbuhan bakteri yang dilakukan terhadap masing-masing bakteri, yaitu *Corynebacterium diphtheriae*, *Staphylococcus aureus*, dan *Streptococcus sanguinis*. Pada *Corynebacterium diphtheriae* probabilitas menunjukkan simbol titik (.) sehingga tidak dapat ditentukan hubungan antara pemberian fosfomisin terhadap pertumbuhan bakteri.

Pada *Staphylococcus aureus*, nilai probabilitasnya adalah 0,000 yang artinya $p < 0,05$ sehingga disimpulkan ada korelasi antara variabel konsentrasi fosfomisin terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan koefisien korelasi -0,535. Tanda – menunjukkan adanya hubungan yang berlawanan, yaitu semakin besar konsentrasi fosfomisin maka semakin kecil pertumbuhan bakteri. Angka 0,535 menunjukkan korelasi yang kuat antara variabel konsentrasi fosfomisin dan pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (karena diatas 0,5).

Pada *Streptococcus sanguinis*, nilai probabilitasnya adalah 0,000 yang artinya $p < 0,05$ sehingga disimpulkan ada korelasi antara variabel konsentrasi fosfomisin terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus sanguinis* dengan koefisien korelasi -0,721. Tanda – menunjukkan adanya hubungan yang berlawanan, yaitu semakin besar konsentrasi fosfomisin maka semakin kecil pertumbuhan bakteri. Angka 0,721 menunjukkan korelasi yang kuat antara variabel konsentrasi fosfomisin dan pertumbuhan *Streptococcus sanguinis* (karena diatas 0,5).

Fosfomisin merupakan antibiotik bakterisidal dengan mekanisme menghambat reaksi katalisasi pada fase pertama dalam sintesis dinding bakteri.

Mekanisme aksi dari fosfomisin adalah dengan mempengaruhi fase sitoplasmik pertama dalam biosintesis dinding sel bakteri, tepatnya pada pembentukan *Peptidoglikan precursor UDP N-acetylmuramic Acid (UDP-MurNac)*. Enzim yang dipengaruhi adalah enzim MurA. Enzim MurA berperan dalam proses katalisasi perubahan dari *Enol pyruvyl moiety of*

PEP menjadi 3' hydroxyl group of UDP N-Acetylglucosamide (UNAG) (Falagas, 2016).

Fosfomisin masuk ke dalam bakteri melalui 2 *pathway*, yaitu melalui *L-alpha glycerophospat* dan *hexose-6-phospat* yang dikode oleh gen *glpT* dan *uhpT*. Kedua *pathway* ini memerlukan cAMP dalam proses masuknya fosfomisin (Falagas, 2016)

Pertumbuhan *Corynebacterium diphtheriae* tidak dihambat oleh fosfomisin. *Corynebacterium diphtheriae* memiliki resistensi intrinsik terhadap fosfomisin menyebabkan tidak ada hambatan pertumbuhan bakteri ini oleh fosfomisin (Falagas, 2016)

Mekanisme resistensi fosfomisin dijelaskan melalui beberapa mekanisme, antara lain (Falagas, 2016):

1. Mutasi MurA

Terjadi perubahan dari sistein menjadi aspartat. Sebagaimana yang diketahui sistein berperan dalam pembentukan MurA, sehingga ketika sistein terganggu maka MurA ikut terganggu sehingga mempengaruhi target kerja dari fosfomisin.

2. Perubahan *pathway* dan sintesis peptidoglikan

Peptidoglikan dibentuk melalui sintesis *de novo* dari UDP-MurNAC yang merupakan prekursor dari sintesis peptidoglikan yang dikatalisis dengan enzim MurA. Jika di dalam bakteri tidak ditemukan MurA maka fosfomisin tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri karena tidak mampu menghambat sintesis dinding bakteri.

3. Mutasi pada kromosom gen *gltT* dan *uhpT*

Gen *gltT* dan *uhpT* bertugas mengkode transporter fosfomisin yaitu *L-alpha glycerophosphat* dan *hexose-6-phosphat*. Jika gen *gltT* dan *uhpT* mengalami mutasi, maka akan menyebabkan blok atau menurunnya uptake dari fosfomisin.

4. Ditemukan *fosfomycin modifying enzyme*

Beberapa *fosfomycin modifying enzyme* yang ditemukan dalam bakteri, antara lain:

a. *fosA*

fosA merupakan metaloenzim yang ditransfer melalui plasmid pada *Enterobacteriaceae*. *FosA* berfungsi mengkatalis reaksi antara glutation dan fosfomisin sehingga merubah fosfomisin menjadi bentuk inaktif. *FosA* memiliki beberapa subtype yaitu *fosA2*, *fosA3*, *fosA4*, dan *fosA5*.

b. *fosB*

fosB 48% identik dengan *fosA* yang bertugas mengkatalis reaksi sistein dan fosfomisin pada bakteri Gram positif (Staphylococci dan Enterococci).

c. *fosC*

Memiliki kemiripan dengan *glutation S-transferase* yang mengkatalis fosforilasi dengan ATP dan aktivasi fosfomisin.

d. fosX

Merupakan enzim kromosomal dari *Listeria monocytogenes*

yang berfungsi mengkatalis reaksi fosfomisin dengan air.

Penelitian lain yang mendukung hasil penelitian ini adalah penelitian Ching-Lan Lu yang diambil dari *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* tahun 2011 menunjukkan bahwa *Staphylococcus aureus* sensitif terhadap fosfomisin dan memiliki MIC sebesar $< 32 \mu\text{g/ml}$. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa mulai konsentrasi $16 \mu\text{g/ml}$ sudah tidak ditemukan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (Lu, 2011).

Corynebacterium diphtheriae menunjukkan bahwa semua strain dari bakteri tersebut resisten terhadap fosfomisin. Berdasarkan penelitian dari Wichman tahun 1984 100% strain dari *Corynebacterium diphtheriae* resisten terhadap fosfomisin. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa mulai dari konsentrasi fosfomisin $0 \mu\text{g/ml}$ hingga $256 \mu\text{g/ml}$ tidak didapatkan hambatan pertumbuhan bakteri *Corynebacterium diphtheriae* (Wichman, 1984).

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data dapat disimpulkan bahwa penurunan pertumbuhan dari koloni *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus sanguinis* disebabkan karena hambatan pertumbuhan dari fosfomisin. fosfomisin dapat digunakan untuk suplementasi pada medium agar darah sebagai medium yang selektif terhadap *Corynebacterium diphtheriae*. Hal tersebut dikarenakan fosfomisin mampu menghambat bakteri yang digunakan sebagai pembanding yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus sanguinis* tetapi tidak mampu menghambat

Corynebacterium diphtheriae. Kesimpulan ini diperkuat juga dengan penelitian terdahulu yang menggunakan fosfomisin sebagai medium semiselektif untuk *Corynebacterium diphtheriae* dan secara teori terbukti dengan *Corynebacterium diphtheriae* yang memiliki resistensi intrinsik terhadap fosfomisin. Serta diperkuat pula dengan penelitian yang menunjukkan bahwa fosfomisin sensitif terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif.

Aplikasi pada bidang kedokteran masih memerlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui konsentrasi yang tepat untuk mampu menghambat pertumbuhan bakteri lain yang ada di saluran nafas selain *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus sanguinis* sehingga medium agar darah yang telah disuplementasi fosfomisin mampu diterapkan untuk menjadi medium yang selektif terhadap *Corynebacterium diphtheriae* sebagai sarana untuk melakukan diagnosis terhadap kasus difteri.

Keterbatasan dalam penelitian ini adalah jarak antar konsentrasi fosfomisin yang disuplementasikan masih terbatas pada konsentrasi 0 µg/ml hingga 256 µg/ml sehingga memungkinkan untuk menimbulkan bias.

BAB VII PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Agar darah yang disuplementasi dengan fosfomisin dapat meningkatkan selektivitas medium agar darah terhadap kultur *Corynebacterium diphtheriae* dibandingkan dengan *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus sanguinis*.
2. Tidak ditemukan hambatan dalam pertumbuhan *Corynebacterium diphtheriae*, *Staphylococcus aureus* mulai tidak tumbuh pada konsentrasi 16 µg/mL, dan *Streptococcus sanguinis* mulai tidak tumbuh pada konsentrasi 32 µg/mL.
3. Tidak ada hubungan antara pertumbuhan *Corynebacterium diphtheriae* terhadap konsentrasi fosfomisin yang disuplementasi, sedangkan ada hubungan antara pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus sanguinis* terhadap konsentrasi fosfomisin yang disuplementasi dalam medium agar darah.

7.2 Saran

Berdasarkan kesimpulan yang telah disampaikan, maka dapat diberikan beberapa saran terkait penelitian ini untuk menjadi lebih baik, diantaranya:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk dapat membuat medium yang selektif terhadap *Corynebacterium diphtheriae* dibandingkan terhadap semua normal flora yang ada di saluran

napas atas dan bawah selain *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus sanguinis*.

2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menilai keberhasilan penerapan medium agar darah yang disuplementasi fosfomisin menjadi medium yang sensitif terhadap *Corynebacterium diphtheriae* dalam menunjang penegakan diagnosis kasus difteri.



DAFTAR PUSTAKA

- Brooks, Geo. F.; Carroll, Karen C.; Butel, Janet S.; Morse, Stephen A.; Mietzner, Timothy A. 2013. *Jawetz Medical Microbiology 26th Ed.* McGraw-Hill Education.
- Castañeda-García, Alfredo; Blázquez, Jesús; Rodríguez-Rojas, Alexandro. 2013. *Molecular Mechanisms and Clinical Impact of Acquired and Intrinsic Fosfomycin Resistance. Antibiotics (Basel).* 2013 Jun; 2(2): 217–236.
- Caufield, Page W. ; Dasanayake, Ananda P. ; Li, Yihong; Pan, Yaping; Hsu, Jay; Hardin, J. Michael. 2000. *Natural History of Streptococcus sanguinis in the Oral Cavity of Infants: Evidence for a Discrete Window of Infectivity. Infection And Immunity,* July 2000, p. 4018–4023 vol. 68 no. 7
- CDC. 2015. *Diphtheria.* [cited October 5th 2017] Available from <https://www.cdc.gov/diphtheria/clinicians.html>
- CDC. 2015. *Infectious Diseases Related to Travel.* [cited June 12th 2017] Available from <https://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2016/infectious-diseases-related-to-travel/diphtheria>
- Efstratiou, Androulla; Engler, Kathryn H.; Mazurova, Izabella K.; Glushkevich, Tatiana; Vuopio-Varkila, Jaana ; Popovic, Tanja. 2000. *Current Approaches to the Laboratory Diagnosis of Diphtheria. The Journal of Infectious Diseases.* 2000;181(Suppl 1):S138–45
- Efstratiou, Androulla; George, R C. 1996. *Screening tests for the Presumptive Identification of Corynebacterium diphtheriae in a Diagnostic Laboratory. Journal of Clinical Microbiology.* 1996, 34(12):3251.
- Falagas, Matthew E.; Vouloumanou, Evridiki K.; Samonis, George.; Vardakas, Konstantinos Z. 2016. *Fosfomycin. Clinical Mycrobiology Reviews American Society for Microbiology* 2016 29:321-347
- Galazkaa, Artur. 2000. *The Changing Epidemiology of Diphtheria in the Vaccine Era. The Journal of Infectious Diseases* 2000;181(Suppl 1):S2–9
- Hamada, Shigeyuki; Torii, Mitsuo; Tsuchitani, Yasuhiko; Kotani, Shozo. 1980. *Isolation and Immunobiological Classification of Streptococcus sanguis from Human Tooth Surfaces. Journal Of Clinical Microbiology,* Aug. 1980, p. 243-249 vol. 12 No. 2
- IDAI. 2013. *Imunisasi Penting Untuk Mencegah Penyakit Berbahaya.* [cited September 17th 2017] Available from <http://www.idai.or.id/artikel/klinik/imunisasi/imunisasi-penting-untuk-mencegah-penyakit-berbahaya>

IDAI. 2015. *Jadwal Imunisasi IDAI*. [cited September 17th 2017] Available from <http://www.idai.or.id/artikel/klinik/imunisasi/melengkapi-mengejar-imunisasi-bagian-ii>

Interagency Taxonomic Information System, United States-Corynebacterium diphtheriae. [cited September 17th 2017] Available from https://www.its.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=960918#null

Interagency Taxonomic Information System, United States-Staphylococcus aureus. [cited May 23th 2018] Available from https://www.its.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=369#null

Kandung, I Nyoman. 2016. *Difteri (Diphtherite)*. Perhimpunan Ahli Epidemiologi Indonesia. [cited June 12th 2017] Available from <http://www.paei.or.id/difteri-diphtherite/>

Kasper, Dennis L.; Fauci, Anthony S.; Hauser, Stephen L.; Longo, Dan L.; Jameson, J. Larry; Loscalzo, Joseph. 2015. *Harrison's Principles of Internal Medicine 19th Ed*. McGraw-Hill Education.

Katzung, Bertram G.; Masters, Susan B.; Trevor, Anthony J. 2012. *Basic and Clinical Pharmacology 12th Ed*. McGraw-Hill Education.

Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2016. *Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2015*. Jakarta: KemenkesRI hal: 184-185

Lu, Ching-Lan; Liu, Chia-Ying; Huang, Yu-Tsung; Liao, Chun-Hsing; Teng, Lee-Jene; Turnidge, John D; Hsueh, Po-Ren. 2011. *Antimicrobial Susceptibilities of Commonly Encountered Bacterial Isolates to Fosfomycin Determined by Agar Dilution and Disk Diffusion Methods. Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, September 2011, p. 4295–4301 vol. 55 no.9

Russell, F. M.; Biribo, S. S. N.; Selvaraj, G.; Oppedisano, F.; Warren, S.; Seduadua, A.; Mulholland, E. K.; et al. 2006. *As a Bacterial Culture Medium, Citrated Sheep Blood Agar Is a Practical Alternative to Citrated Human Blood Agar in Laboratories of Developing Countries*.

Sariadji, Kambang ; Sunarno; Khariri; Puspendari, Nelly; Muna, Fauzul; Rukminiati, Yuni. 2015. *Selektivitas Medium Cystine Tellurite Blood Agar (CTBA) terhadap Beberapa Isolat Bakteri. Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 2015;5(1):19-24

Soriano, Francisco; Zapardiel, Javier; Nieto, Eva. 1994. *Antimicrobial Susceptibilities of Corynebacterium Species and Other Non-Spore Forming Gram-Positive Bacilli to 18 Antimicrobial Agents. Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, Jan. 1995, p. 208–214

Taxonomy of Streptococcus sanguinis. [cited October 5th 2017] Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=388919>

WHO. 2016. *Reported Cases of Selective Vaccine Preventable Diseases (Diphtheriae)*. [cited June 12th 2017] Available from http://apps.who.int/immunization_monitoring/globalsummary/timeseries/sincidencediphtheria.html

Wichmann, Sigrid; Koenig, Wirsing von; Carl, H; Becker-Boost, Elizabeth; Finger, Horst. 1984. *Isolation of Corynebacterium Group JK from Clinical Specimens with a Semiselective Medium. Journal of Clinical Microbiology*. Feb. 1984, p. 204-206

