

Detection of Bacteria from Sputum Samples in Patients Diagnosed with Pneumonia and Non-Pneumonia using Semiautomatic Microbiology Tools

[Deteksi Bakteri dari Sampel Sputum Pada Pasien Terdiagnosa Pneumonia dan Non Pneumonia dengan Alat Semiautomatis Mikrobiologi]

Lenni Iffitawati¹⁾, Chylen Setyo Rini ^{2)*}, Miftahul Mushlih ³⁾, Galuh Rahmana Hanum ⁴⁾

¹⁾Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

²⁾Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

³⁾Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

⁴⁾Program Studi Teknologi Laboratorium Medis Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Indonesia

*Email Penulis korespondensi: chylensetiyorini@umsida.ac.id

Abstract . *Pneumonia is an acute respiratory infection that affects the lung tissue (Alveoli). Pneumonia can be caused by a variety of microorganisms, including microbial organisms, protozoa, and viral infections. Pneumonia attacks around 450 million people every year. This research uses a cross-sectional approach and is descriptive in nature. The data used in this research was obtained from patient medical records via a database. The research was conducted in March – May 2024 at the Microbiology Laboratory Installation at Bangil Regional Hospital. The total samples used were 43 samples, consisting of 35 samples of patient sputum with the inclusion criteria for sputum diagnosed as pneumonia and 8 samples as controls. The samples were examined using a Mindray TDR 300B semiautomatic culture tool and the growth of *Raoultella ornithinolytica* bacteria was found as a saprophytic bacteria which sometimes contaminated bronchial lavage or respiratory tract samples.*

Keywords – *Pneumonia; Bacterial; Sputum culture.*

Abstrak. *Pneumonia adalah penyakit infeksi pernafasan akut yang mengenai jaringan paru-paru (Alveoli). Pneumonia dapat disebabkan oleh berbagai mikroorganisme, termasuk mikroba organisme, protozoa, dan infeksi virus. Pneumonia menyerang sekitar 450 juta orang setiap tahunnya. Penelitian ini menggunakan pendekatan cross sectional dan bersifat deskriptif. Data yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari rekam medis pasien melalui database. Penelitian dilakukan pada bulan Maret – Mei 2024 di Instalasi Laboratorium Mikrobiologi RSUD bangil. Total sampel yang digunakan adalah 43 sampel, terdiri dari 35 sampel sputum pasien dengan kriteria inklusi sputum terdiagnosa pneumonia dan 8 sampel sebagai Kontrol. Sampel diperiksa menggunakan alat kultur semiautomatis mindray TDR 300B dan ditemukan pertumbuhan bakteri *Raoultella ornithinolytica* sebagai bakteri saprofit yang kadang-kadang mengkontaminasi lavage bronkial atau sampel saluran pernapasan.*

Kata Kunci – *Pneumonia; Bakteri; Kultur sputum.*

I. PENDAHULUAN

Pneumonia merupakan bentuk infeksi saluran pernapasan akut yang menyerang paru - paru, paru - paru terdiri dari kantung kecil yang disebut alveoli yang terisi udara. Pasien dengan pneumonia, alveoli terdapat pus dan cairan yang membuat pernafasan menjadi susah dan terbatasnya oksigen [1]. Gejala pneumonia yang disebabkan oleh virus bisa lebih parah dibandingkan gejala pneumonia yang disebabkan oleh bakteri. Gejala penyakit ini antara lain sesak napas dan sesak akibat infeksi paru-paru yang terjadi secara tiba-tiba [2]. Pneumonia dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk usia, status kognitif, penyakit penyerta (termasuk keganasan dan penyakit kronis). Bakteri paling umum dari pneumonia adalah *Pneumococcus* dan *Mycoplasma pneumoniae*, dan virus seperti virus *adenovirus*, pernafasan *syncytial virus* (*RSV*), virus influenza, *rhinovirus* dan *parainfluenza*. Mikroba yang menyebabkan pneumonia berada dalam jaringan paru melalui saluran napas bagian atas, menyerang bronkiolus dan alveoli sehingga menyebabkan reaksi inflamasi yang kuat serta mengakibatkan pembekakan pada alveoli serta jaringan interstisial [3]. Bakteri adalah salah satu golongan organisme prokariotik (tidak mempunyai selubung inti). Bakteri sebagai makhluk hidup tentu memiliki informasi genetik berupa DNA, tapi tidak terdapat dalam tempat khusus (nukleus) dan tidak ada membran inti bentuk DNA bakteri tidak mempunyai intron dan hanya tersusun atas akson saja. Bakteri juga memiliki DNA ekstrakromosomal yang tergabung menjadi plasmid yang berbentuk kecil dan sirkuler. Bakteri adalah kuman yang paling sering menyebabkan pneumonia [4].

Kultur dahak adalah tes yang mendeteksi bakteri atau jamur menular dalam lendir. Prosedur ini dianjurkan bagi pasien yang diduga menderita infeksi saluran pernapasan seperti pneumonia, abses paru, atau TBC. Berdasarkan kemenkes 2022, menjelaskan pemeriksaan dahak atau sputum dapat mencakup pemeriksaan kultur dan atau sitologi pada sampel dahak atau sputum. Kultur sputum mendeteksi dan mengidentifikasi bakteri atau jamur yang menyebabkan infeksi seperti pneumonia atau TBC paru – paru atau saluran pernafasan yang menuju ke paru – paru. Identifikasi antibiotic untuk mengobati infeksi (*sensitivity testing*) serta memantau pengobatan infeksi [5].

Melihat dari banyaknya angka kematian pada pneumonia , maka pneumonia patut menjadi suatu masalah yang harus diatasi dan kultur sputum dilakukan untuk mengidentifikasi organisme guna menegakkan diagnose definitif. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui nama bakteri yang tumbuh pada kultur sputum pasien diagnosa pneumonia

II. METODE

Desain pada studi ini adalah *Deskriptif* yang menjelaskan karakteristik nama bakteri berdasarkan pemeriksaan pada kultur sputum. Penelitian ini dilakukan di instalasi mikrobiologi RSUD Bangil , Pasuruan. Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret – Mei 2024 , uji kelaikan etik didapatkan dari divisi kode etik RSUD Bangil, Pasuruan dengan nomor : 00.9.2/1404/424.072.01/2024. Populasi penelitian ini adalah sputum pasien dengan diagnosa pneumonia di RSUD Bangil, Pasuruan. Terdapat 43 sampel sputum pasien dengan kriteria inklusi sputum terdiagnosa pneumonia tanpa kriteria khusus dikarenakan kondisi pasien yang berbeda. Kriteria eksklusi adalah sputum pasien yang bukan diagnosa pneumonia sebagai kontrol. Sampel diambil menggunakan teknik *accidental sampling* dimana pengambilan sampel diambil dengan secara kebetulan berdasar pada kriteria inklusi selama kurun waktu penelitian, sampel yang diperiksa menggunakan alat semiautomatis mikrobiologi mode kultur Mindray tdr 300b, pemeriksaan diawali dengan pengecekan kondisi alat pada alat *system automated dosing* untuk pemipatan secara automatis dan sistem analisis mikroorganisme , adanya gelembung pada pipet. Koloni bakteri yang dimasukkan pada suspensi botol common biochemistry medium untuk dilakukan penyesuaian kekeruhan larutan kisaran 0,45-0,5 mac-farland sebagai langkah mendapatkan suspensi biokimia. Kemudian beri label identitas sesuai nomer laboratorium pasien. Lakukan inokulasi pada test card sesuai cartridge yang digunakan dan setting alat sesuai test card yang dipakai. Kemudian teteskan mineral oil pada lubang test card sesuai kebutuhan cartridge yang dipakai, dan tambah mineral sugar oksidasi jika perlu sesuai dengan petunjuk dalam test. Inkubasi test card dalam inkubator pada suhu +_ 35 derajat C selama 16 -20 jam dan amati hasilnya sesuai dengan standart tes biokimia (*biokimia test*) dan tes ketahanan (*susceptibility test*). Pada alat Mindray TDR 300 *mikroorganism analysis system* yang akan membaca test card secara otomatis dan mengeluarkan nama bakteri pada pertumbuhan bakteri. Data sekunder yang digunakan diperoleh dari data rekam medis melalui database pasien mikrobiologi RSUD Bangil pada bulan Mei 2024.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil tes dapat dikumpulkan secara otomatis oleh sistem analisis mikroorganisme atau sistem tes identifikasi dan kepekaan otomatis, atau diamati secara manual kedalam sistem analisis, dan hasil identifikasi dan kepekaan strain akan dihitung dan disimpan di sistem analisis. Uji identifikasi pada metode TDR menggunakan jenis kartu reagen (test card) yang sesuai. Pemilihan kartu reagen (test card) yang akan digunakan sangat tergantung kepada morfologi bakteri melalui identifikasi koloni pada media agar dan pengecatan Gram [6].

Tabel 1. Distribusi frekuensi bakteri yang dikultur dari sampel sputum selama rentan waktu 3 bulan dengan diagnosa non pneumonia dan pneumonia berdasarkan usia.

Usia	Diagnosa non pneumonia	Jumlah	Diagnosa pneumonia	Jumlah
0 - 9	-	0	Gram negatif	2
10 - 19	-	0	Gram negatif	0
20 - 29	Gram negatif	1	-	0
30 - 39	-	0	Gram negatif	2
40 - 49	Gram negatif	3	Gram negatif	6
50 - 59	Gram negatif	4	Gram negatif Gram positif	11 2
60 - 69	-	0	Gram negatif	4
70 - 79	-	0	Gram negatif	8
Total		8		35

Pada tabel menjelaskan dari 43 sampel selama kurun waktu penelitian ditemukan 8 sampel sebagai kontrol dengan jenis bakteri gram negatif terdiri dari usia 20 – 43 tahun sejumlah 2 sampel dan usia 44 – 59 tahun sebanyak 6 sampel. Pada sampel pasien dengan diagnos pneumonia ditemukan 35 sampel dengan jenis bakteri gram negatif sebanyak 33 dan gram positif sebanyak 2. Hal ini disebabkan penyakit pada usia lanjut sering berbeda dengan dewasa muda, karena perubahan structural dan fungsional pada siatem pernafasan menyebabkan berkurangnya pertahanan tubuh. Mekanisme pertahanan tubuh penting terhadap masuknya pathogen ke saluran nafas atas dan pohon pernafasan, pembersihan sekresi yang lebih lambat dan kurang efisien oleh sistem mukosiliar pada oeang tua terbukti berkolerasi dengan pneumonia [7].

Tabel 2. Distribusi bakteri yang dikultur dari sampel sputum selama rentan waktu 3 bulan dengan diagnose non pneumonia dan pneumonia berdasarkan jenis kelamin.

Jenis kelamin	Non pneumonia (Orang)	prosentase	Pneumonia (Orang)	Prosentase
Laki - laki	5	63%	22	63%
Perempuan	3	37%	13	37%

Berdasarkan tabel 2, diketahui bahwa jumlah pasien non pneumonia yang berjenis kelamin laki – laki sebesar 3 orang (37%) dan perempuan sebesar 5 orang (63%). Sedangkan pada pasien pneumonia dengan jenis kelamin laki – laki sebesar 22 orang (63%) dan perempuan sebesar (37%). Hal ini disebabkan karena adanya perbedaan fisik anatomi saluran pernafasan antara laki-laki dan perempuan, karena pada laki-laki diameter saluran pernafasan lebih kecil, selain itu terdapat perbedaan daya tahan tubuh antara laki-laki dan perempuan, dan menurut WHO (2001) laki-laki mempunyai aktifitas berlebih tinggi dibandingkan perempuan pada umumnya, Sehingga lebih banyak kontak dengan udara yang kotor [8].

Tabel 3. Hasil sampel kultur sputum berdasarkan diagnosa pneumonia dan non pneumonia berdasarkan diagnosa

Non pneumonia Sampel control (8)	Nama bakteri	Jumlah sampel
CKD	<i>Acinobacter baumanii</i>	1
	<i>Burkholderia cepacia</i>	1
Fracture	<i>Raoultella ornithinolytica</i>	2
DM	<i>Klebsiella pneumonia</i>	1
Calculus of kidney	<i>Burkholderia cepacia</i>	1
Dypsnoea	<i>Klebsiella oxytoca</i>	1
ME	<i>Raoultella ornithinolytica</i>	1
Pneumonia Sampel (35)		
Pneumonia	<i>Raoultella ornithinolytica</i>	9
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	7
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3
	<i>Escherichia coli</i>	3
	<i>Citrobacter gillenii</i>	1
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	1
	<i>Morganella morganii ss morganii</i>	1
	<i>Burkholderia cepacian</i>	3
	<i>Pseudomonas putida</i>	1
	<i>Stenophomonasmaltophilia</i>	1
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	2
	<i>Enterobacter cloacae</i>	1
	<i>Staphylococcus aureus</i>	1
	<i>Staphylococcus intermedius</i>	1

Pada tabel 3, pemeriksaan kultur sputum diagnosa non pneumonia dengan pneumonia, sama – sama ditemukan adalah bakteri *Raoultella ornithinolytica*. Bakteri *Raoultella ornithinolytica* adalah basil aerobik Gram negatif yang beraksipul yang termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae*. Sebelumnya dikenal sebagai *klebsiella ornithinolytica*, bakteri ini direklasifikasi sebagai *Raoultella* berdasarkan pendekatan baru. *Raoultella ornithinolytica* yang terutama dianggap sebagai bakteri lingkungan perairan dan dapat ditemukan dilingkungan rumah sakit [9] Infeksi *Raoultella ornithinolytica* lebih sering dilaporkan dalam literatur medis. Patogen ini berpotensi menyebabkan berbagai jenis infeksi, termasuk pneumonia. *Raoultella ornithinolytica* bakteri yang menyebabkan infeksi pada manusia termasuk bakteremia, kolangitis, infeksi saluran kemih, pneumonia, infeksi kulit, osteomielitis, meningitis, abses otak, mediastinitis, perikarditis, konjungtivitis, otitis, dan infeksi lainnya [10]. *Klebsiella oxytoca* adalah salah satu dari beberapa bakteri klebsiella sp. Bakteri ini secara alami ditemukan di saluran usus, mulut dan hidung. *Klebsiella oxytoca* biasanya diperoleh dari sumber lingkungan dan merupakan patogen komensal pada manusia tetapi juga merupakan patogen oportunistik yang menyebabkan berbagai infeksi [11]. Bakteri *Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri patogen oportunistik yang memanfaatkan penurunan fungsi kekebalan tubuh untuk menginfeksi tubuh manusia. Bakteri *Klebsiella pneumoniae* adalah bakteri yang mampu hidup dimana-mana. Bakteri ini merupakan flora transien yang terdapat di saluran nafas atas dan kulit. Bakteri *Klebsiella pneumoniae* juga dilaporkan diisolasi dari lingkungan seperti air permukaan, dan peralatan medis. Bakteri ini sebagai penyebab, pneumonia, infeksi saluran kemih, sepsis, meningitis serta abses hepar [12]. *Escherichia coli*, bakteri Gram-negatif, merupakan anggota famili *Enterobacteriaceae* dan biasanya hidup komensal di saluran pencernaan manusia dan hewan. Namun, ia dapat memperoleh elemen genetik bergerak yang memberikan faktor virulensi dan memungkinkannya menjadi patogen yang dapat menyebabkan pneumonia, diare, enteritis, infeksi saluran empedu, infeksi saluran kemih, bakteremia, dan meningitis neonatal [13]. Pneumonia *E. coli* biasanya dianggap sebagai infeksi nosokomial yang terjadi pada pasien dengan faktor risiko seperti aspirasi atau ventilasi mekanis. *Burkholderia cepacia* merupakan bakteri patogen opurtunistik yang sering menyebabkan pneumonia pada pasien dengan kondisi *immunocompromised*, termasuk pasien *cystic fibrosis*. Kolonisasi maupun infeksi yang disebabkan oleh *Burkholderia cepacia* sering disebut dengan cepacia syndrome, berupa pneumonia yang parah dan progresif yang dapat menyebabkan kematian akibat septicaemia atau gagal nafas. Infeksi yang disebabkan *Burkholderia cepacia* secara umum terjadi sebagai infeksi nosocomial pada pasien kontak dengan desinfektan dan peralatan anastesi yang terkontaminasi. Infeksi yang terjadi meliputi jaringan lunak, jalur respirasi dan urogenital, akan tetapi juga dapat menyebabkan bakteremia, endokarditis dan syok sepsis [14].

IV. SIMPULAN

Dari hasil penelitian terhadap 43 sampel sputum pasien non pneumonia dan pneumonia didapatkan bahwa pada jenis kelamin laki – laki dengan diagnose non pneumonia sebanyak 5 orang (63%) dan diagnosis pneumonia 22 orang (63%). Kemudian pada jenis kelamin perempuan dengan diagnosis non pneumonia sebanyak 3 orang (37%) dan diagnosis pneumonia sebanyak 13 orang (37%). Ditemukan bakteri *Raoultella ornithinolytica*. Berdasarkan uji pembanding antara control dan sampel didapatkan bahwa terdapat hubungan antara jenis kelamin dan usia pasien dengan nama bakteri yang mengalami pertumbuhan pada kultur sputum.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Kepala Instalasi Laboratorium Mikrobiologi RSUD bangil beserta semua rekan-rekan yang telah mendukung dalam proses penelitian ini. Demikian juga peneliti ucapan terima kasih kepada staf akademik Prodi Teknologi Laboratorium Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sidoarjo yang telah membantu pelaksanaan penelitian.

REFERENSI

- [1] WHO. 2020. Pneumonia Kit 2020. Retrieved 12 February 2024, from <http://www.who.int/emergencies/emergency-health>
- [2] Kemenkes RI. (2018). *Profil Kesehatan Indonesia 2018. P2Ptm.Kemkes.Go.Id L.*) Jakarta:Kementerian Kesehatan RI. Retrieved from <http://p2ptm.kemkes.go.id/infographic-p2ptm/obesitas/kebutuhan-tidur-sesuai-usia>.
- [3] Anwar, A., & Dharmayanti, I. (2014). Pneumonia Pada Anak Balita di Indonesia. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional*, 8(8), 359–365. Retrieved from [https://doi.org/10.1016/S0090-4295\(00\)00847-5](https://doi.org/10.1016/S0090-4295(00)00847-5)
- [4] Jawetz, Melnick, & Aldeberg. (2004). *Mikrobiologi Kedokteran. Mikrobiologi kedokteran* (Edisi 23). Jakarta: EGC.
- [5] Kemenkes. (2022). Pengumpulan dan Pengelolaan Spesimen Dahak. Retrieved 2 February 2024, lilis pamungkassari, AMd.A.K from https://yankes.kemkes.go.id/view_artikel/1937/pengumpulan-dan-pengelolaan-spesimen-dahak
- [6] Ye Yingwu, Wang Yusan, Shen Ziyu. National Guide to Clinical Laboratory Procedures (part III). Nanjin; Southeast University Press. 2006.
- [7] Ho JC, Chan KN, Hu WH Pengaruh penuaan terhadap pembersihan mukosilir hidung, frekuensi denyut, dan ultrastruktur silia pennafasan. Am J Respi Crit Care Med. 1994; 150 (1):197-205.[PubMed] [Google Scholar]
- [8] WHO, Model Prescribing Information: Drug Used In Bacterial Infections. Geneva, 2001. Hal 4-6
- [9] M. Drancourt, C.Bollet, A. Carta,P. Rousselier Analisi filogenetik spesies klebsiella menggambarkan klebsiella dan raoultella gen. nov., dengan deskripsi sisir Raoultella terrigena nov. dan sisir Raoultella planticola nov. jurnal Int Syst Evol Microbiol, 51 (Pt 3) (2001), hlm. 925 - 932
- [10] Klein SL, Flanagan KL, Perbedaan jenis kelamin dalam respon imun. *Nat Rev Immunol.* 2016; 16 : 626-638. doi: 10.1038/nri.2016.90. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
- [11] Yang, J. et al. (2022) 'Klebsiella oxytoca complex: Update on taxonomy, antimicrobial resistance, and virulence', *Clinical Microbiology Reviews*, 35(1). doi:10.1128/cmr.00006-21.
- [12] Virawan, H. 2018. Pola Kepekan Klebsiella pneumoniae Isolat Klinik di RSUP Dr. Soeradji Tirtonegoro Klaten terhadap Berbagai Macam Antibiotik. Skripsi. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan Universitas Gadjah Mada.
- [13] Escherichia coli di Eropa: gambaran umum. Allocati N, Masulli M, Alekseev MF, Di Ilio C. Int J Lingkungan Kesehatan Masyarakat. 2013; 10 :6235–6254. [Artikel gratis PMC] [PubMed] [Google Cendekia]
- [14] Escherichia coli patogen ekstraintestinal: "E coli jahat lainnya". Johnson JR, Russo TA. J Lab Klinik Med. 2002; 139 :155–162. [PubMed] [Google Cendekia]

Conflict of Interest Statement:

The author declares that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.