

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Umum Tentang Diabetes Melitus

1. Pengertian Diabetes Melitus

Diabetes melitus (DM) yang berasal dari bahasa Yunani *diabatin-ein* yang berarti "tembus" atau "pancuran air", dan kata latin *Melitus* yang berarti "rasa manis", yang umumnya dikenal sebagai kencing manis adalah suatu kondisi yang ditandai dengan hiperglikemia, (peningkatan kadar gula darah) terutama setelah makan. Diabetes melitus juga digambarkan sebagai gangguan penyakit metabolisme dimana kelompok gula darah yang berada di atas kisaran normal yaitu (>200 mg/dl) (Maulana, 2015).

Diabetes melitus adalah penyakit kronis yang disebabkan oleh tingginya kadar gula dalam darah yang disebut dengan hiperglikemia, yang disertai dengan gangguan metabolisme. Normalnya gula darah dikendalikan oleh insulin, hormon yang diproduksi oleh pankreas, yang memungkinkan sel untuk menyerap gula dalam darah. Namun, pada diabetes terjadi defisiensi insulin yang disebabkan oleh kurangnya sekresi insulin dan penghambatan kerja insulin pada reseptornya (Handaya, 2016).

2. Klasifikasi Diabetes Melitus

Diabetes Melitus dibagi menjadi tiga jenis. Ada tiga jenis utama diabetes: tipe 1, tipe 2, dan diabetes gestasional. Bentuk terakhir diabetes ini bersifat insidental, dan ini terkait dengan bagaimana kehamilan seseorang (Septiarni, 2018).

a. Diabetes tipe 1

DM tipe I atau Insulin Dependent Diabetes Melitus (IDDM). Diabetes mellitus ini akibat kerusakan sel-sel beta pankreas yang biasanya terjadi karena reaksi autoimun, dan menjurus kekurangan insulin yang absolut. Gejala DM mulai muncul apabila kerusakan

sel beta apabila sudah mencapai 80-90%. Kerusakan sel-sel beta pankreas terjadi lebih cepat pada anak-anak daripada dewasa. Pasien DM tipe I mayoritas mempunyai antibodi yang menunjukkan adanya proses autoimun dan sebagian kecil tidak menunjukkan terjadinya proses autoimun (Firdaus, 2017).

b. Diabetes tipe 2

Diabetes tipe 2 juga dikenal sebagai *noninsulin-dependent* diabetes yang tidak merespon insulin. Pada diabetes tipe 1, pasien lebih sensitif terhadap suntikan insulin, hal ini disebabkan pankreas pasien tidak mampu memproduksi insulin dalam jumlah yang cukup atau tidak memproduksi sama sekali. Diabetes tipe 2 didefinisikan sebagai diabetes yang disebabkan oleh sel-sel yang tidak menggunakan insulin sebagai sumber energi atau sel-sel tubuh yang tidak memproduksi insulin sebagai akibat dari pankreas, yang dikenal sebagai resistensi insulin. Resistensi insulin menyebabkan glukosa yang tidak dapat digunakan oleh sel untuk tetap berada dalam aliran darah, menyebabkan menumpuk dari waktu ke waktu. Pada saat yang sama, resistensi insulin menyebabkan pankreas memproduksi insulin (Sutanto, 2017).

c. Diabetes Gestasional

Diabetes melitus gestasional, sering dikenal sebagai DMG, adalah suatu kondisi glukosa yang pertama kali ini awalnya ditemukan pada wanita yang sedang hamil. DMG adalah gangguan yang terjadi pada wanita hamil yang belum pernah didiagnosis menderita diabetes di masa lalu tetapi menunjukkan kadar glukosa yang tinggi saat hamil. Diabetes melitus gestasional berkaitan erat dengan komplikasi selama kehamilan, antara lain peningkatan kebutuhan operasi caesar, preeklamsia, dan infeksi saluran kemih, serta peningkatan risiko gangguan (makrosomia, hipoglikemia neonatus, dan ikterus neonatorum) (Kurniawan, 2016).

3. Patofisiologi DM

Diabetes melitus merupakan kumpulan gejala yang timbul pada seseorang akibat peningkatan kadar glukosa darah. Hal ini dikarenakan tubuh tidak memproduksi cukup insulin/tidak lagi memproduksi insulin, atau bahkan tidak mampu menggunakan insulin yang dihasilkan, sehingga glukosa tidak dapat masuk ke dalam sel untuk diubah menjadi energi sehingga menyebabkan kadarnya di dalam darah meningkat. Kondisi tersebut dapat menyebabkan kerusakan di berbagai macam jaringan tubuh mulai dari pembuluh darah, mata, ginjal, jantung, dan juga saraf. Setelah berkembang penuh secara klinis, DM akan ditandai dengan hiperglikemia puasa, aterosklerosis, mikroangiopati, dan neuropati (Sugianto, 2016).

Pada diabetes tipe 2 masalah utama ditandai dengan sekresi insulin, kerja insulin, atau *resistensi insulin*. Aktivitas kerja yang menjadi penyebab utama *resistensi insulin* dan gangguan sekresi insulin pada diabetes tipe 2 tidak diketahui secara pasti, meskipun faktor genetik berperan utama dalam diri seseorang (Sormin, 2022). Pada DM2 terjadi penurunan sel β -pankreas hingga 50 – 60 % dari kadar normal. Peningkatan kadar glukosa darah pada DM2 yang melewati batas ambang ginjal menyebabkan glukosa tersebut keluar melalui urin, sehingga diabetes melitus disebut sebagai penyakit kencing manis (Sugianto, 2016).

4. Faktor Resiko Penyebab Diabetes Melitus

Diabetes melitus terjadi karena adanya proses degenerasi atau proses penurunan kerja insulin oleh sel-sel beta akibat lansia dan akibat Obesitas. Faktor Penyebab penyakit DM antara lain (Kartikasari, 2019):

a. Faktor genetik

Faktor genetik adalah suatu kecenderungan genetik penyebab diabetes melitus. Kecenderungan genetik ini hanya terjadi pada individu yang mempunyai tipe antigen HLA (*Human Leucocyte Antigen*). HLA adalah kelompok gen yang bertugas sebagai antigen

tranplantasi dan proses imun lainnya (Kartikasari, 2019). Sehingga DM tipe 2 akan meningkat cepat jika orang tua atau saudara kandung mengalami penyakit ini (Kurniasari, 2020).

b. Faktor Imunologi

Bagi pengidap DM menunjukkan bahwa, adanya suatu respon autoimun yang terjadi didalam tubuh merupakan respon abnormal dimana antibodi mengarah pada jaringan tubuh dengan cara bereaksi terhadap jaringan yang dianggapnya seakan-akan itu sebagai jaringan.

c. Faktor usia

Berdasarkan hasil penelitian, usia yang paling banyak menderita diabetes melitus adalah di usia >45 tahun. Pada usia ini akan terjadi penurunan fungsi endokrin pankreas yang memproduksi hormon berupa insulin.

d. Faktor obesitas

Pada derajat kegemukan dengan IMT > 23 akan mengalami peningkatan kadar glukosa darah menjadi 200 mg% (Kurniasari, 2020).

e. Faktor stres

Stres menyebabkan hormon *counter-insulin* (kerjanya berlawanan dengan insulin) sehingga kerjanya lebih aktif. Jadi, beban yang tinggi akan membuat suatu pankreas mudah rusak hingga berdampak pada penurunan insulin yang mengakibatkan terjadinya DM.

f. Pola makan yang salah

Kekurangan gizi atau kelebihan berat badan sama-sama akan meningkatkan resiko terkena DM. Malnutrisi bisa merusak pankreas, sedangkan obesitas bisa meningkatkan gangguan kerja atau resistensi insulin. Begitupun dengan pola makan yang tidak teratur dan cenderung terlambat juga akan berperan pada ketidak stabilan kerja pankreas.

g. Bagi pengonsumsi alkohol dan rokok

Adanya faktor lain yang berhubungan dengan suatu perubahan dari lingkungan tradisional yang berperilaku seperti gaya kebarat-baratan yang mengikuti perubahan-perubahan yang terjadi di era milenial ini

seperti konsumsi alkohol dan rokok, hal ini juga berperan mengakibatkan dalam peningkatan DM tipe 2. Dimana alkohol akan mengganggu metabolisme gula darah terutama bagi penderita DM, sehingga akan mempersulit regulasi gula darah dan meningkatkan tekanan darah.

- h. Hipertensi, Orang dengan tekanan darah tinggi memiliki risiko lebih tinggi terkena diabetes tipe 2.
- i. Perawatan kaki tidak teratur (Amtasari, 2020).

5. Diagnosis Diabetes Melitus

Pemeriksaan dilakukan untuk mengetahui apakah pasien menderita diabetes atau tidak (Decroli, 2019).

- a. Kadar glukosa darah sewaktu > 200 (mg/dl)
 - 1) Plasma vena ≥ 200 , nilai normal < 100 mg/dl
 - 2) Darah kapiler ≥ 200 , nilai normal < 90 mg/dl
- b. Kadar glukosa darah puasa > 126 mg/dl
 - 1) Plasma vena ≥ 126 , nilai normal < 100 mg/dl
 - 2) Darah kapiler ≥ 100 , nilai normal < 90 mg/dl

6. Gejala Diabetes Melitus

Gejala diabetes melitus disebabkan dari kadar gula darah yang tinggi seperti poliuria, polidipsia, dan polifagia. Poliuria yaitu mengacu pada kebutuhan untuk sering buang air kecil sebagai akibat dari kadar gula darah yang tinggi, polidipsia yaitu mengacu pada kebutuhan untuk minum banyak karena rasa haus yang meningkat dan polifagia, yaitu mengacu pada peningkatan keinginan untuk makan sebagai akibat dari kekurangan glukosa sel. Gejala lain termasuk mual, pusing, dan penurunan daya tahan selama aktivitas fisik, penglihatan juga bisa menjadi kabur. Pasien dengan diabetes yang memiliki kadar gula darah yang tidak terkontrol memiliki peningkatan risiko infeksi (Maulana, 2015).

7. Komplikasi Diabetes Melitus

Diabetes yang tidak terkontrol dengan baik akan menimbulkan komplikasi akut dan kronis. Menurut Perkeni, 2021 komplikasi DM dapat dibagi menjadi dua kategori, yaitu :

1. Komplikasi Akut

- a) Hipoglikemia, adalah kadar glukosa darah seseorang dibawah normal (<50 mg/dl). Hipoglikemia lebih sering terjadi pada DM tipe 1 yang dapat dialami 1-2 kali per minggu. Kadar gula terlalu rendah menyebabkan sel-sel otak tidak mendapat pasokan energi sehingga tidak berfungsi bahkan dapat mengalami kerusakan.
- a) Hiperglikemia, adalah kadar gula darah meningkat secara tiba-tiba, dapat berkembang menjadi keadaan metabolisme yang berbahaya antara lain ketoasidosis diabetik, koma hiperosmoter non ketotik (KHNK) dan kemolakto asidosis.

2. Komplikasi Kronis

a) Komplikasi Makrovaskuler

Komplikasi makrovaskuler yang biasa terjadi pada penderita diabetes melitus adalah trombotik otak yaitu terjadi pembekuan darah pada sebagian otak, mengalami penyakit jantung koroner (PJK), gagal jantung kongestif, dan stroke.

b) Komplikasi Mikrovaskuler

Komplikasi mikrovaskuler adalah komplikasi kronik yang kasusnya lebih sering terjadi pada penderita diabetes melitus tipe 2. Seperti nefropati, diabetik retinopati atau kebutaan, neuropati, dan amputasi (Fatimah, 2015).

B. Tinjauan Umum Tentang Ulkus Diabetes

1. Pengertian Ulkus Diabetes

Ulkus diabetes adalah kerusakan yang terjadi sebagian (*Partial Thickness*) atau keseluruhan (*Full Thickness*) pada area kulit yang meluas hingga ke jaringan bawah kulit, tendon, otot, tulang, atau persendian yang terjadi pada seseorang yang menderita diabetes melitus (DM), dimana

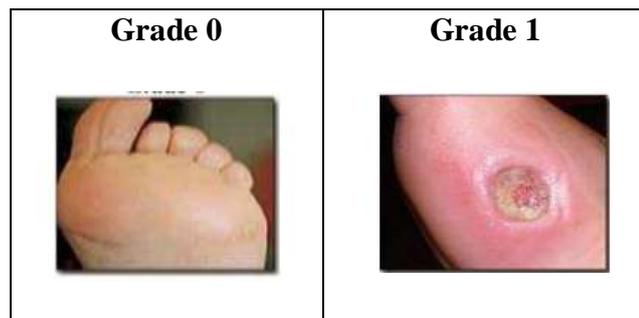
kondisi peningkatan kadar gula darah tinggi. Luka dapat terinfeksi jika ulkus kaki tidak diobati untuk waktu yang lama dan tidak sembuh. Amputasi pada ekstremitas bagian bawah dapat menyebabkan gangren, ulkus kaki, infeksi, neurartropati dan penyakit arteri perifer (Tarwoto dkk, 2016).

Ulkus Diabetik adalah luka terbuka pada permukaan kulit disertai kematian jaringan yang luas dan invasi kuman saprofit. Ulkus Diabetik adalah salah satu komplikasi kronis Diabetes Melitus berupa luka terbuka pada permukaan kulit yang dapat disertai adanya kematian jaringan setempat (Anugrah, 2019).

2. Klasifikasi Ulkus Diabetes

Menurut Wagner, ulkus kaki pada penderita diabetes melitus dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

- a) Tingkat 0, tidak ada luka terbuka di kaki. Gejala hanya nyeri.
- b) Tingkat 1, dijumpai ulkus superfisial (sebagian atau belum mengenai jaringan).
- c) Tingkat 2, ulkus dalam mencapai tendon, disertai selulitis tanpa kelainan tulang / abses.
- d) Tingkat 3, luka yang lebih dalam, sering kali dikaitkan dengan peradangan jaringan di sekitarnya hingga infeksi pada tulang dan pembentukan abses.
- e) Tingkat 4, gangren yang terlokasi, seperti pada jari kaki, bagian depan atau tumit.
- f) Tingkat 5, yaitu gangren pada seluruh kaki (Handaya, 2016).





Gambar 1. Klasifikasi Ulkus

(Sumber : Aini & Aridiana, 2016).

3. Patofisiologi Ulkus Diabetes

Salah satu penyebab komplikasi DM adalah ulkus kaki diabetik. Ulkus diabetikum disebabkan tiga faktor yang sering disebut trias, yaitu: iskemi, neuropati, dan infeksi. Kadar glukosa darah tidak terkontrol akan menyebabkan komplikasi kronik neuropati perifer berupa neuropati sensorik, motorik, dan autonom (Kartika, 2017). Neuropati motorik yaitu tekanan tinggi pada kaki ulkus yang mengakibatkan kelainan bentuk kaki, neuropati sensorik yaitu hilangnya sensasi pada kaki dan yang terakhir adalah neuropati autonom yaitu bekurangnya sekresi kelenjar keringat yang mengakibatkan kaki kering, pecah-pecah dan membelah sehingga membuka pintu masuk bagi bakteri (Pramudito, 2014).

4. Faktor Resiko Terjadinya Ulkus Diabetes

Faktor resiko terjadinya ulkus diabetik adalah kadar gula yang tidak terkontrol, riwayat ulkus kaki diabetik atau amputasi sebelumnya, kebiasaan merokok, edukasi yang buruk, Lama menderita diabetes melitus ≥ 10 tahun, obesitas, pengobatan tidak teratur, *Glikolisasi Hemoglobin* (HbA1C) tidak terkontrol dan status sosial ekonomi rendah. Jenis kelamin

juga salah satu sebagai faktor resiko yang mempengaruhi terjadinya ulkus kaki diabetes seperti, laki-laki memiliki kecenderungan lebih tinggi untuk mengalami ulkus kaki diabetik jika dibandingkan dengan wanita (Prasetyono, 2016).

5. Pencegahan Luka dan Trauma Ulkus Diabetes

- a. Kenakan alas kaki yang sesuai dengan ukuran kaki.
- b. Membersihkan kaki setiap hari dengan air bersih dan sabun mandi.
- c. Memberikan pelembab/lotion pada daerah kaki yang kering agar kulit tidak menjdai retak.
- d. Selalu gunakan kaus kaki berbahan katun yang tidak terlalu ketat, ganti kaus kaki setiap hari
- e. Tidak berjalan tanpa alas kaki untuk melindungi kaki agar tidak terjadi luka
- f. Periksa sepatu setiap hari dan bersihkan dari benda asing
- g. Melindungi kaki dari panas dan dingin
- h. Pertahankan aliran darah yang baik ke kaki. Saat duduk, luruskan kaki sebentar.
- i. Datang ke dokter sedini mungkin, jangan membiarkan luka kecil di kaki sekecil apapun (Damayanti, 2018).

6. Diagnosis Ulkus Diabetes

Diagnosis ulkus kaki diabetik yaitu:

- a. Pemeriksaan fisik : Infeksi kaki untuk mengamati luka/ulkus pada kulit jaringan di kaki, pemeriksaan sensasi vibrasi (rasa) berkurang dan hilang, palpasi denyut nadi arteri akan menurun atau hilang.
- b. Pemeriksaan penunjang : X-ray, EMG, dan pemeriksaan laboratorium seperti tes kultur bakteri, tes pewarnaan gram untuk mengetahui apakah ulkus kaki diabetes menjadi infeksi dan menentukan penyebab kuman atau bakteri (Sidabutar, 2020).

C. Mekanisme Masuknya Bakteri Ke Dalam Luka Diabetes

Penderita diabetes melitus sangat mudah mengalami penyempitan pembuluh darah dibanding orang sehat. Setelah terjadi penyempitan, lama-kelamaan pembuluh darah tersebut akan tersumbat (Cahyani 2014). Luka diabetes merupakan komplikasi dari diabetes melitus yang rentan mengalami infeksi akibat penempelan bakteri dan kondisi tingginya kadar gula darah pada pengidap diabetes akan menyebabkan respon imunitas menjadi lambat saat tubuh terpapar bakteri. Selain itu, meningkatnya kadar glukosa akan menjadi sumber bahan makanan untuk pertumbuhan dan perkembangan bakteri tersebut. Infeksi bakteri dapat terjadi bila bakteri mampu melewati penghalang mukosa atau kulit dan menembus jaringan tubuh. Ulkus menjadi pintu gerbang masuknya bakteri baik itu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif yang menyebar cepat melalui organ tubuh yang mengalami luka terbuka sehingga menyebabkan kerusakan berat dari jaringan dan kadar glukosa yang tinggi menjadi tempat strategis perkembangan bakteri (Anggriawan, 2014). Hal ini karena bakteri anaerob merupakan jenis bakteri yang umumnya bersifat patogen (salah satunya menyebabkan infeksi ulkus diabetikum). Alasannya adalah kondisi predisposisi infeksi anaerob meliputi paparan lokasi tubuh yang steril terhadap inokulum yang tinggi dari bakteri asli flora membran mukosa, suplai darah yang tidak memadai dan nekrosis jaringan yang menurunkan potensi oksidasi dan reduksi yang mendukung pertumbuhan anaerob. Yang mana salah satu faktor yang mempengaruhi adalah diabetes melitus. Infeksi yang sudah ada sebelumnya disebabkan oleh organisme aerobik atau fakultatif dapat mengubah kondisi jaringan lokal dan membuatnya lebih menguntungkan untuk pertumbuhan anaerob (Sartika, 2020).

Jumlah bakteri yang banyak dapat mempengaruhi beberapa hal diantaranya yaitu pada proses pembersihan luka. Luka yang sering terbuka dalam waktu lama memudahkan bakteri masuk baik melalui air, tanah, udara, melalui tangan selama perawatan pribadi atau dengan menyentuh permukaan luka yang terkontaminasi oleh suatu bakteri. Kemudian bakteri ini akan

berada di area sekitaran jaringan kulit yang terbuka sehingga kalau tidak segera mendapatkan pengobatan dan perawatan yang intensif, maka akan memudahkan untuk terjadinya infeksi yang segera meluas dan dalam keadaan lebih lanjut memerlukan proses amputasi. Infeksi bakteri pada ulkus diabetikum karena dipengaruhi oleh berbagai hal misalnya bisa melalui sanitasi air yang kurang bersih, pemakaian pakaian yang tidak higienis, aktivitas pekerjaan yang berat dan pengobatan tidak teratur (Radji M, 2016).

Bakteri penghasil pus (nanah) yang paling sering adalah *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella sp.*, *Proteus sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Escherichia coli* dan *Streptococcus sp* (Kumar, 2013). Dimana infeksi yang dihasilkan oleh bakteri ini yaitu merusak sel leukosit jenis neutrophil dengan cara dilepas sehingga akan membentuk abses pada jaringan tubuh yang mengalami luka diabetes (Radji M, 2016).

D. Tinjauan Umum Tentang Bakteri *Klebsiella sp*

1. Pengertian Bakteri *Klebsiella sp*

Klebsiella merupakan bakteri patogen gram negatif, berbentuk batang, non motil yang tidak bergerak, dari family *Enterobacteriaceae* yang dapat ditemukan di saluran pencernaan dan pernafasan. *Klebsiella* juga merupakan bakteri yang dapat ditemukan pada tanah, kotoran, air dan udara (Mardiyantoro, 2018). Spesies *Klebsiella sp* merupakan jenis bakteri patogen potensial dan patogen oportunistik yang sangat penting. Bakteri ini menyebabkan infeksi pada saluran pernapasan bagian atas meskipun hanya dalam jumlah kecil, terutama pada mukosa, hidung, dan faring serta dapat menyebabkan pneumonia dan infeksi saluran kencing akibat infeksi yang meluas, infeksi pada kulit (kulit yang mengalami luka), serta infeksi saluran cerna (bila bakteri ini tumbuh berlebihan). *Klebsiella* merupakan salah satu bakteri yang paling sering menyebabkan infeksi nosokomial atau infeksi yang didapat dari rumah sakit (Ramaditya dkk, 2018).

2. Taksonomi

Klasifikasi bakteri *Klebsiella sp* dapat disajikan sebagai berikut.

Kingdom	: <i>Bacteriae</i>
Divisi	: <i>Proteobacteria</i>
Kelas	: <i>Gammaproteobacteria</i>
Ordo	: <i>Enterobacteriaceae</i>
Genus	: <i>Klebsiella</i>
Species	: <i>Klebsiella sp</i> (Kurniawan dkk, 2018).

3. Morfologi

Klebsiella sp merupakan kelompok bakteri gram negatif yang memiliki ciri-ciri sebagai berikut: berbentuk batang (basil) dan pendek, tidak membentuk spora, tidak bergerak, bersifat fakultatif aerob, memiliki selubung atau kapsul yang tebal, dan ukuran berkisar 0,5-1,5 μ , karena tidak memiliki flagela sehingga *Klebsiella* tidak dapat bergerak, tetapi mampu memfermentasi karbohidrat yang membentuk asam dan gas, dapat tumbuh pada kisaran temperature 12°C - 43°C dengan ph optimum untuk pertumbuhan 7,2. Pertumbuhan mukoid dan kapsul polisakarida besar yang merupakan karakteristik spesies *Klebsiella* (Kurniawan dkk, 2018).



Gambar 2. Bakteri *Klebsiella sp*
(Sumber : Fauziah, 2019).

Beberapa spesies *Klebsiella sp*, termasuk *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella ozaenae*, dan *Klebsiella rhinoscleromatis*. Penyebab tersering infeksi nosokomial yang disebabkan oleh *Klebsiella sp* adalah *Klebsiella pneumoniae*. Selain itu, *Klebsiella oxytoca* telah diisolasi dari sampel klinis manusia, namun prevalensinya lebih rendah dibandingkan *Klebsiella pneumoniae* (Mardiyantoro dkk, 2018).

E. Tinjauan Umum Tentang Pemeriksaan Bakteri

1. Diagnosa Laboratorium

Spesimen swab permukaan pus, darah, aspirat trakea, atau cairan spinal untuk kultur media, tergantung dari lokasi proses, semuanya merupakan spesimen yang tepat untuk pengujian. Bakteri yang berasal dari nanah atau sputum langsung dibuat preparat dan diperiksa dengan pewarnaan gram dibawah mikroskop (Jawetz dkk, 2014).

2. Kultur Bakteri

Pada umumnya, laboratorium medis menggunakan metode diagnostik konvensional seperti kultur dan mikroskopis untuk deteksi bakteri. Kultur bakteri merupakan metode pembiakan sel dengan cara menanam bakteri pada media buatan, pemeriksaan mikroskopis, dan uji biokimia. Kultur bakteri ini biasanya dilakukan untuk mengidentifikasi jenis bakteri. Metode diagnostik ini dilakukan untuk menentukan penyebab penyakit infeksi dengan menumbuhkannya pada suatu media. Kultur bakteri dapat dilakukan pada media padat dan cair (Wulandari dkk, 2021). Pemeriksaan dengan medium kultur mempunyai sensitivitas dan spesifisitas yang cukup tinggi, akan tetapi proses pemeriksaan memerlukan waktu yang cukup lama. Sensitivitas metode tersebut mendekati 100% dan pemeriksaan dapat dilakukan terhadap sampel klinis yang mempunyai kandungan bakteri 10-100 sel. Tetapi metode diagnostik konvensional memiliki beberapa kekurangan salah satunya adalah identifikasinya memerlukan waktu yang lebih lama yaitu 2-3 hari (Khairiri dkk, 2020).

3. Isolasi Bakteri

Teknik isolasi mikroorganisme merupakan usaha untuk menumbuhkan mikroba di luar lingkungan alaminya. Tujuan mengisolasi mikroorganisme adalah untuk memperoleh biakan bakteri yang sudah tidak bercampur lagi dengan bakteri lainnya serta untuk memisahkan berbagai jenis mikroorganisme yang berasal dari campuran bermacam-macam mikroba. Hal ini dapat dilakukan dengan menanam pada media

padat. Beberapa cara atau metode untuk mendapatkan biakan murni dari biakan campuran. Beberapa metode yang digunakan seperti cawan petri gores (*Streak plate*), metode cawan tuang (*Pour Plate*), dan metode sebar (*Spread Plate*). Dalam penelitian ini, metode yang akan digunakan adalah cawan gores (*Streak plate*) yang mempunyai keuntungan yaitu hemat bahan dan waktu. Metode cawan gores yang dilakukan dengan baik kebanyakan akan menyebabkan terisolasi mikroorganisme yang diinginkan (Waluyo, 2016).

4. Media Pertumbuhan

a) Media

Media merupakan campuran nutrien atau zat-zat makanan yang dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhan. Media selain untuk menumbuhkan mikroba juga dibutuhkan untuk isolasi dan inokulasi uji fisiologis biokimia. Syarat media yang baik harus berupa molekul-molekul rendah dan mudah larut dalam air, nutrien dalam media harus memenuhi kebutuhan dasar mikroorganisme yaitu meliputi air, karbon, energi, mineral dan faktor tumbuh mengandung zat-zat penghambat harus steril (Yusmaniar dkk, 2017).

Tujuan menggunakan media yaitu dengan pertumbuhan dapat dilakukan isolasi mikroorganisme menjadi kultur murni, dapat menginokulasi (pemindahan) mikroorganisme dari sampel pemeriksaan dan digunakan sebagai tempat untuk penyimpanan stok mikroorganisme. Mikroorganisme untuk kehidupannya membutuhkan bahan-bahan organik dan anorganik dari lingkungannya. Bahan-bahan tersebut disebut nutrient (Zat gizi).

Peran utama Nutrient adalah :

- a) Sumber energi
- b) Bahan pembangun sel
- c) Sebagai aseptor elektron dalam reaksi bioenergenetik (Yuniarty, 2013:2).

b) Jenis dan fungsi media

Jenis-jenis media terdiri dari :

1) Media Umum

Media umum merupakan media yang dipergunakan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan satu atau lebih kelompok mikroba secara umum, seperti *Nutrient Broth* (NB), *Nutrient Agar* (NA) (Ristiati, 2015).

2) Media Pemupuk

Sampel ditanam pada BHIB, dimana media ini berfungsi sebagai media diperkaya yang dapat menyuburkan pertumbuhan bakteri yang hendak diisolasi artinya akan membudidayakan bakteri sesudah diinkubasi selama 24 jam, kemudian bakteri ditanam pada media defferensial dan media selektif (Alam C, 2012).

3) Media Defferensial

Media tempat bakteri tumbuh disebut media diferensial, dan dipakai untuk jenis bakteri satu dengan lainnya berdasarkan sifat biokimia bakteri. Misalnya media MCA, TCBS, EA, EMB, dan MSA (Arianda, 2016).

4) Media Selektif

Media selektif yaitu media yang hanya akan memungkinkan satu spesies bakteri tertentu tumbuh tetapi akan menghambat jenis bakteri lainnya. Misalnya, agar *Eosin Methylene Blue* (EMB), MCA, MSA, TCBS. (Arianda, 2016).

c) Jenis-jenis media pertumbuhan bakteri *Klebsiella sp* (Gram Negatif).

1) Media *Braint Heart Infussion Broth* (BHIB)

Braint Heart Infussion Broth (BHIB) adalah media penyubur yang berguna untuk pertumbuhan berbagai macam bakteri baik bentuk cair maupun agar. BHIB sendiri juga adalah media cair berupa kaldu yang kaya akan nitrogen, vitamin, dan *enzymatic digest gelatin* di dalam BHIB. Terdiri dari bahan utama yaitu jaringan hewan ditambah pepton, buffur, fosfat, dan sedikit

dekstrosa. Penambahan karbohidrat memungkinkan bakteri dapat menggunakan langsung sebagai sumber energi. Terjadinya kekeruhan pada media BHIB menandakan adanya pertumbuhan bakteri (Indrayati & Akma, 2018).

2) Media *Mac Conkey Agar* (MCA)

Mac Conkey Agar (MCA) adalah media selektif dan differensial yang digunakan untuk identifikasi dan isolasi mikroorganisme gram negatif. Serta tidak semua bakteri dapat tumbuh dengan baik sehingga media ini memiliki keuntungan dapat digunakan secara khusus untuk mengidentifikasi bakteri Gram negatif dan menghambat bakteri gram positif karena adanya garam empedu. Media MCA memilih bakteri gram negatif yang memfermentasikan laktosa karena media ini mengandung laktosa, garam empedu, dan *Neutral red*. Kemampuan bakteri memfermentasikan laktosa menyebabkan penurunan pH, sehingga mempermudah absorpsi *Neutral red* untuk mengubah koloni menjadi merah bata. Pada media *Mac Conkey Agar* Koloni bakteri *Klebsiella sp* dari famili *Enterobacteriaceae* dan genus *Pseudomonas* akan tampak besar, cembung, berwarna merah muda sampai merah bata, mefermentasikan laktosa, dan mukoid artinya jika dilihat melalui ose akan tampak seperti benang saat diambil (Kambuno dkk, 2017).



Gambar 3. *Klebsiella sp* pada MCA

(Sumber : Amelia, 2011).

5. Identifikasi Bakteri

Identifikasi tahap awal dilakukan dengan memeriksa uji morfologi dan fisiologis koloni bakteri. Uji morfologi dilakukan dengan pewarnaan gram menggunakan mikroskop, sedangkan uji fisiologis dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya pergerakan (motilitas) bakteri menggunakan media semi padat pada serangkaian uji biokimia termasuk uji katalase, uji fermentasi karbohidrat, sitrat, uji H₂S, uji Tsia, dan uji indol (Pratiwi, 2015).

a) Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram adalah jenis pewarnaan yang sering digunakan di laboratorium untuk tujuan membedakan bakteri gram negatif dan bakteri gram positif. Gentian violet, lugol, alkohol, dan safranin yang digunakan untuk membuat pewarnaan gram. Bakteri gram positif menyerap warna primer (gentian violet), sedangkan bakteri gram negatif menyerap warna sekunder (safranin). Pewarnaan Gram adalah metode paling sederhana dan paling hemat biaya untuk mendiagnosis infeksi bakteri. Keuntungan utamanya adalah yang paling sederhana dan paling murah. Prosedur ini secara signifikan lebih cepat mendiagnosis infeksi bakteri. Kerugian dari metode ini adalah hanya dapat menentukan ukuran dan bentuk bakteri serta struktur bakteri dengan menggunakan satu warna (Bulele dkk, 2019).

Reaksi pewarnaan gram didasari pada jumlah peptidoglikan yang ditemukan pada dinding sel bakteri. Bakteri gram positif memiliki banyak lapisan peptidoglikan yang menyebabkan dapat menahan molekul asam-teikoat. Asam teikoat adalah reseptor bakteriosin yang dihasilkan bakteri gram positif. Sedangkan bakteri gram negatif hanya memiliki satu peptidoglikan tanpa asam-teikoat (Jawetz, 2014).

b) Uji Biokimia

- Uji Biokimia Katalase

Uji katalase merupakan uji yang digunakan untuk membedakan spesies *Staphylococcus* sp dan *Streptococcus* sp. Katalase positif ditunjukkan adanya gelembung gas (O_2) yang diproduksi oleh genus *Staphylococcus* sp (Toella dan Novianti, 2014).

- Uji Tsia (*Triple Sugar Iron Agar*)

TSIA adalah media yang dapat mengidentifikasi bakteri berdasarkan karakteristik spesifik yang dimiliki bakteri dalam memfermentasikan gula. Media TSIA terdiri dari ferrosulfat (untuk mendeteksi pembentukan H_2S), ekstrak jaringan (substrat protein), 1% laktosa, 1% sukrosa, dan 0,1% glukosa (fenol merah). Zat tersebut dimasukkan kedalam tabung reaksi untuk menghasilkan agar miring dengan bagian pangkal yang dalam dan diinokulasi dengan menusukkan pertumbuhan bakteri ke bagian pangkal. Reaksi oleh *Klebsiella* sp pada TSIA adalah asam/asam yang memiliki warna kuning di bagian pangkal (butt) dan miring (slant) beberapa jam dan memiliki kemampuan untuk mendeteksi gas, tetapi tidak menghasilkan H_2S (Sari dkk, 2019).

- Uji Biokimia IMViC

Reaksi biokimia dari Enterobacteriaceae

Species	Indol	Methyl Red	Voges Proskauer	Citrat	TSIA	Fermentasi Glukosa	Fermentasi Sukrosa	Fermentasi Laktosa	Fermentasi Maltosa
<i>Escherichia coli</i>	+	+	-	-	-	+ / Gas	+	+	+
<i>Klebsiella</i> sp	-	-	+	+	-	+ / Gas	+	+	+
<i>Salmonella</i> sp	-	+	-	+	+	+ / Gas	-	-	+
<i>Shigella</i> sp	-	+	-	-	-	+	-	-	+
<i>Proteus mirabilis</i>	-	+	-	+	+	+ / Gas	+	-	+

Gambar 4. Reaksi Biokimia dari *Enterobacteriaceae*

(Sumber : Connie dkk, 2011).

a. Uji SIM

Uji indol atau media SIM (*Sulfide Indol Motility*) digunakan untuk melihat pergerakan suatu bakteri. Pertumbuhan bakteri akan menyebar menjauhi garis inokulasi dan terjadi migrasi (pergerakan) didalam media sehingga media menjadi keruh (turbid). Apabila terdapat gambaran awan pada garis tusukan maka dapat dikatakan positif untuk motilitas. Selain itu dapat diketahui pula produksi H₂S dengan terbentuknya berwarna hitam pada tabung (Mahon, 2015).

b. Uji Methyl Red

Uji *Methyl Red* (MR) digunakan untuk menentukan apakah glukosa dapat diubah menjadi produk asam seperti asam laktat, asam asetat, atau asam format. Medium yang digunakan untuk pengujian ini adalah medium MR-VP broth. Uji ini dilakukan dengan cara menginokulasikan masing isolat bakteri ke MR-VP broth lalu diinkubasi selama 24 jam. Setelah diinkubasi kemudian ditambahkan 3tetes methyl red pada masing-masing tabung reaksi lalu dihomogenkan. Hasil positif menunjukkan warna merah muda pada broth. Hasil negatif menunjukkan warna kuning (Arifin, 2018).

c. Uji Voges Proskauer

Uji *Voges-Proskauer* (VP) digunakan untuk menentukan apakah glukosa dapat diubah menjadi asetil metil karbinol. Medium yang digunakan untuk pengujian ini adalah medium MR-VP broth. Uji ini dilakukan dengan cara menginokulasi masing-masing isolat bakteri ke dalam medium MR-VP broth lalu diinkubasi selama 24 jam. Setelah diinkubasi kemudian ditambahkan 15 tetes reagen VP A (yang mengandung naphtol) dan ditambahkan 10 tetes reagen VP B (yang mengandung KOH), kemudian dikocok hingga homogen. Sebelum memastikan hasilnya, dibiarkan dahulu selama 15-20 menit agar bereaksi.

Reaksi positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna menjadi pink atau merah yang mengindikasikan adanya kehadiran aseton. Sedangkan reaksi negatif pada broth adalah tidak berubahnya warna medium atau menjadi warna tembaga (Arifin, 2018).

d. Uji Simmon's Citrate

Uji *Simmon's Citrate* dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri tersebut dapat mengonversi sitrat (salah satu senyawa antara dalam siklus *Kreb's*) menjadi oksaloasetat. Medium yang digunakan untuk pengujian ini adalah medium *Simmon sitrat* agar. Satu ose isolat murni digesekkan pada agar miring sitrat lalu diinkubasi selama 24-48 jam. Setelah inkubasi reaksi positif ditunjukkan dengan berubahnya warna hijau medium menjadi warna biru. Sedangkan reaksi negatif ditunjukkan dengan tidak terjadinya perubahan warna pada medium (tetap hijau) (Arifin, 2018).