

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Telah dilakukan penelitian Identifikasi bakteri *Streptococcus sp* ada penderita luka diabetes pada tanggal 14 mei s/d 30 mei 2023 di BLUD Rumah Sakit Bahteramas Kota Kendari dan pengolahan sampel di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medik Poltekkes Kemenkes Kendari.

1) Hasil Isolasi Bakteri *Streptococcus sp* Pada Luka Penderita Diabetes Pada Media *Brain-heart Infosion Broth*

Hasil penelitian diperoleh dari inokulasi pada media *Brain-heart Infosion Broth* (BHIB) sebagai media penyubur, media *Blood Agar Plate* (BAP) sebagai media selektif, pewarnaan gram untuk menentukan apakah bakteri gram positif atau bakteri gram negatif pada media TSIA dan uji katalase.

Pada penelitian terdapat 4 sampel pus (nanah) yang didapatkan dari 4 responden berbeda. Sampel berupa pus (nanah) luka diabetes tersebut terlebih dahulu dilakukan inokulasi pada media *Brain-heart infosion broth* (BHIB) untuk mengetahui adanya pertumbuhan koloni pada sampel tersebut:

Tabel 1. Hasil Inokulasi Pada Media *Brain-Heart Infosion Broth* (BHIB)

No.	Kode Sampel	Hasil Pertumbuhan Media BHIB
1	A.1	Positif (+) Terjadi Kekeruhan
2	A.2	Positif (+) Terjadi Kekeruhan
3	A.3	Positif (+) Terjadi Kekeruhan
4	A.4	Positif (+) Terjadi Kekeruhan

Sumber: (*Data Primer, 2023*)



Gambar 5.1 Hasil Inokulasi Media BHIB
Sumber: (Data Primer, 2023)

Berdasarkan hasil pengamatan diatas menunjukkan dari 4 sampel pus (nanah) luka diabetes yang diinokulasi pada media BHIB didapatkan hasil sebanyak 4 sampel positif yang menunjukkan bahwa adanya pertumbuhan koloni yang ditandai dengan terjadinya kekeruhan pada media BHIB dalam tabung reaksi.

2) Hasil Isolasi Bakteri *Streptococcus Sp* Pada Luka Diabetes Pada Media Selektif *Blood Agar Plate*

Dari hasil positif yang didapatkan dari inokulasi maka dilanjutkan isolasi koloni pada media selektif *Blood Agar Plate* (BAP) untuk mendapatkan hasil pertumbuhan koloni yang lebih spesifik. Adapun hasil pengamatan ditunjukkan pada tabel sebagai berikut:

Tabel 2. Hasil Pengamatan Pada Media *Blood Agar Plate* (BAP)

No.	Kode Sampel	Jumlah Hasil Positif (+) Pada Media BAP	Interpretasi Hasil Positif
1	A.1	Koloni Berwarna Putih Keabuan	Bakteri Gram Positif <i>Streptococcus sp</i>
2	A.2	Koloni Berwarna Putih Kekuningan	Bakteri Gram Positif <i>Staphylococcus sp</i>
3	A.3	Koloni Berwarna Putih Kekuningan	Bakteri Gram Positif <i>Staphylococcus sp</i>
4	A.4	Koloni Berwarna Putih Kekuningan	Bakteri Gram Positif <i>Staphylococcus sp</i>

Sumber: (Data Primer, 2023)



Gambar 5.2 Hasil Inokulasi Pada Media *Blood Agar Plate*
Sumber: (Data Primer, 2023)

Pengamatan pada media selektif BAP menunjukkan dari 4 sampel yang diisolasi pada media selektif hanya 1 sampel yang diduga menunjukkan adanya pertumbuhan koloni bakteri *Streptococcus sp* yang ditandai dengan ciri koloni berwarna putih keabuan dan adanya daerah hemolisa yang terbentuk pada media BAP.

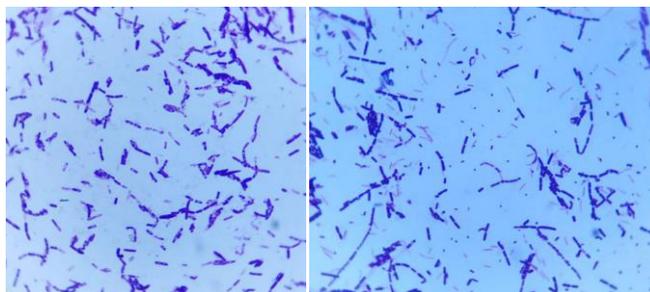
3) Hasil Identifikasi Bakteri *Streptococcus Sp* Pada Luka Penderita Diabetes Pada Pewarnaan Gram

Koloni yang tumbuh pada media BAP dilanjutkan dengan pemeriksaan dibawah mikroskop dengan pewarnaan gram untuk mengetahui lebih pasti morfologi dan jenis gram pada koloni tersebut. Adapun hasil pengamatan disajikan pada tabel sebagai berikut :

Tabel 3. Hasil Pengamatan Mikroskop Pada Pewarnaan Gram

No.	Kode Sampel	Hasil Pemeriksaan
1	A.1	Berwarna Ungu dan Coccus Berantai

Sumber: (Data Primer, 2023)



Gambar 5.3 Pengamatan Mikroskop Pada Pewarnaan Gram
Sumber: (Data Primer, 2023)

Hasil pengamatan yang dilakukan dengan mikroskop pada pewarnaan gram ditemukan dengan morfologi yang diduga merupakan bakteri berjenis *Streptococcus sp* dengan bentuk kokus yang berantai.

4) Hasil Identifikasi Bakteri *Streptococcus Sp* Pada Luka Penderita Diabetes Pada Uji Biokimia *Triple Sugar Iron Agar*

Sebagai penguat untuk identifikasi bakteri pada penelitian ini maka dilakukan uji biokimia TSIA untuk mengetahui sifat fisiologis dari koloni yang telah diisolasi. Hasil pengamatan pada uji biokimia dapat dilihat pada tabel sebagai berikut:

Tabel 4. Hasil Uji Biokimia Pada Media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA)

No.	Kode Sampel	Jumlah Hasil Positif (+) Pada Media TSIA	Interpretasi Hasil
1	A.1	Slant: Alkali (Merah) Butt: Asam/Acid (Kuning) H ₂ S: Positif (+) O ₂ : Positif (+)	(K) (burr) berwarna kuning (A), H ₂ S positif dan O ₂ positif ditemukan <i>Streptococcus sp</i>

Sumber: (Data Primer, 2023)



Gambar 5.4 Hasil Uji Biokimia Pada Media TSIA

Sumber: (Data Primer, 2023)

Pada tabel 4 dan gambar 4 menunjukkan perubahan terhadap media yang membentuk alkali pada slant (lereng) dan acid pada butt (dasar) media yang menandakan adanya perubahan kimia atau proses fermentasi karbohidrat berupa glukosa. Selain itu, terdapat kandungan H₂S yang

berwarna hitam dan kandungan gas karena adanya pembentukan metal sulfide pada media TSIA.

5) Hasil Identifikasi Bakteri *Streptococcus Sp* Pada Luka Penderita Diabetes Pada Uji Katalase

Untuk mengetahui sifat fisiologis koloni tersebut maka dilakukan uji katalase pada penelitian ini untuk mengetahui kemampuan koloni bakteri dalam memproduksi katalase dengan menggunakan H₂O₂. Adapun hasil pengamatan dapat dilihat sebagai berikut:



Gambar 5. Hasil Pengamatan Pada Uji Katalase
Sumber: (Data Primer, 2023)

Tabel 5. Hasil Pengamatan Pada Uji Katalase

No.	Kode Sampel	Hasil Pemeriksaan	Interpretasi Hasil
1	A.1	Tidak Terbentuk Gelembung	<i>Streptococcus sp</i>

Sumber: (Data Primer, 2023)

Pada tabel 5 dan gambar 5 di atas menunjukkan hasil pengamatan berupa tidak adanya pembentukan gelembung pada saat koloni ditetesi dengan reagen H₂O₂, koloni tersebut tidak mengandung enzim katalase atau negatif dengan dugaan koloni tersebut merupakan bakteri jenis *Streptococcus sp*.

B. Pembahasan

Pemeriksaan bakteri *Streptococcus sp* pada penderita luka diabetes dilakukan pada 4 sampel yang diambil dari salah satu rumah sakit yang ada di kota kendari. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui adanya bakteri

Streptococcus sp pada penderita luka diabetes. Pada penelitian ini hasil yang didapatkan berdasarkan dari pertumbuhan bakteri pada media penyubur *Brain-heart Infusion Broth* (BHIB) dan media selektif *Blood Agar Plate* (BAP) serta pengamatan pada mikroskop dan uji biokimia.

a) Isolasi Bakteri *Streptococcus sp* Pada Luka Diabetes Menggunakan Media Penyubur *Brain-heart Infusion Broth* (BHIB)

Dari pengamatan pada media *Brain-heart Infusion Broth* (BHIB) menunjukkan bahwa 4 sampel hasil yang positif. Pengujian diawali dengan inokulasi sampel pada media *Brain-heart Infusion Broth* (BHIB) yang kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, adanya kekeruhan menandakan bahwa terjadi pertumbuhan koloni pada media tersebut. Media cair *Brain-heart Infusion Broth* (BHIB) digunakan sebagai media penyubur pada pertumbuhan bakteri dikarenakan mengandung karbohidrat dan protein yang dapat dijadikan sebagai sumber energi bagi bakteri. Dengan terjadinya kekeruhan pada media BHIB belum dapat diketahui secara pasti jenis bakteri yang tumbuh pada media tersebut.

b) Isolasi Bakteri *Streptococcus sp* Pada Luka Diabetes Menggunakan Media Media *Blood Agar Plate* (BAP)

Isolat bakteri yang tumbuh pada media BHIB diisolasi ke media selektif *Blood Agar Plate* (BAP) untuk mengklasifikasikan sekelompok bakteri tersebut. Pada isolasi koloni di media selektif dari 4 sampel yang diperiksa 1 sampel diantaranya yang menunjukkan pertumbuhan koloni dari bakteri *Streptococcus sp* setelah inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C dan 3 sampel menunjukkan pertumbuhan koloni dari bakteri *Staphylococcus sp* di Media *Blood Agar Plate* (BAP) dijadikan sebagai media selektif dikarenakan media ini mengandung darah yang dapat membantu pertumbuhan bakteri patogen seperti *Streptococcus sp* karena merupakan bakteri hemolitik. Menurut Mudatsir (2010) *Streptococcus sp* menghasilkan hemolisin yaitu suatu produk ekstraseluler yang mampu melisis eritrosit secara sempurna. Merujuk pada pernyataan tersebut maka dapat dikatakan terbentuknya beta hemolisis pada media BAP dikarenakan adanya bakteri

jenis *Streptococcus sp* yang tumbuh pada media tersebut yang mampu melisiskan eritrosit secara sempurna.

c) Hasil Identifikasi Bakteri *Streptococcus Sp* Pada Luka Penderita Diabetes Pada Pewarnaan Gram

Berdasarkan pertumbuhan koloni pada media *Blood Agar Plate* (BAP), selanjutnya dilakukan pengamatan mikroskop dengan pembesaran 100x pada pewarnaan gram untuk mengetahui morfologi dari bakteri *Streptococcus sp*. Dari hasil pengamatan terdapat 1 sampel menunjukkan morfologi berbentuk kokus berantai dan berwarna ungu yang merupakan bakteri gram positif dimana bakteri tersebut mempertahankan zat warna dari gentian violet pada saat proses pewarnaan gram. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Suardana dkk (2021) mengenai Identifikasi Spesies *Streptokokkus β*-Hemolisis Hasil Isolasi dari Nasal dan Tonsil Babi dengan Uji Basitrasin, dimana diperoleh hasil pewarnaan gram pada isolat menunjukkan bakteri berbentuk kokus berantai dan dapat mempertahankan warna ungu.

d) Hasil Identifikasi Bakteri *Streptococcus Sp* Pada Luka Penderita Diabetes Pada Uji Biokimia Pada Media *Tripel Sugar Iron Agar* (TSIA)

Selanjutnya dilakukan pemeriksaan pada uji biokimia untuk mengetahui sifat-sifat fisiologis koloni dari hasil isolasi. Uji biokimia yang dilakukan pada penelitian ini adalah *Tripel Sugar Iron Agar* (TSIA) dan uji katalase. Sesuai dengan hasil pengamatan uji TSIA pada bakteri *Streptococcus sp* menunjukkan alkali pada slant (lereng) dan acid pada butt (dasar) dengan positif H₂S dan positif gas setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C. Warna kuning atau acid pada bagian butt media dan berwarna merah pada slant dikarenakan bakteri hanya dapat memfermentasi glukosa yang berarti pada uji biokimia koloni *Streptococcus sp* berupa Alkali/Acid (K/A). Terbentuknya H₂S yang berwarna hitam atau terjadi kehitaman karena adanya pembentukan metal sulfide yang berarti kemampuan koloni dalam mengubah asam amino alanine dan H₂S. Sesuai pernyataan Leboffe (2011) bahwa gas positif yang muncul sebagai celah di

media atau mengangkat agar media dari dasar tabung dikarenakan gas yang dihasilkan oleh fermentasi karbohidrat.

e) Hasil Identifikasi Bakteri *Streptococcus Sp* Pada Luka Penderita Diabetes Pada Uji Katalase

Uji katalase berfungsi untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memproduksi enzim katalase. Pada hasil yang didapat pada pengamatan uji katalase koloni yang diletakkan pada kaca objek terlihat tidak terbentuknya gelembung gas pada koloni pada saat ditetesi reagen H₂O₂. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Jawetz (2012) bahwa bakteri *Streptococcus sp* akan negatif atau tidak terjadi gelembung gas pada uji katalase.

Terdapatnya bakteri *Streptococcus sp* pada pus (nanah) pada luka diabetes mengindikasikan bahwa adanya pengaruh infeksi bakteri pada luka diabetes. Ditemukannya bakteri yang merupakan jenis *Streptococcus sp* sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Harianti (2018) yang menemukan adanya pertumbuhan koloni dengan bentuk kokus dan gram positif. Selain itu, menurut Kumar (2013) salah satu bakteri penghasil pus (nanah) yang paling sering ditemukan adalah *Streptococcus sp*.

f) Proses masuknya bakteri *Streptococcus sp* kedalam luka diabetes

Penderita diabetes melitus sangat mudah mengalami penebalan dan penyempitan pembuluh darah menjadi tersumbat. Buruknya sirkulasi jaringan akan menyebabkan kelainan hipoksia dan cedera pada jaringan sekaligus merangsang reaksi peradangan sehingga terjadi aterosklerosis yaitu sirkulasi jaringan menurun, kaki menjadi atrofi, dingin dan kuku menebal. Kelainan selanjutnya terjadi nekrosis jaringan sehingga timbul ulkus diabetik yang biasanya dimulai dari ujung kaki atau tungkai. Luka diabetik merupakan komplikasi dari diabetes melitus yang rentan mengalami infeksi akibat invasi bakteri dan kondisi tingginya kadar gula darah akan menyebabkan respon imunitas menjadi lambat saat tubuh terpapar bakteri sekaligus menjadi sumber bahan makanan untuk pertumbuhan perkembangan bakteri tersebut (Hardiani, dkk 2016). Luka penderita diabetes dapat terkena jika mempunyai pekerjaan lebih berat di

area rentan terkena sinar matahari dan kondisi lembab. Ulkus diabetik akan semakin parah jika terjadi infeksi bakteri. Adanya infeksi bakteri pada ulkus diabetikum karena dipengaruhi oleh berbagai hal misalnya penggunaan sanitasi air yang kurang baik atau bersih, pemakaian pakaian yang kurang higienis, adanya aktivitas pekerjaan yang berat selama terkena luka, pengobatan yang tidak teratur, tidak memakai alas kaki. Sering kali pada penderita diabetes mengalami mati rasa sehingga ketika terjadi luka maka luka akan terus terbuka terus, adanya luka menyebabkan bakteri gampang masuk. Meski sel leukosit seperti neutrofil atau makrofag menjadi pertahanan tubuh untuk memakan bakteri yang masuk dalam luka namun karena bakteri bereplikasi dengan cepat dan banyaknya bakteri yang masuk membuat makrofag tidak mampu memakan semua bakteri sehingga bakteri tersebut merusak sel leukosit dengan cara dilepas hingga membentuk nanah pada jaringan tubuh yang mengalami luka diabetes (Anggriawan, 2014).

Hasil dari observasi peneliti pada ke empat responden sebelum menderita Dm sering mengkonsumsi makanan yang manis-manis setelah didiagnosa dm sudah melakukan diet rendah gula sesuai dengan teori, kepatuhan diet DM merupakan upaya yang sangat penting dalam pengendalian kadar glukosa darah, kolesterol, dan trigliserida mendekati normal sehingga dapat mencegah komplikasi kronik, seperti ulkus diabetik. Serta pada lama menderita luka diabetes pada ke empat responden lama menderita lebih dari 1 tahun. Lama menderita DM 0-5 tahun ini termasuk beresiko karena di fase awal terkena DM pasien belum sepenuhnya menjaga pola makan, pola diet dan bahkan belum juga rajin kontrol dalam pengobatan penyakit diabetes (Kholik, 2022). Oleh karena itu, dengan ditemukannya 1 sampel pus (nanah) yang positif bakteri dengan berjenis *Streptococcus sp*, peneliti berasumsi bahwa dengan luka diabetes dapat juga diperburuk dengan aktivitas bakteri yang dapat menginfeksi kulit dan menyebabkan terjadinya inflamasi.