

KAPASITAS PEMBENTUKAN BIOFILM DAN POLA KEPEKAAN ANTIBIOTIK DARI MIKROORGANISME PADA KATETER URIN PASIEN STROKE DI RUMAH SAKIT BETHESDA, YOGYAKARTA

Diterima: 13-06-2019 • Disetujui: 18-12-2019

<http://dx.doi.org/10.21460/bikdw.v4i2.146>

Christofer Satya Wijaya Budi Sarwono¹, Maria Silvia Merry¹,
Johana Puspa Dwi Pratiwi¹, Sugianto Adisaputro^{1,2}

¹Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Duta Wacana

²Departemen Neurologi Rumah Sakit Bethesda

Korespondensi: christofer.ito@gmail.com

ABSTRAK

Latar Belakang: Resistensi antibiotik adalah tantangan dalam mengatasi penyakit infeksi, terutama melalui mekanisme pembentukan biofilm. Biofilm dapat terbentuk pada kateter urin, di mana pasien stroke dengan masalah saluran kemih memiliki risiko tinggi mengalami infeksi terkait kateter dan resistensi antibiotik.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mendeskripsikan jenis mikroorganisme pada spesimen kateter uretra serta mengukur kepekaan terhadap antibiotik dan kapasitas pembentukan biofilm, khususnya pada pasien stroke di Rumah Sakit Bethesda, Yogyakarta.

Metode: Penelitian ini menggunakan rancangan potong lintang pada spesimen pasien stroke di RS Bethesda periode Desember 2018-Januari 2019. Mikroorganisme dideteksi dengan metode standar, pola kepekaan antibiotik menggunakan cakram antibiotik pada media MHA, dan pembentukan biofilm menggunakan metode *tissue culture plate*. Seluruh percobaan dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi FK UKDW.

Hasil: Tiga puluh dua jenis mikroorganisme berhasil diisolasi dari 30 spesimen kateter urin (63.3% laki-laki, 36.3% perempuan). Dari isolat tersebut didapatkan 76% tidak mampu membentuk biofilm, 15% pembentuk biofilm sedang, dan 9% pembentuk biofilm kuat. Pada uji kepekaan antibiotik didapatkan resistensi antibiotik 100% pada Ampisilin-sulbactam, Tetracyclin, Ketokonazole, Itrakonazole, dan Terbinafine. Sekitar 50% isolat *Escherichia coli* merupakan *multidrug-resistant* (MDR), 57% isolat *Klebsiella pneumoniae* MDR dan 75% isolat *Acinetobacter baumanii* mengalami *extensively drug resistant* (XDR).

Kesimpulan: Mikroorganisme yang diisolasi dari kateter uretra pasien stroke di RS Bethesda, Yogyakarta sebagian besar terdiri dari *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* dan *Acinetobacter baumanii*. Beberapa mikroorganisme mampu membentuk biofilm kuat, dan beberapa antibiotik sudah tidak dapat digunakan karena mengalami resistansi 100% terhadap seluruh spesimen.

Kata Kunci: biofilm, kepekaan antibiotik, stroke, kateter uretra

BIOFILM FORMATION AND ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY OF STROKE PATIENT'S URINARY CATHETER ISOLATES AT BETHESDA HOSPITAL, YOGYAKARTA

Received: 13-06-2019 • Accepted: 18-12-2019

<http://dx.doi.org/10.21460/bikdw.v4i2.146>

Christofer Satya Wijaya Budi Sarwono¹, Maria Silvia Merry¹, Johana Puspa Dwi Pratiwi¹, Sugianto Adisaputro^{1,2}

¹Faculty of Medicine Universitas Kristen Duta Wacana

²Neurology Department Bethesda Hospital

Correspondence: christofer.ito@gmail.com

ABSTRACT

Background: Antibiotic resistance currently challenges infectious disease management, specifically in combating biofilm formation. Biofilm might be developed on urinary catheter, in which stroke patients with urinary tract problem have higher risk of catheter associated urinary tract infection and problems related to antibiotic resistance.

Aim: This study describes the microbe types from catheter isolates, measuring the antibiotic susceptibility and biofilm formation, especially in stroke patients at Bethesda Hospital, Yogyakarta.

Method: This is a cross-sectional study, describing findings of specimens from stroke patients at Bethesda Hospital, since December 2018 to January 2019. The isolates were identified with standard method, the antibiotic susceptibility were tested with antibiotic disc on MHA medium, and the biofilm formation were assessed using tissue culture plate method. All procedure were done in Microbiology Laboratorium, FK UKDW.

Result: Thirty three microbes were isolated from 30 specimens of urinary catheter (63,3% male, 36,3% female). There is 76% isolates incapable of developing biofilm, while 15% is moderate biofilm producer and 9% is strong biofilm producer. The susceptibility test showed 100% resistancy of ampicillin-sulbactam, tetracyclin, ketoconazole, itraconazole, and terbinafine. Around 50% of *Eschericia coli* and 57% of *Klebsiella pneumoniae* isolates is MDR, and 75% of *Acinetobacter baumanii* is XDR.

Conclusion: Isolated microbes from urinary catheter of stroke patients at Bethesda Hospital is dominated by *Eschericia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Acinetobacter baumanii*. Some of the microbes could form strong biofilm, and some of the antibiotics could not be used in the future due to their 100% resistancy on all specimens.

Keywords: biofilms, microbial drug resistance, stroke, indwelling urethral catheter

PENDAHULUAN

Pada beberapa tahun terakhir, penatalaksanaan infeksi semakin dipersulit dengan adanya resistansi antimikroba yang dipengaruhi oleh penggunaan antibiotik secara irasional atau tidak sesuai indikasi.^{1,2,3} Salah satu mekanisme resistansi antibiotik adalah pembentukan biofilm, yaitu matriks *extracellular polymeric substance* (EPS) yang membentengi mikroorganisme dari antimikroba.^{2,4} Salah satu populasi pasien yang rentan terhadap resistansi antimikroba, khususnya pembentukan biofilm, adalah pengguna kateter uretra. Selain dari risiko terkena saluran kemih, populasi tersebut juga berisiko terinfeksi mikroorganisme resisten antimikroba, terutama pada penggunaan lebih dari 24 – 48 jam.⁵ Rumah Sakit Bethesda, Yogyakarta, memiliki pusat penatalaksanaan stroke yang dilayani spesialis saraf berkompeten. Pasien stroke di unit tersebut merupakan bagian dari populasi pasien pengguna kateter uretra yang berisiko mengalami *catheter-associated urinary tract infection* (CAUTI) dan infeksi mikroorganisme resisten obat. Pada penelitian ini, peneliti mendeskripsi-kan jenis mikroorganisme dari spesimen kateter uretra, serta mendeteksi resistansi antibiotik dan kapasitas pembentukan biofilm dari mikroorganisme yang ditemukan pada pasien stroke di unit stroke RS Bethesda, Yogyakarta.

METODE PENELITIAN

Desain Eksperimen

Penelitian ini menggunakan desain potong lintang untuk mendeskripsikan pola kepekaan antibiotik dan kapasitas pembentukan biofilm pada spesimen kateter uretra pasien stroke di RS

Bethesda, Yogyakarta dalam periode Desember 2018 hingga Januari 2019. RS Bethesda adalah rumah sakit tipe B dengan unit stroke yang sudah melayani pasien sejak 1997. Spesimen diambil dari kateter yang sudah terpasang selama 3-14 hari. Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan komisi etik penelitian kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Duta Wacana dengan nomor 808/C.16/FK/2018.

Metode pembiakan dan identifikasi mikroorganisme

Seluruh percobaan dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi FK UKDW. Spesimen dibiakkan menggunakan agar darah dan agar MacConkey yang dibuat sendiri, dengan proses inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Identifikasi mikroorganisme didasarkan pada pemeriksaan spesimen menggunakan pengecatan Gram, uji katalase (dengan larutan H₂O₂ 3%), uji koagulase (dengan perangkat Staphaurex™ [ThermoFisher Scientific, AS]), dan identifikasi mikroorganisme Gram negatif (dengan perangkat API® 20E [bioMerieux, AS]).

Metode pengujian kepekaan antibiotik dan identifikasi pembentukan biofilm

Uji pola kepekaan antibiotik dilakukan menggunakan 23 cakram antibiotik dan 4 cakram antimikotik pada biakan agar Mueller Hinton (MHA) dengan inkubasi pada suhu 35°C selama 18-24 jam. Pengukuran zona hambatan dilakukan manual dengan menggunakan pedoman CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*)⁶, serta identifikasi *multi drug-resistant*, *extensively drug-resistant* dan *pan drug-resistant* berdasarkan kriteria dari *European Center for Disease Control* (ECDC) dan *Centre for Disease Control and Prevention* (CDC), AS.^{7,8}

Tabel 1. Interpretasi kapasitas pembentukan biofilm¹⁰

Rerata Nilai OD	Produksi Biofilm
≤ ODc / ODc < ~ ≤ 2x ODc	Tidak ada/lemah
2x ODc < ~ ≤ 4x ODc	Sedang
> 4x ODc	Kuat

Identifikasi pembentukan biofilm dilakukan dengan metode *tissue culture plate*.⁹ Inokulasi dilakukan pada *trypticase soy broth*, kemudian dilanjutkan dengan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, dan diletakkan pada sumur polistiren. Biofilm yang terbentuk difiksasi menggunakan asam isopropanol 5% dan diwarnai dengan violet kristal 0,1%. *Optical density (OD)* diukur menggunakan mesin pembaca pada panjang gelombang 595 nm. Peneliti menggunakan kriteria kuantitatif yang dijelaskan Stepanovic et al. untuk mengidentifikasi biofilm (Tabel 1).¹⁰ Seluruh data diolah secara deskriptif menggunakan Microsoft Excel (Microsoft Inc., AS).

HASIL PENELITIAN

Peneliti mendapatkan spesimen kateter uretra dari 30 pasien stroke, terdiri dari 19 (63,3%) laki-laki dan 11 (36,3%) perempuan. Di antara 30 pasien, terdapat 10,6% pasien dengan diabetes, 23,1% dengan hipertensi, dan 56,7% mendapatkan terapi antibiotik.

Jenis Mikroorganisme

Dari seluruh spesimen, peneliti berhasil mengisolasi 33 jenis mikroorganisme. Jenis mikroorganisme dengan jumlah terbanyak adalah *Escherichia coli* (22%), *Klebsiella pneumoniae* (19%), *Acinetobacter baumanii* (11%), *Staphylococcus epidermidis* (8%), *Pseudomonas aeruginosa* (8%), *Enterococcus spp.* (6%), *Staphylococcus epidermidis* (3%), *Staphylococcus aureus* (3%), *Enterobacter aerogenes* (3%),

Enterobacter cloacae (3%), *Klebsiella oxytoca* (3%), *Providencia stuartii* (3%), *Candida albicans* (3%), *Candida krusei* (3%), dan *Candida spp.* (3%).

Pola Kepekaan Antibiotik

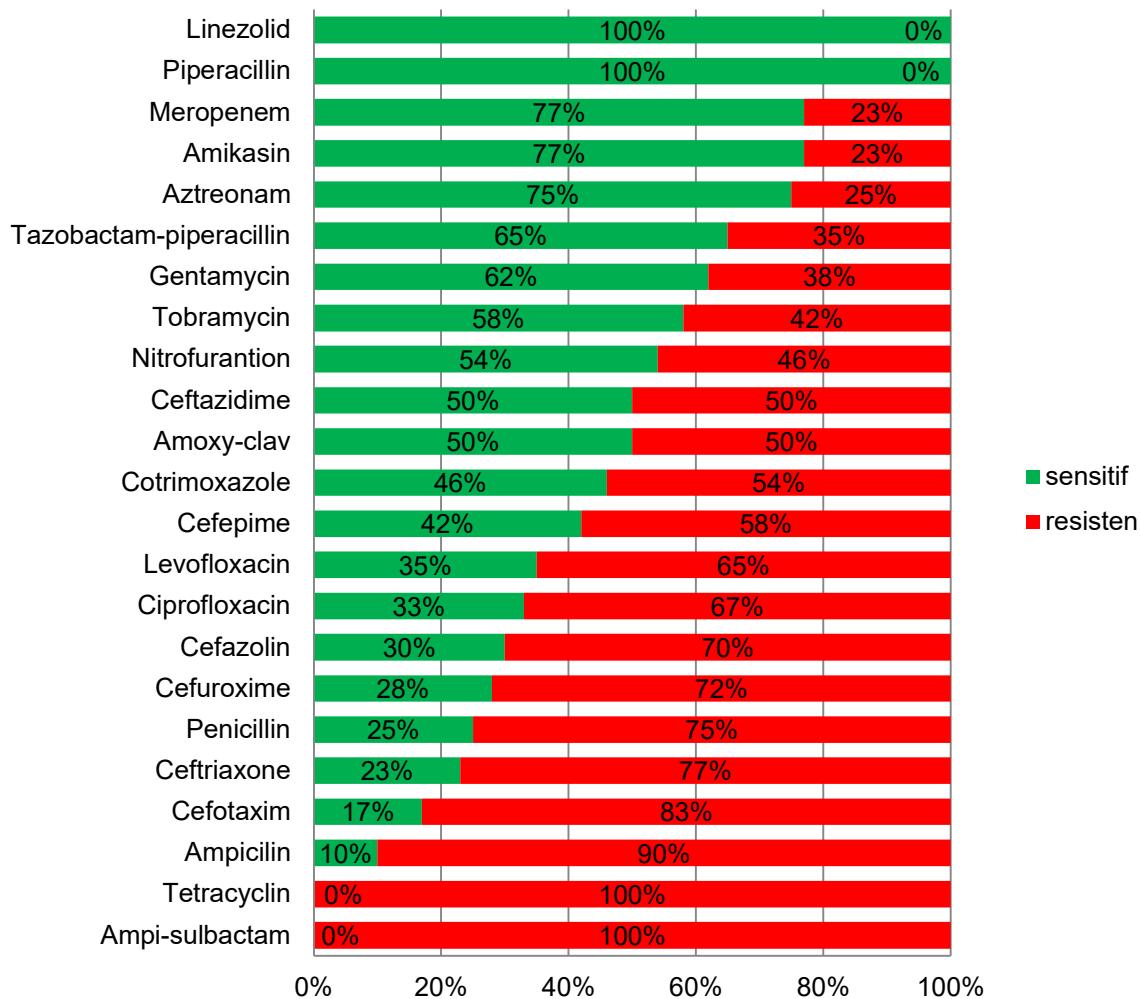
Berdasarkan hasil uji kepekaan antibiotik didapatkan bahwa isolat *Escherichia coli* mengalami resistensi Ampicilin (100%), Cefazolin (50%), Cefuroxime (50%), Cefriaxone (50%), Ciprofloxacin (50%), Levofloxacin (50%), Cotrimoxazole (50%), Cefepime (25%), Gentamycin (13%), Tobramycin (13%), dan Amoxicillin-clavulanat (13%). Sedangkan, isolate *Klebsiella pneumoniae* memiliki resistensi Ampicilin (100%), Cefazolin (50%), Cefuroxime (100%), Cefepime (100%), Cefriaxone (100%), Ciprofloxacin (100%), Cotrimoxazole (100%), Amoxicillin-clavulanat (86%), Levofloxacin (86%), Nitrofurantoin (71%), Tobramycin (57%), Gentamycin (43%), Tazobactam-piperacillin (43%), Amikasin (14%), dan Meropenem (14%). Isolat *Acinetobacter baumanii* menunjukkan resistansi antibiotik Gentamycin (100%), Tobramycin (100%), Tazobactam-Piperacillin (100%), Cefepime (100%), Cefriaxone (100%), Ciprofloxacin (100%), Levofloxacin (100%), Meropenem (100%), Nitrofurantoin (100%), Ceftazidime (100%), Amikasin (75%), dan Cotrimoxazole (25%). Gambar 1. (a) dan 1. (b) menunjukkan persentase mikroorganisme yang mengalami resistensi pada setiap antibiotik dan antifungal.

Berdasarkan kriteria resistansi multipel yang ditetapkan, didapatkan bahwa *Escherichia coli* yang mengalami *multidrug-resistant* (MDR) sebanyak 50%, *Klebsiella pneumonia* yang MDR (57%), *extensively drug-resistant* (XDR) (29%), *pandrug-resistant* (PDR) (14%), serta

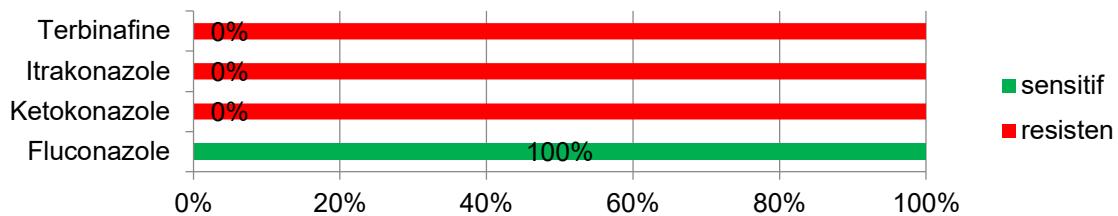
Acinetobacter baumanii yang mengalami XDR (75%), PDR (25%).

Kapasitas Pembentukan Biofilm

Dari 33 mikroorganisme, ditemukan 25 (76%) tidak mampu membentuk biofilm, 5 (15%) membentuk biofilm lemah, dan 3 (9%) membentuk biofilm kuat.



Gambar 1. (a) Pola kepekaan dan resistensi mikroorganisme terhadap antibiotik pada spesimen kateter uretra pasien stroke di RS Bethesda (n=30).



Gambar 1. (b) Pola kepekaan dan resistensi mikroorganisme terhadap antimikotik pada spesimen kateter uretra pasien stroke di RS Bethesda (n=30).

PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini menunjukkan tiga jenis mikroorganisme terbanyak adalah *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* dan *Acinetobacter baumanii*. Dari ketiga mikro-organisme tersebut hanya *Klebsiella pneumoniae* dan *Acinetobacter baumanii* yang mampu membentuk biofilm. Sekitar 43% dari *Klebsiella pneumoniae* dan 25% dari *Acinetobacter baumanii* dapat membentuk biofilm lemah. Selain itu, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Candida spp.* mampu membentuk biofilm.

Klebsiella pneumoniae merupakan bakteri gram negatif terbanyak kedua yang sering ditemukan sebagai penyebab infeksi nosokomial maupun bakteremia,

Semua spesimen *Candida* pada penelitian ini mampu membentuk biofilm kuat. Kemampuan pembentukan biofilm pada *Candida* berhubungan dengan profil genetik yang mempermudah pembentukan matriks ekstraseluler. Selain itu,

terutama pada pasien imuno-kompromais. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *Klebsiella pneumoniae* dapat membentuk biofilm kuat. Sintesis biofilm pada *K. pneumoniae* dapat dipengaruhi oleh adanya gen *wcaG* yang berfungsi dalam sintesis mukosa kapsul dan meningkatkan kapasitas bakteri untuk menghindari fagositosis makrofag.^{2,11}

Acinetobacter baumanii merupakan salah satu bakteri opportunistik yang sering menyebabkan infeksi nosokomial, dan sulit diatasi oleh karena tingkat resistansi yang tinggi melalui pembentukan biofilm.¹² Kemampuan pembentukan biofilm dari *A. baumanii* berkisar dari 49% hingga 63%.¹³

Candida sering ditemukan sebagai koinfeksi dengan mikroorganisme lain, dimana koinfeksi ini dapat meningkatkan virulensi dan kemampuan pembentukan biofilm.^{14,15}

Tabel 2. Perbandingan Tingkat Sensitifitas Antibiotik Lini I CAUTI dengan Tingkat Sensitifitas Antibiotik lainnya Berdasarkan Uji Kepakaan Antibiotik

Bakteri	Tingkat sensitifitas Antibiotik berdasarkan Uji Kepakaan Antibiotik				
	Antibiotik untuk lini I CIAUTI		Kontrim okszol	Antibiotik lainnya	
	Fluorokuinolin	Jenis Antibiotik		Presentase Sensitifitas	
	Levofloksasin	Ciprofloksasin			
<i>Escherichia coli</i>	50%	50%	50%	<i>Nitrofurantoin</i> <i>Meropenem</i> <i>Tazobactam-piperacillin</i> <i>Amikasin</i> <i>Amoxy-clav</i> <i>Tobramisin</i> <i>Gentamisin</i> <i>Cefepim</i>	100% 100% 100% 100% 85% 85% 85% 75%
<i>Klebisella pneumonia</i>	24%	0%	0%	<i>Amikasin</i> <i>Meropenem</i> <i>Gentamisin</i> <i>Tazobactam-piperacillin</i>	86% 86% 57% 57%
<i>Acinetobacter baumanii</i>	0%	0%	75%		

Tatalaksana lini pertama dari infeksi saluran kemih biasanya menggunakan kotrimoksasol dan fluoroquinolone. Akan tetapi, berdasarkan hasil penelitian ini, 50% spesimen *Escherichia coli* sebagai penyebab prevalen sudah resisten terhadap ciprofloxacin, levofloxacin, dan cotrimoxazole. Selain itu, semua spesimen *Klebsiella pneumoniae* sudah resisten terhadap ciprofloxacin dan cotrimoxazole. Kondisi serupa konsisten dengan penelitian terdahulu.¹³ Situasi ini tentu semakin mempersulit penanganan infeksi saluran kemih pada pengguna kateter. Walaupun begitu, beberapa golongan antibiotik dapat dijadikan alternatif karena memiliki sensitifitas di atas 50% (Tabel 2).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, ditemukan bahwa mikroorganisme yang diisolasi dari kateter uretra pasien stroke di RS Bethesda, Yogyakarta sebagian besar terdiri dari *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* dan *Acinetobacter baumanii*. Beberapa mikroorganisme mampu membentuk biofilm kuat, dan beberapa antibiotik sudah tidak dapat digunakan karena mengalami resistansi 100% terhadap seluruh spesimen. Penemuan pada penelitian ini diharapkan dapat memberi masukan terhadap penatalaksanaan infeksi saluran kemih terkait kateter, dan meningkatkan upaya pencegahan resistansi antimikroba.

DAFTAR PUSTAKA

1. Menteri Kesehatan Republik Indonesia. Pedoman umum penggunaan antibiotik. Dalam: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, ed. 2406/MENKES/PER/XII/2011. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2011.
2. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15(2):167-193.
3. Sengupta S, Chattopadhyay MK. Antibiotic resistance of bacteria: A global challenge. *Resonance*. 2012;17(2):177-191.
4. Gunardi, Devita W. Peranan biofilm dalam kaitannya dengan penyakit infeksi. *Jurnal Kedokteran Meditek*. 2007;15(39A).
5. Balasubramanian A, Chairman K, Singh AJAR, Alagumuthu G. Isolation and identification of microbes from biofilm of Urinary catheters and antimicrobial Susceptibility evaluation. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2012;2(3, Supplement):S1780-S1783.
6. Bueno J. Anti-Biofilm Drug Susceptibility Testing Methods: Looking for New Strategies against Resistance Mechanism. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*. 2011;s3.
7. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. *Prosedur pemeriksaan bakteriologi klinik*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2014.
8. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18(3):268-281.
9. Christensen GD, Simpson WA, Younger JJ, et al. Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *J Clin Microbiol*. 1985;22(6):996-1006.

10. Stepanović S, Vuković D, Hola V, et al. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS*. 2007;115(8):891-899.
11. Zheng J-X, Lin Z-W, Chen C, et al. Biofilm Formation in *Klebsiella pneumoniae* Bacteremia Strains Was Found to be Associated with CC23 and the Presence of wcaG. *Front Cell Infect Microbiol*. 2018;8:21-21.
12. Longo F, Vuotto C, Donelli G. Biofilm formation in *Acinetobacter baumannii*. *New Microbiol*. 2014;37(2):119-127.
13. Hassan A, Usman J, Kaleem F, Omair M, Khalid A, Iqbal M. Evaluation of different detection methods of biofilm formation in the clinical isolates. *Braz J Infect Dis*. 2011;15(4):305-311.
14. Gulati M, Nobile CJ. *Candida albicans* biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms. *Microbes Infect*. 2016;18(5):310-321.
15. Derakhshan S, Najar Peerayeh S, Bakhshi B. Association Between Presence of Virulence Genes and Antibiotic Resistance in Clinical *Klebsiella pneumoniae* Isolates. *Lab Med*. 2016;47(4):306-311.