



**UNIVERSITAS
INDONESIA**

Veritas, Probitas, Iustitia

UNIVERSITAS INDONESIA

**PEMERIKSAAN KELAYAKAN SPUTUM MENGGUNAKAN
TIGA JENIS KRITERIA DAN KESESUAIANNYA DENGAN
PEMERIKSAAN DETEKSI BAKTERI PENYEBAB
PNEUMONIA KOMUNITAS**

TESIS

**ADE DHARMAWAN
1306492313**

**FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS INDONESIA
PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS
MIKROBIOLOGI KLINIK
JAKARTA
JULI 2017**



**UNIVERSITAS
INDONESIA**

Veritas, Probitas, Iustitia

UNIVERSITAS INDONESIA

**PEMERIKSAAN KELAYAKAN SPUTUM MENGGUNAKAN
TIGA JENIS KRITERIA DAN KESESUAIANNYA DENGAN
PEMERIKSAAN DETEKSI BAKTERI PENYEBAB
PNEUMONIA KOMUNITAS**

TESIS

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Spesialis
Mikrobiologi Klinik**

**ADE DHARMAWAN
1306492313**

**FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS INDONESIA
PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS
MIKROBIOLOGI KLINIK
JAKARTA
JULI 2017**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Tesis ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Ade Dharmawan

NPM : 1306492313

Tanda Tangan : 

Tanggal : 5 Juli 2017

HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh

Nama : dr. Ade Dharmawan

NPM : 1306492313

Program Studi : Pendidikan Dokter Spesialis Mikrobiologi Klinik

Judul Tesis : Pemeriksaan Kelayakan Sputum Menggunakan Tiga Jenis Kriteria dan Kesesuaiannya Dengan Pemeriksaan Deteksi Bakteri Penyebab Pneumonia Komunitas

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Spesialis Mikrobiologi Klinik pada Program Studi Dokter Spesialis Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia.

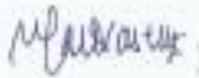
DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Prof. dr. Pratiwi Sudarmono, PhD, SpMK(K) ()

Pembimbing II : dr. Anas Karuniawati, PhD, SpMK(K) ()

Pembimbing III : Dr.dr. C. Martin Rumende, SpPD-KP, FINASIM ()

Penguji I : dr. Eri Juwita Nelwan, PhD, SpPD-KPTI ()

Penguji II : Dr.dr. Mardiasuti H. Wahid, MSc, SpMK(K) ()

Penguji III : Dr.dr. Yeva Rosana, MS, SpMK(K) ()

Ditetapkan di : Jakarta

Tanggal : 5 Juli 2017

KATA PENGANTAR

Puji Tuhan saya panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus atas segala pertolongan, kebaikan dan kasih karuniaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini.

Penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah membantu selama menjalani Program Pendidikan Dokter Spesialis dan menyusun tesis ini. Saya juga menghaturkan maaf yang sedalam dalamnya atas segala khilaf dan salah selama menimba ilmu di Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia (FKUI).

Saya menyadari tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, saya tidak dapat menyelesaikan tesis ini. Oleh karena itu saya mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. dr. Pratiwi Sudarmono, PhD, SpMK(K), selaku pembimbing pertama yang telah memberikan masukan, perhatian dan waktu untuk membimbing penulis sehingga dapat menyelesaikan tesis ini..
2. dr Anis Karuniawati, PhD, SpMK(K), selaku pembimbing dua dan kepala LMK yang telah memberikan ide dan kesempatan kepada saya untuk ikut dalam penelitian ini, serta banyak memberikan masukan, bimbingan dan waktu yang diberikan sehingga tesis ini dapat selesai, serta pemberian ijin penggunaan fasilitas laboratorium sebagai wahana belajar dan penelitian
3. Dr.dr. C. Martin Rumende SpPD-KP, selaku pembimbing tiga yang telah memberikan masukan, perhatian dan waktu untuk membimbing penulis baik dalam isi dan statistik sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini.
4. Dr.dr. Mardiasuti HW, MSc SpMK(K) selaku Ketua Program Studi PPDS Mikrobiologi Klinik FKUI yang telah memberikan perhatian dan bantuan sehingga penulis dapat ikut dalam penelitian ini, serta kesempatan kepada penulis untuk menimba ilmu Mikrobiologi.
5. dr. Fera Ibrahim, Msc, PhD, SpMK(K) selaku ketua Departemen Mikrobiologi saat ini atas perhatian dan kesempatan kepada penulis untuk menimba ilmu Mikrobiologi.

6. Seluruh staf pengajar: Prof. dr. Agus Sjahrurachman, PhD, SpMK(K), Prof. dr. Amin Soebandrio, PhD, SpMK(K), dr. Lucky H Moehario, PhD, SpMK(K), dr. T. Mirawati Sudiro, PhD, Dr.dr. Budiman Bela SpMK(K), Dr.dr. Yeva Rosana, MS, SpMK(K), dr. Yulia Rosa, SpMK, dr. Delly, SpMK, dr. Arum, SpMK, dr. Seto, SpMK, dr. Angky, SpMK, Dr. Andi Yasmon, Dra. Betty Ernawati, PhD, Andriansyah, M.Biomed, PhD, Dra. Conny Tjampakasari, Dra. Elisabeth D. Harahap, MS, Dra. Ariyani, M.Biomed, Fithriyah, M.Biomed, PhD, Dra. Ika Ningsih M.Biomed, atas segala ilmu dan bimbingannya selama penulis menempuh pendidikan dokter spesialis atas ilmu, pengalaman, keteladanan dan inspirasi bagi penulis untuk menatap masa depan.
7. Staf dan analis di Laboratorium Mikrobiologi: Mba Aisyah, bu Tati, mba Nurul, mba Indri, mba Nida, mas Alfian, mba Ria, mba Putri, mba Nita, mba Adel, mba Anik, mba Kiki, pak Aan, Ika, mba Linda, mba Mariana, bu Yatmi, pak Toyo, mba Mala, mas Syarif yang telah banyak membantu penulis dalam masa studi.
8. Rekan-rekan seperjuangan mba Erike dan mba Yurika atas kebersamaannya selama menuntut ilmu di Departemen Mikrobiologi Klinik FKUI.
9. Kedua orang tua, papi Suyanto dan mami Liliana Sjamsudin, serta kakak dan kakak ipar saya (Edy&Dewi, Santo&Lia, Andy&Ason, Toto&Asien) yang selalu memberikan doa, dukungan dan semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan kuliah dan tesis ini.
10. Istri tercinta dr. Monica Cheryly Anastasia, serta anak kami yang akan segera lahir yang selalu memberikan semangat, doa serta dukungan sehingga penulis dapat menyelesaikan kuliah dan tesis ini,
11. Kakak-kakak senior, mba Endang, mba Nita, mba Iin, kak Robert, kak Arleen, kak Ida dan mba Icha yang telah memberikan dorongan menyelesaikan tesis ini.
12. Mba Tita Rosita, staf administrasi PPDS Mikrobiologi Klinik yang selalu membantu kegiatan perkuliahan yang selalu membantu penulis sehingga dapat menyelesaikan tugas perkuliahan dan tesis.

13. Teman-teman Ikatan Residen Mikrobiologi Klinik, Nico yang selalu banyak membantu saya, Vero, Mba Nunik, Donna, mba Merry, mba Susi, kak Ardath, Agnes, mba Filly, mba Vera, mba Inta, mas Ratno atas kebersamaannya. Semoga tali silaturahmi tetap terjaga dengan baik.

Akhir kata, semoga Tuhan YME berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga tesis ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya Mikrobiologi Klinik.

Jakarta, Juli 2017

Ade Dharmawan

**PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR
UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : dr. Ade Dharmawan

NPM : 1306492313

Program Studi : Pendidikan Dokter Spesialis Mikrobiologi Klinik

Departemen : Mikrobiologi Klinik

Fakultas : Kedokteran

Jenis karya : Tesis

Demikian pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Non-eksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Pemeriksaan Kelayakan Sputum Menggunakan Tiga Jenis Kriteria dan Kesesuaiannya Dengan Pemeriksaan Deteksi Bakteri Penyebab Pneumonia Komunitas.

berserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Non-eksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Jakarta

Pada tanggal : 05 Juli 2017

Yang menyatakan



(Ade Dharmawan)

ABSTRAK

Nama : Ade Dharmawan
Program Studi : Pendidikan Dokter Spesialis Mikrobiologi Klinik
Judul Tesis : Pemeriksaan Kelayakan Sputum Menggunakan Tiga Jenis Kriteria dan Kesesuaiannya Dengan Pemeriksaan Deteksi Bakteri Penyebab Pneumonia Komunitas

Pneumonia komunitas (*Community Acquired Pneumonia*, CAP) merupakan penyakit infeksi yang sering terjadi dan merupakan masalah kesehatan, menempati peringkat ke lima sebagai penyebab kematian global. Etiologi CAP dapat ditemukan hanya pada 30 – 50% kasus menggunakan metode konvensional. Pemberian tatalaksana awal antibiotika pada CAP menggunakan metode terapi empirik berdasarkan *educated guess* atau data antibiogram lokal. Pewarnaan Gram sputum merupakan metode yang sederhana dan murah untuk secara cepat memperkirakan etiologi mikroba pneumonia. Penelitian ini dilakukan secara prospektif untuk melakukan evaluasi hasil pemeriksaan mikroskopik sputum dengan pewarnaan Gram untuk menetapkan dugaan etiologi pneumonia komunitas pada pasien rawat inap di RSUD Budhi Asih. Dari 100 sampel sputum yang sudah diseleksi kelayakannya, dinilai lagi kelayakannya menurut kriteria ASM (94 sampel), Bartlett's (100 sampel) dan Musher dkk (96 sampel). Setelah dilakukan pemeriksaan kultur, PCR dari 100 sampel, 65 sampel diketahui penyebabnya, sedangkan 35 sampel tidak diketahui, namun 10 diantaranya BTA positif. Patogen yang ditemukan adalah *Klebsiella pneumoniae* 29,6%, *Acinetobacter baumannii* 10,2%, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* 4,6%, *Moraxella catarrhalis* 3,7%, *Enterobacter aerogenes* dan *Escherichia coli* 2,8%, *Streptococcus pneumoniae* dan *Mycoplasma pneumoniae* 1,9%, *Citrobacter koseri* 0,9%. Penilaian kelayakan sputum dapat menggunakan kriteria Bartlett's karena kriteria ini yang lebih longgar sehingga penolakan spesimen sputum lebih sedikit dan hasil yang didapat tidak berbeda secara signifikan.

Kata Kunci:

Pneumonia Komunitas, CAP, Pewarnaan Gram, Kelayakan Sputum

ABSTRACT

Name : Ade Dharmawan
Study Program : Clinical Microbiologist Specialist Program
Title : *The Eligibility of Sputum Examination Using Three kinds of Criteria and The Appropriateness with The Detection of Bacteria That Causes Community Acquired Pneumonia*

Community Acquired Pneumonia (CAP) is an infectious disease that often occurs and is a health problem, ranked fifth as the cause of global death. The etiology of CAP can be found in only 30-50% of cases using conventional methods. Administration of early antibiotic treatment in CAP using empirical therapy method, based on educated guess or local antibiogram data. Sputum Gram staining is a simple, rapid and cheap method to estimate the etiology of bacterial pneumonia. This study was conducted prospectively to evaluate the results of sputum microscopic examination with Gram staining to establish the alleged etiology of community acquired pneumonia in inpatients at RSUD Budhi Asih. From 100 selected sputum samples eligible, they were re-assessed according to ASM criteria (94 samples), Bartlett's (100 samples) and Musher et al (96 samples). After culture examination and PCR detection from 100 samples, 65 samples can be identified the etiology, while 35 samples cannot be identified, but 10 samples are positive AFB. Pathogens found were Klebsiella pneumoniae 29,6%, Acinetobacter baumannii 10,2%, Enterobacter cloacae, Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureus 4,6%, Moraxella catarrhalis 3,7%, Enterobacter aerogenes and Escherichia coli 2,8%, Streptococcus pneumoniae and Mycoplasma pneumoniae 1,9%, Citrobacter koseri 0,9%. Assessment of sputum eligibility may use Bartlett's criteria, since it more flexible criteria so that fewer sputum specimens will be rejected and the results obtained do not significantly differ.

Key Words:

Community Acquired Pneumonia, CAP, Gram Stain, Sputum Eligibility

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR SINGKATAN	xv
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Umum	5
1.4 Tujuan Khusus	5
1.5 Manfaat Penelitian	5
1.6 Hipotesis Penelitian	6
2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Pendahuluan	7
2.2 Pneumonia Komunitas	7
2.2.1 Etiologi	8
2.2.2 Patogenesis	9
2.2.3 Faktor Risiko	10
2.2.4 Diagnosis	11
2.2.5 Pemeriksaan Penunjang	11
2.2.6 Pemeriksaan Mikrobiologi	12
2.2.7 <i>Clinical Array Technology</i> (CLART)	14
2.2.7.1 <i>CLART Pneumovir</i>	15
2.2.7.2 <i>PneumoCLART bacteria</i>	17
2.3 Kerangka Teori	20
2.4 Kerangka Konsep	21
3 METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Desain Penelitian	22
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	22
3.3 Sampel Penelitian	22
3.4 Kriteria Penerimaan dan Penolakan	
3.4.1 Kriteria Inklusi	22
3.4.2 Kriteria Eksklusi	22
3.5 Besar Sampel	23
3.6 Definisi Operasional	23
3.7 Alur Penelitian	24
3.8 Cara Kerja	
3.8.1 Pengambilan Sampel Sputum	25

3.8.2	Pewarnaan Gram	26
3.8.3	Isolasi dan Penanaman Bakteri Pada Media Agar	27
3.8.4	Identifikasi Bakteri GN Menggunakan Mesin Vitex 2	28
3.8.5	Identifikasi Bakteri GP Menggunakan Mesin Vitex 2	29
3.8.6	Protokol Pengelolaan Sputum untuk Pemeriksaan PneumoCLART	29
3.8.7	Ekstraksi DNA untuk Pemeriksaan <i>PneumoCLART Bacteria</i>	29
3.8.8	Mix PCR <i>PneumoCLART Bacteria</i>	30
3.8.9	PCR <i>PneumoCLART Bacteria</i>	31
3.8.10	Deteksi dengan Menggunakan <i>PneumoCLART Bacteria</i>	31
3.8.11	Ekstraksi DNA Sputum Untuk Pemeriksaan Pneumovir	32
3.8.12	Mix PCR Pneumovir	32
3.8.13	PCR Pneumovir	32
3.8.14	Deteksi dengan Menggunakan Pneumovir	33
3.9	Analisis Data	33
3.10	Persetujuan Etik	33
4	HASIL PENELITIAN	
4.1	Penilaian Kelayakan Spesimen	34
4.2	Hasil Pemeriksaan Mikrobiologi pada Penderita CAP	38
4.3	Analisis Pengaruh Pemberian Antibiotika IV Terhadap Hasil Kultur	40
5	PEMBAHASAN	
5.1	Penilaian Kelayakan Spesimen	41
5.2	Hasil Pemeriksaan Mikrobiologi pada Penderita CAP	42
5.3	Analisis Pengaruh Pemberian Antibiotika IV Terhadap Hasil Kultur	45
5.4	Keterbatasan Penelitian	45
6	KESIMPULAN DAN SARAN	
6.1	Kesimpulan	46
6.2	Saran	
6.2.1	Untuk Klinisi dan Rumah Sakit	46
6.2.2	Untuk Mikrobiologi Klinik	46
	DAFTAR PUSTAKA	47
	LAMPIRAN	53

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kriteria Bartlett's	14
Tabel 3.1 Pelaporan Hasil Pewarnaan Gram	27
Tabel 4.1 Sebaran Karakteristik Demografik Responden	34
Tabel 4.2 Analisis Jumlah Epitel dan Leukosit Spesimen Sputum Terhadap Hasil Kultur	35
Tabel 4.3 Analisis Perbandingan Kelayakan Spesimen Sputum Berdasarkan Kriteria ASM dan Bartlett's Terhadap Hasil Kultur dan PCR	36
Tabel 4.4 Analisis Perbandingan Kelayakan Spesimen Sputum Berdasarkan Kriteria ASM dan Musher Terhadap Hasil Kultur dan PCR	37
Tabel 4.5 Analisis Perbandingan Kelayakan Spesimen Sputum Berdasarkan Kriteria Bartlett's dan Musher Terhadap Hasil Kultur dan PCR	37
Tabel 4.6 Gambaran Mikrobiologi dari Spesimen Sputum	39
Tabel 4.7 Pengaruh Pemberian Antibiotik IV <24 Jam Sebelum Pengambilan Spesimen Sputum Terhadap Hasil Kultur	40

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Proses yang Terjadi Pada Saat Deteksi dengan CLART	16
Gambar 2.2	Diagram Metode Visualisasi PneumoCLART Bacteria	18
Gambar 3.1	Cara Melakukan Goresan (streak) untuk Penanaman Bakteri	28
Gambar 4.1	Kelayakan Spesimen Berdasarkan Kriteria ASM, Bartlett's dan Kriteria yang Digunakan oleh Musher dkk	35
Gambar 4.2	Analisis Mikroskopik dengan Pewarnaan Gram dengan Kriteria ASM, Bartlett's dan Musher dkk Terhadap Hasil Kultur	36
Gambar 4.3	Sebaran Jumlah Patogen Menurut Jumlah Isolat Sputum	38
Gambar 4.4	Hasil PCR Sputum	38
Gambar 4.5	Ringkasan Jumlah Bakteri yang Ditemukan pada Pemeriksaan Kultur, PCR dan BTA	40

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Distribusi Bakteri Secara Mikroskopik Pewarnaan Gram, Kultur dan PCR	53
Lampiran 2 Keterangan Lolos Kaji Etik	61

DAFTAR SINGKATAN

ASM	: <i>American Society for Microbiology</i>
AST	: <i>Antimicrobial Susceptibility Test</i>
BAL	: <i>Broncho Alveolar Lavage</i>
BTA	: <i>Basil Tahan Asam</i>
CAP	: <i>Community Acquired Pneumoniae</i>
CLART	: <i>Clinical Array Technology</i>
CRP	: <i>C-Reactive Protein</i>
DM	: <i>Diabetes Mellitus</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
FDA	: <i>Food and Drug Administration</i>
FKUI	: <i>Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia</i>
GN	: <i>Gram Negative</i>
HAP	: <i>Hospital Acquired Pneumonia</i>
HCAP	: <i>Health-care Associated Pneumoniae</i>
HRP	: <i>Horse Radish Peroxidase</i>
IDSA/ATS	: <i>Infectious Disease of America/American Thoracic Society</i>
IL	: <i>Inter Leukin</i>
LED	: <i>Laju Endap Darah</i>
LPF	: <i>Low Power Field</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
PCT	: <i>Procalcitonin</i>
PDPI	: <i>Perhimpunan Dokter Paru Indonesia</i>
PPOK	: <i>Penyakit Paru Obstruksi Kronik</i>
PRRs	: <i>Pattern Recognition Receptors</i>
RNA	: <i>Ribonucleic Acid</i>
RT-PCR	: <i>Real Time Polymerase Chain Reaction</i>
RSV	: <i>Respiratory Syncytial Virus</i>
RSUD	: <i>Rumah Sakit Umum Daerah</i>
RSUP	: <i>Rumah Sakit Umum Pusat</i>
TB	: <i>Tuberculosis</i>
TLRs	: <i>Toll Like Receptors</i>
TNF	: <i>Tumor Necrosis Factor</i>
VAP	: <i>Ventilator Associated Pneumonia</i>

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pneumonia komunitas (*Community Acquired Pneumonia*, CAP) merupakan penyakit infeksi yang sering terjadi dan merupakan masalah kesehatan, menempati peringkat ke lima sebagai penyebab kematian global.¹ *Community Acquired Pneumonia* merupakan salah satu dari infeksi yang sering mengancam nyawa, dengan banyak kematian terjadi di negara-negara berkembang.² *Community Acquired Pneumonia* didefinisikan sebagai infeksi pada parenkim paru yang tidak didapat di rumah sakit, fasilitas perawatan, atau baru kontak dengan tempat pelayanan kesehatan lainnya atau pneumonia yang terjadi ≤ 48 jam sebelum masuk ke rumah sakit.^{3,4} Perbedaan epidemiologi patogen mengakibatkan pengetahuan tentang etiologi pada masing-masing daerah menjadi sangat penting. Pengetahuan tentang etiologi CAP dapat bermanfaat untuk pemilihan terapi empirik antimikroba atau manajemen pasien, yang dapat berdampak pada prognosis pasien.^{5,6} Dalam praktek klinis patogen penyebab seringkali tidak diketahui, dan kebanyakan pasien diberikan terapi antibiotik secara empirik.⁶ Etiologi CAP dapat ditemukan hanya pada 30 – 50% kasus menggunakan metode konvensional.⁷ Pemberian tatalaksana awal antibiotika pada CAP menggunakan metode terapi empirik berdasarkan *educated guess* atau data antibiogram lokal.

Community Acquired Pneumonia merupakan penyakit yang sering terjadi, insidensnya bervariasi, paling banyak terjadi pada usia yang sangat muda atau usia lanjut baik pada negara maju ataupun negara berkembang.^{8,9} Di Amerika Serikat diperkirakan terjadi pada 5,6 juta pasien setiap tahunnya dan angka kematiannya berkisar antara 5 – 35% dengan prognosis yang lebih buruk pada orang-orang yang berusia lanjut dan orang-orang dengan penyakit kronik.^{9,10} Sebuah studi lain di Amerika Serikat didapatkan insidens tahunan mencapai 24,8 kasus per 10.000 orang dewasa, dengan angka tertinggi pada usia 65 – 79 tahun (63 kasus per 10.000 orang dewasa) dan usia ≥ 80 tahun (164,3 kasus per 10.000).¹¹ *Community Acquired Pneumonia* merupakan penyebab kematian ke enam tersering pada orang-orang yang berusia ≥ 65 tahun. Pada sebuah studi yang dilakukan oleh Broulette dkk didapatkan insidens CAP pada usia yang masih aktif bekerja (18 – 64 tahun)

mencapai 10,6 per 1000 orang.¹⁰ Sebuah studi di Vietnam yang dilakukan secara prospektif selama satu tahun didapatkan kasus CAP sebesar 47% atau 174 kasus dari 367 kasus infeksi saluran nafas bagian bawah, dengan insidens pasien yang dirawat karena CAP sebanyak 0,81 per 1000 orang per tahun.¹² Studi lain yang dilakukan di China pada pasien demam dan tidak dirawat di rumah sakit, didapatkan insidens CAP sebesar 6,1% atau 402 kasus CAP dari total 6.539 kasus demam.¹³

Di Indonesia, pneumonia termasuk dalam 10 besar penyakit rawat inap di rumah sakit dengan proporsi kasus 53,95% laki-laki dan 46,05% perempuan, dengan *crude fatality rate* (CFR) 7,6%, paling tinggi bila dibandingkan penyakit lainnya. Pneumonia komunitas merupakan salah satu bentuk dari pneumonia. Prevalensi pneumonia komunitas di rawat inap pada beberapa rumah sakit di Indonesia, antara lain RS Adam Malik 7,2%, RS Dr M. Jamil 16,6%, RSUP Persahabatan 4,7%, RSUD Dr. Moewardi 11,7%, RSUD Saiful Anwar 4,1% dan prevalensi terbesar di RSUD Dr. Soetomo sebesar 25,5%.¹⁴

Etiologi CAP berbeda tergantung perbedaan geografi dan demografi. Seringkali etiologi penyebab tidak diketahui, meskipun sudah dilakukan pemeriksaan mikrobiologi seperti kultur, PCR maupun serologi.^{5,15} Dalam panduan yang dikeluarkan oleh IDSA/ATS *Mycobacterium tuberculosis* termasuk etiologi CAP, sedangkan panduan yang dikeluarkan oleh PDPI *Mycobacterium tuberculosis* tidak termasuk sebagai penyebab CAP.^{14,16} Sebuah studi etiologi yang dilakukan oleh Jain dkk di Amerika Serikat 2.488 pasien dewasa didapatkan patogen tersering adalah rhinovirus dengan 9% pasien, diikuti oleh virus influenza 6%, *Streptococcus pneumoniae* 5%, dan sebanyak 62% kasus yang tidak didapatkan patogen penyebabnya.¹¹ Etiologi CAP di Norwegia sedikit berbeda, penelitian yang dilakukan oleh Holter dkk didapatkan patogen tersering adalah *S. pneumoniae* 30%, influenza 15% dan rhinovirus 12%.⁶ Studi yang dilakukan di Iran pada pasien dewasa, dari 120 pasien CAP didapatkan etiologi tersering adalah *S. pneumoniae* 24,4%, *Mycobacterium tuberculosis* 17,5%, *Staphylococcus aureus* 6,7%, dan 40% kasus yang tidak diketahui etiologinya.¹⁵ Studi lain yang dilakukan di Semarang, Indonesia didapatkan patogen tersering yang berhasil diidentifikasi adalah virus influenza 18%, *Klebsiella pneumoniae* 14%, *S. pneumoniae* 13%, sedangkan etiologi yang tidak diketahui sebanyak 32% kasus.⁵ Di RSUP Persahabatan

didapatkan patogen tersering adalah *Klebsiella pneumoniae* 34%, *Acinetobacter baumannii* 19,1%, *Streptococcus viridans* 12,8% kemudian diikuti oleh *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* yang sama-sama sebesar 10,7%.¹⁴

Pewarnaan Gram sputum merupakan metode yang sederhana dan murah untuk secara cepat memperkirakan etiologi mikroba pneumonia. Namun manfaat pewarnaan Gram sputum dalam pendekatan awal terhadap pasien CAP masih kontroversial, hal ini karena sulitnya mendapatkan sampel dengan kualitas yang baik. Oleh karenanya sangat penting untuk melakukan evaluasi kualitas sputum sebelum melakukan kultur bakteri. Sampel yang diterima untuk dilakukan pemeriksaan kultur adalah jika jumlah sel epitel kurang dari 10/LPF, jika jumlah sel epitel melebihi yang ditetapkan maka sebaiknya sampel sputum dilakukan pengambilan ulang. Kualitas sputum yang baik dapat memberikan informasi yang bermanfaat untuk terapi awal CAP.^{17,18,19}

Dari penelitian yang dilakukan oleh Mariraj dkk, dari 100 sampel sputum yang tidak diseleksi kualitas sputumnya, didapatkan 79 sampel dengan kualitas baik dan 21 sampel dengan kualitas yang tidak baik. Kemudian dari pemeriksaan mikroskopik dengan pewarnaan Gram didapatkan 50 sampel (63,2%) dari 79 sampel dengan kualitas baik dapat ditemukan patogen, sedangkan 2 sampel (9,5%) dari 21 sampel yang dengan kualitas tidak baik dapat ditemukan patogen.¹⁸ Penelitian lain juga mendapatkan dari 120 sampel sputum, didapatkan patogen yang berhasil diidentifikasi sebanyak 70 dari 78 sampel yang layak (89,74%), sedangkan dari 42 sampel yang tidak layak hanya 4 patogen yang berhasil diidentifikasi.²⁰ Berdasarkan hal tersebut maka Laboratorium mikrobiologi sebaiknya menggunakan kriteria objektif dengan pewarnaan Gram untuk menyeleksi sputum sebelum menginokulasi pada media kultur. Ketika terdapat ketidaksesuaian antara pemeriksaan mikroskopik dan kultur, maka hasil kultur mungkin tidak mengindikasikan etiologi infeksi saluran nafas bawah.¹⁸

Infeksi CAP yang disebabkan oleh bakteri atipik seringkali sulit tumbuh dengan menggunakan media kultur, sehingga memerlukan media khusus, namun hal ini dapat meningkatkan biaya dan waktu pemeriksaan. Virus juga merupakan penyebab CAP yang sering pada anak, bayi maupun dewasa, namun diagnosisanya

masih sulit. Oleh karena itu pemeriksaan molekuler seperti PCR telah dikembangkan untuk mengidentifikasi berbagai bakteri dan virus patogen yang menyebabkan CAP yang sulit diidentifikasi menggunakan kultur. Salah satu keuntungan pemeriksaan PCR dapat mendeteksi patogen pada pasien yang telah mendapat terapi antibiotik.^{21,22} Salah satu pemeriksaan yang mampu mendeteksi berbagai macam patogen adalah Pneumovir yang mampu mendeteksi berbagai macam virus penyebab infeksi saluran nafas dan PneumoCLART yang mampu mendeteksi berbagai macam bakteri dalam satu kali pemeriksaan. Hal ini dapat menghemat biaya pemeriksaan dan memungkinkan deteksi yang lebih optimal.

Kriteria penerimaan sputum yang banyak digunakan selama ini adalah kriteria ASM, yaitu dengan menilai jumlah epitel <10 /LPF atau jumlah leukosit 10 kali lebih banyak dibandingkan jumlah epitel dan ditemukan morfologi bakteri tunggal ≥ 6 /OIF pada pemeriksaan mikroskopik. Kriteria lain yang digunakan adalah kriteria Bartlett's dengan menggunakan sistem skoring, yang dihitung berdasarkan jumlah neutrophil, epitel dan ada tidaknya mukus pada sputum, kualitas sputum yang baik apabila skor akhir yang didapatkan ≥ 1 . Selain dua kriteria tersebut ada juga kriteria yang digunakan oleh Musher dkk dengan melihat jumlah leukosit 10 kali lebih banyak dibandingkan jumlah epitel yang dilihat dengan perbesaran 400 kali, dan kriteria yang digunakan oleh Farida dkk menilai kelayakan sputum dengan jumlah epitel <10 /LPF atau jumlah leukosit 2,5 kali lebih banyak dibandingkan jumlah epitel.^{5,19,20,23}

Pada kenyataannya seringkali sputum sulit dikeluarkan oleh pasien-pasien yang menderita CAP, dan terlebih lagi seringkali sputum yang dapat dikeluarkan tercampur oleh ludah atau liur, sehingga mengakibatkan jumlah epitel lebih dari 10 per perbesaran lemah, hal ini berakibat semakin banyak sampel sputum yang akan ditolak untuk pemeriksaan kultur. Hal ini juga dinyatakan oleh penelitian yang dilakukan oleh Santiago Ewig dkk, dari 116 pasien yang didiagnosis CAP hanya 42 pasien (36%) yang dapat mengeluarkan sputum, dan sampel yang layak hanya 23 sampel (55%).²⁴ Karena terlalu ketatnya kriteria kelayakan sputum dapat membuat banyaknya penolakan sampel sputum untuk dilakukan kultur, dan mengakibatkan etiologi yang tidak diketahui. Sehingga penting dilakukan penilaian kriteria kelayakan sputum dengan membandingkan beberapa kriteria terhadap hasil kultur.

Penelitian ini dilakukan untuk melakukan pemeriksaan kelayakan sputum menggunakan tiga jenis kriteria dan kesesuaiannya dengan pemeriksaan deteksi bakteri penyebab pneumonia komunitas.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan identifikasi masalah di atas, maka masalah dalam penelitian ini dirumuskan dalam pertanyaan penelitian:

1. Bagaimana pemilihan kriteria kelayakan spesimen sputum untuk mengurangi penolakan spesimen yang banyak terjadi akibat kriteria yang ketat (epitel kurang dari 10)?
2. Apakah kualitas sputum yang baik menghasilkan hasil pemeriksaan mikrobiologi yang baik dengan cara pemeriksaan mikroskopik, kultur dan PCR?

1.3 Tujuan Umum

Menentukan pemilihan kriteria minimal yang laik untuk menilai kelayakan sputum pasien CAP secara mikroskopik yang dapat dilanjutkan untuk pemeriksaan biakan dan PCR

1.4 Tujuan Khusus

1. Membandingkan kriteria ASM, Musher dkk, dan kriteria Bartlett's untuk menilai secara mikroskopik Gram spesimen sputum yang diambil menggunakan kriteria Farida dkk
2. Mengetahui pola bakteri penyebab CAP berdasarkan hasil pemeriksaan kultur sputum dan PCR
3. Membandingkan pengaruh pemberian antibiotik < 24 jam dengan yang belum mendapatkan antibiotik sebelum pengambilan spesimen sputum terhadap hasil kultur

1.5 Manfaat Penelitian

1. Mendapatkan kriteria mengenai pemeriksaan kualitas sputum yang dapat diaplikasikan untuk pemeriksaan kelayakan sputum di Laboratorium Mikrobiologi
2. Memperoleh data pola bakteri penyebab CAP yang dapat dimanfaatkan sebagai pedoman pemberian terapi empirik di Rumah Sakit

3. Memberikan informasi apakah penggunaan antibiotik <24 jam mempengaruhi hasil kultur dan PCR

1.6 Hipotesis Penelitian

H₀: Tidak ada perbedaan bermakna antara ketiga kriteria pemilihan kelayakan sputum terhadap hasil kultur sputum dan PCR

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pendahuluan

Pneumonia merupakan suatu peradangan akut parenkim paru yang disebabkan oleh mikroorganisme (bakteri, virus, jamur, parasit), sedangkan yang disebabkan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* bukan termasuk pneumonia. Peradangan paru yang bukan karena infeksi namun disebabkan oleh bahan kimia, aspirasi bahan toksik, obat-obatan, dan radiasi, didefinisikan sebagai pneumonitis.^{14,25} Klasifikasi pneumonia semakin kompleks dengan populasi pasien yang beragam. Klasifikasi pneumonia yang didasarkan klinis dan epidemiologi dibedakan menjadi: (i) CAP, yaitu pneumonia yang terjadi ≤ 48 jam pada saat pasien masuk ke rumah sakit dan tidak memenuhi kriteria *Healthcare Associated Pneumonia* (HCAP). (ii) HCAP, yaitu pneumonia pada pasien yang pernah dirawat di rumah sakit ≥ 2 hari dan mengalami infeksi dalam 90 hari, tinggal di panti jompo atau di fasilitas perawatan jangka panjang, terapi antibiotik intravena atau kemoterapi atau perawatan luka dalam waktu 30 hari terjadi infeksi, dan terapi hemodialisis. (iii) *Hospital Acquired Pneumoniae* (HAP), yaitu pneumonia yang terjadi ≥ 48 jam setelah masuk ke rumah sakit. (iv) *Ventilator-Associated Pneumonia* (VAP), yaitu Pneumonia yang terjadi > 48 jam setelah tindakan intubasi endotrakeal.^{4,26}

2.2 Pneumonia Komunitas

Pneumonia komunitas merupakan peradangan akut yang terjadi pada parenkim paru yang didapat di masyarakat. Penyakit pneumonia komunitas sering terjadi dan bersifat serius, biasanya berkaitan dengan angka kesakitan dan angka kematian, terutama pada pasien usia lanjut dan pasien yang memiliki komorbid. Pneumonia komunitas merupakan salah satu penyakit infeksi yang sering terjadi dan juga merupakan penyebab kematian dan kesakitan terbanyak didunia.¹⁴ Pneumonia komunitas dapat didefinisikan berdasarkan gejala klinis, antara lain meliputi adanya gejala penyakit saluran nafas bawah akut (batuk dan minimal satu dari gejala lain saluran nafas bawah), adanya *focal chest sign* yang baru pada pemeriksaan, minimal ada satu gejala sistemik (berkeringat, demam (suhu $\geq 38^{\circ}\text{C}$), menggigil, dan nyeri). Berdasarkan guidelines dari *British Thoracic Society* pemeriksaan radiologi thoraks

perlu dilakukan pada pasien pneumonia komunitas yang masuk dan dirawat di rumah sakit sesegera mungkin untuk mengkonfirmasi diagnosis.²⁷

2.2.1 Etiologi

Pada era preantibiotik, *S. pneumoniae* menyebabkan 95% kasus pneumonia, meskipun pneumococcus masih merupakan penyebab tersering pneumonia komunitas yang diidentifikasi, namun frekuensinya telah menurun, dan saat ini dideteksi hanya sekitar 10 – 15% kasus pada pasien rawat inap di Amerika Serikat. Beberapa faktor yang diketahui ikut menyumbang terhadap penurunan ini antara lain penggunaan vaksin polisakarida pneumokokus pada dewasa, pemberian vaksin konjugat pneumokokus pada anak-anak dan penurunan jumlah perokok. Di Eropa dan beberapa negara lain yang lebih sedikit menggunakan vaksin pneumokokus dan angka perokoknya masih tinggi, pneumokokus masih menjadi penyebab dengan proporsi yang lebih tinggi pada kasus pneumonia komunitas.²⁸ Pengetahuan mengenai patogen yang menyebabkan pneumonia komunitas merupakan dasar untuk pemilihan terapi antimikroba, yang mempunyai dampak yang penting bagi prognosis pasien.²⁹ Pemilihan terapi empirik yang tepat tergantung pada patogen yang sering teridentifikasi pada studi-studi etiologi sebelumnya atau antibiogram data lokal di Rumah Sakit tersebut. Pada 41 studi yang dilakukan di Eropa didapatkan bahwa *S. pneumoniae* merupakan bakteri yang paling sering menyebabkan pneumonia komunitas, kemudian diikuti oleh *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Legionella pneumophila* dan *Haemophilus influenzae*. Sedangkan sebuah studi *systematic review* yang dilakukan di Asia, mendapatkan bakteri yang menjadi penyebab tersering pneumonia komunitas adalah *S. pneumoniae*, yang diikuti oleh bakteri enterik gram negatif, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* dan *Staphylococcus aureus*. Bakteri enterik gram negatif yang paling sering menjadi penyebab pneumonia komunitas adalah *Klebsiella pneumoniae*, terutama dari sampel sputum. Proporsi bakteri enterik gram negatif paling tinggi didapatkan pada daerah Asia Tenggara dan India.² Data dari beberapa rumah sakit di Indonesia tahun 2012 menunjukkan bahwa penyebab terbanyak pneumonia komunitas di ruang rawat inap dari bahan sputum adalah bakteri gram negatif seperti *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, sedangkan

bakteri gram positif seperti *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* ditemukan dalam jumlah sedikit.¹⁴

2.2.2 Patogenesis

Pada kondisi normal atau sehat, tidak terdapat pertumbuhan mikroorganisme di paru. Hal ini dapat disebabkan oleh adanya sistem pertahanan paru. Namun bila terjadi ketidakseimbangan pada sistem daya tahan tubuh, maka mikroorganisme dapat tumbuh dan berkembang biak yang kemudian dapat timbul penyakit.²⁵

Peningkatan risiko infeksi paru sangat bergantung pada kemampuan mikroorganisme untuk dapat mencapai permukaan epitel saluran napas dan merusaknya. Ada beberapa mekanisme mikroorganisme untuk dapat mencapai saluran nafas bawah:

- Inhalasi bahan aerosol
- Aspirasi sekret orofaring
- Penyebaran melalui pembuluh darah

Pajanan terus menerus terhadap udara yang terkontaminasi dan aspirasi flora nasofaring yang sering menyebabkan parenkim paru rentan terhadap mikroorganisme yang virulen. Kebanyakan mikroorganisme mencapai saluran nafas bawah melalui inhalasi dan droplet yang teraspirasi. Pneumonia yang terjadi ditentukan oleh integritas barrier pertahanan dan status imunitas pejamu.³⁰

Kebanyakan bakteri yang memiliki ukuran 0,5 -2,0 um menyebar melalui udara dan kemudian mencapai bronkus terminal atau alveoli yang kemudian dapat terjadi infeksi. Apabila timbul kolonisasi pada saluran napas atas (baik hidung atau orofaring) dan selanjutnya teraspirasi kedalam saluran napas bawah, hal ini dapat menjadi awal permulaan infeksi paru. Aspirasi yang terjadi dari sebagian kecil sekret orofaring dapat terjadi pada waktu tidur pada orang normal (mencapai 50%), hal ini juga dapat terjadi pada keadaan penurunan kesadaran, seperti koma, kejang, kecelakaan pada serebrovaskular, pecandu alkohol dan pemakai obat-obatan (*drug abuse*).^{25,30}

Sekresi orofaring pada orang sehat diperkirakan memiliki jumlah bakteri, sekitar 10 – 100 juta/ml, maka bila terjadi aspirasi dari sebagian kecil sekret (0,001 - 1,1 ml)

maka dapat memberikan titer inokulum bakteri yang tinggi dan dapat menyebabkan timbulnya pneumonia.²⁵

Ketika paru terpajan oleh bakteri dalam jumlah kecil, pembersihan patogen melalui kekebalan alami dapat terjadi dengan baik, sehingga gejala yang timbul hanya bersifat subklinis. Namun jika jumlah bakteri banyak, bakteri dapat mengatasi mekanisme pertahanan primer host dengan melepaskan toksin siliar, pneumolisin, endotoksin dan IgA protease, yang merusak mukosiliar, sehingga bakteri dapat menempel pada epitelium. Akibatnya, sel dendritik, makrofag alveolar dan sel epitel diaktivasi sebagai penanda patogen yang dikenali oleh *toll like receptors* (TLRs). Pengenalan patogen menginisiasi inflamasi pada parenkim paru.³¹

Virus mengaktivasi sistem kekebalan alami melalui permukaan sel dan PRRs sitosolik, yang mendeteksi komponen virus (terutama asam nukleat) TLR-3 mengenali RNA untai ganda, TLR-7 dan TLR-8 mendeteksi RNA untai tunggal virus. Aktivasi sel imun mensintesis antivirus tipe 1 interferon (IFN), sitokin pro inflamasi dan kemokin, diantaranya TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12 dan protein monosit kemoatraktan yang menyebabkan terjadinya respon inflamasi.³¹

Pada pneumonia biasanya mikroorganisme masuk kedalam paru dapat melalui inhalasi atau aspirasi, sehingga seharusnya mikroorganisme yang ada pada saluran napas atas sama dengan mikroorganisme saluran napas bawah, namun pada beberapa penelitian tidak didapatkan pola mikroorganisme yang sama.²⁵

2.2.3 Faktor Risiko

Beberapa faktor risiko terhadap pneumonia komunitas telah diketahui, antara lain: usia > 65 tahun, merokok, peminum alkohol, keadaan immunosupresi, dan kondisi lainnya seperti penyakit paru obstruksi kronik, penyakit kardiovaskular, penyakit serebrovaskular, penyakit hati atau ginjal kronik, diabetes mellitus dan demensia.³²

Pada pasien penyakit paru kronik misalnya pada bronkiektasis, fibrosis kistik dan penyakit paru obstruksi kronik bila terjadi infeksi biasanya dihubungkan dengan infeksi dari bakteri gram negatif seperti *Pseudomonas aeruginosa*. Faktor risiko lainnya yang berkaitan dengan infeksi bakteri gram negatif adalah keganasan, penyakit kardiovaskular dan kebiasaan merokok.¹⁴

2.2.4 Diagnosis

Diagnosis pneumonia komunitas dapat ditegakkan dari anamnesis, pemeriksaan fisik, dan pemeriksaan penunjang yang meliputi foto rontgen thorax dan laboratorium. Sedangkan untuk menegakkan diagnosis pasti pneumonia komunitas, yaitu jika pada foto rontgen thorax terdapat bercak infiltrat/*air bronchogram* yang disertai dengan beberapa gejala yaitu antara lain¹⁴:

- Batuk
- Dahak mukoid atau purulen,
- Suhu tubuh $\geq 38^{\circ}\text{C}$ (aksila)/riwayat demam
- Nyeri dada
- Sesak
- Pada pemeriksaan fisik dapat ditemukan tanda-tanda konsolidasi, suara nafas bronkial dan ronki
- Leukosit ≥ 10.000 atau ≤ 4.500

2.2.5 Pemeriksaan Penunjang

Pemeriksaan penunjang yang dapat dilakukan untuk membantu menegakkan diagnosis, yaitu melalui gambaran radiologis dan pemeriksaan laboratorium. Pemeriksaan radiologi thoraks pada pasien tersangka pneumonia komunitas tidak diperlukan pada pasien rawat jalan kecuali apabila:

- Diagnosisnya masih ragu-ragu dan pemeriksaan radiologi thoraks dapat membantu untuk menegakkan diagnosis banding serta penatalaksanaannya
- Menilai respon pengobatan pada pasien tersangka pneumonia komunitas yang hasilnya tidak memuaskan pada saat evaluasi
- Pasien mempunyai faktor risiko yang mendasari kelainan paru, misalnya kanker paru

Sedangkan untuk pasien yang masuk ke rumah sakit yang dicurigai pneumonia komunitas harus dilakukan pemeriksaan radiologi thoraks sesegera mungkin untuk menegakan atau menyingkirkan diagnosis. Setelah diagnosis ditegakan pemberian antibiotik dapat dilakukan tepat waktu, dalam 4 jam sejak kedatangan ke rumah sakit diagnosis pneumonia komunitas harus ditegakkan.³³

Foto thoraks (baik posisi posteroanterior/lateral) merupakan pemeriksaan penunjang utama didalam menegakkan diagnosis. Gambaran radiologis yang muncul dapat berupa infiltrat sampai dengan konsolidasi dengan “air bronkogram” penyebab bronkogenik dan instersisial serta gambaran kaviti. Foto thoraks saja tidak dapat menentukan penyebab pneumonia secara pasti, namun hanya digunakan sebagai penunjuk arah diagnosis etiologi, misalnya pada pneumonia lobaris penyebab paling sering adalah *S. pneumoniae*. Sedangkan *P. aeruginosa* sering didapatkan gambaran infiltrat bilateral atau gambaran bronkopneumonia. Pada infeksi *K. pneumoniae* sering didapatkan gambaran konsolidasi yang terjadi pada lobus atas kanan, meskipun bisa juga beberapa lobus yang terkena.²⁵

Pada pemeriksaan laboratorium dapat ditemukan leukositosis atau peningkatan jumlah leukosit, biasanya lebih dari 10.000/ul dan kadang dapat mencapai 30.000/ul. Pada hitung jenis didapatkan pergeseran kekiri serta dapat ditemukan peningkatan laju endap darah (LED). Pemeriksaan laboratorium lainnya yang sering digunakan adalah marker infeksi seperti procalcitonin (PCT) dan CRP. Pada CAP pemeriksaan PCT dapat mendukung diagnosis dan menjadi prediktor komplikasi dan peningkatan angka kematian. Pemeriksaan PCT disertai CRP dapat meningkatkan ketepatan diagnosis pneumonia. Kadar PCT >2 ng/ml menjadi prediktor bakteremia dan sepsis. Nilai normal CRP adalah 3 mg/L, apabila kadar 10 mg/L menandakan inflamasi yang signifikan.¹⁴ Sedangkan untuk menegakkan diagnosis etiologi diperlukan pemeriksaan kultur dari spesimen sputum, darah atau melalui pemeriksaan serologi seperti uji fiksasi komplemen, imunofloresens dan deteksi antigen dari urin.²⁵

2.2.6 Pemeriksaan Mikrobiologi

Pemeriksaan mikrobiologi yang seharusnya dilakukan pada pasien rawat inap di antaranya adalah pewarnaan Gram dan kultur sputum, kultur darah, deteksi antigen urin terhadap legionella dan pneumokokus, serta PCR multipleks untuk *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* dan virus-virus saluran nafas.²³ Pemeriksaan kultur dibutuhkan untuk dapat mengetahui bakteri penyebab dengan menggunakan spesimen sputum, darah atau aspirat endotrakeal, aspirat jaringan paru atau bilasan bronkus. Pemeriksaan invasif biasanya hanya dilakukan pada kasus berat dan yang tidak memberikan respon setelah pemberian terapi antibiotik. Etiologi pneumonia

seringkali sulit didapatkan dan biasanya diperlukan waktu berhari-hari untuk mendapatkan hasilnya, sementara pneumonia dapat menimbulkan kematian bila tidak diobati, sehingga perlu diberikan pengobatan awal pneumonia dengan pemberian antibiotik secara empirik.¹⁴ Spesimen sputum harus segera dikirim untuk pemeriksaan kultur dan uji sensitivitas pada pasien dengan pneumonia komunitas yang dapat mengeluarkan sputum dan sebaiknya sebelum terapi antibiotik. Sputum ekspektorat merupakan sampel yang paling sering diterima oleh laboratorium untuk diagnosis pneumonia, karena pengambilannya yang relatif mudah dan tidak bersifat invasif.²⁰ Spesimen sebaiknya ditransport secepatnya ke laboratorium, kurang dari 2 jam bila disimpan pada suhu ruang atau kurang dari 24 jam pada suhu 4°C.^{19,33} Kultur dari sekret saluran nafas bawah dapat membantu, namun dalam kenyataannya sangat terbatas dengan sekitar 40 – 60% kasus yang tidak ada agen yang teridentifikasi. Hal ini terutama jika spesimen tidak segera diproses, dan banyak agen pneumonia sulit untuk tumbuh (misalnya *Legionella*, *C. pneumoniae* dan *M. pneumoniae*), selain itu spesimen seringkali mudah terkontaminasi oleh mikroba yang berada di saluran nafas atas atau orofaring yang dapat mengaburkan keberadaan patogen saluran nafas bawah. Masalah lain yang seringkali muncul adalah pasien yang tidak terbiasa, akan kesulitan mengeluarkan sputum yang purulen, sehingga hanya berupa saliva atau air liur yang keluar dan dikirim ke laboratorium, yang berakibat hasil yang tidak akurat. Oleh karena itu sangat penting sekali untuk menilai kelayakan spesimen sputum baik secara makroskopis maupun mikroskopis.^{19,20}

Pemeriksaan makroskopis dapat terlihat sampel sputum yang baik adalah purulen, mukoid dan tidak cair atau bercampur dengan air liur. Namun pemeriksaan makroskopik harus dikonfirmasi lagi dengan pemeriksaan mikroskopik. Ada beberapa kriteria yang digunakan untuk menilai kelayakan spesimen secara mikroskopik. Ada yang berdasarkan penilaian epitel < 10/LPF dan leukosit \geq 25/LPF untuk menilai kualitas sputum yang baik³⁴. Disamping itu ada yang menggunakan kriteria Bartlett's, jika skor akhir adalah \leq 0, maka mengindikasikan kurang adanya inflamasi yang aktif atau terdapat kontaminasi, sehingga ditentukan sebagai sampel yang tidak layak dan ditolak. Sebaliknya jika skor \geq 1 maka sampel diterima untuk dilanjutkan pemeriksaan kultur.^{20,35}

Tabel 2.1. Kriteria Bartlett's²⁰

Kriteria	Skor
Jumlah Neutrofil/10x LPF	
• <10	0
• 10 – 25	+1
• >25	+2
Adanya mukus	+1
Jumlah sel epitel/ 10x LPF	
• 10 – 25	-1
• >25	-2
Skor Total	

Diterjemahkan dari Mokkaapati A, et al. 2013¹⁹

Referensi lain ada yang menggunakan jumlah leukosit, jika jumlah leukosit 10 kali lebih banyak dibandingkan jumlah sel epitel (≥ 10 sel leukosit untuk setiap 1 sel epitel dengan menggunakan pembesaran 400x), maka spesimen dianggap adekuat atau layak.²³ Selain tiga kriteria tersebut ada juga kriteria *American Society for Microbiology* (ASM) yang menilai kelayakan spesimen berdasarkan jumlah epitel < 10 /LPF, atau jumlah leukosit 10 kali lebih banyak dibandingkan jumlah epitel dan ditemukan morfotipe bakteri tunggal sebanyak 3+ - 4+, jika terpenuhi maka kualitas spesimennya baik dan layak untuk dilanjutkan pemeriksaan.¹⁹

2.2.7 Clinical Array Technology (CLART)

CLART disebut juga dengan teknologi microarray. CLART menggabungkan dua teknik molekuler yang sensitive dan spesifik dalam *microwell* yang banyak digunakan dalam ELISA, namun visualisasinya berbeda dengan ELISA (bukan fluoresens). CLART mendeteksi dengan prinsip sederhana namun pintar: pembentukan spot (bukan fluoresens). Pola spot dibaca obyektif oleh Saiclart, yaitu program software algoritmik. Format ini memiliki *throughput* 96 sampel dalam satu kali jalan, bisa bekerja manual atau juga dengan mesin robotik (kemasan reagen disesuaikan untuk mesin robotik).^{36,37}

Setiap sampel CLART dimonitor dengan 3 kontrol proses yaitu kontrol isolasi atau ekstraksi (*genomic control*), kontrol amplifikasi (*amplification control*), dan

kontrol hibrid dan pengembangan spot (*visualization control*). Dengan demikian, setiap target pemeriksaan tervalidasi oleh kontrol yang dikerjakan bersamaan dengan sampel.^{36,37}

2.2.7.1 CLART® PneumoVir

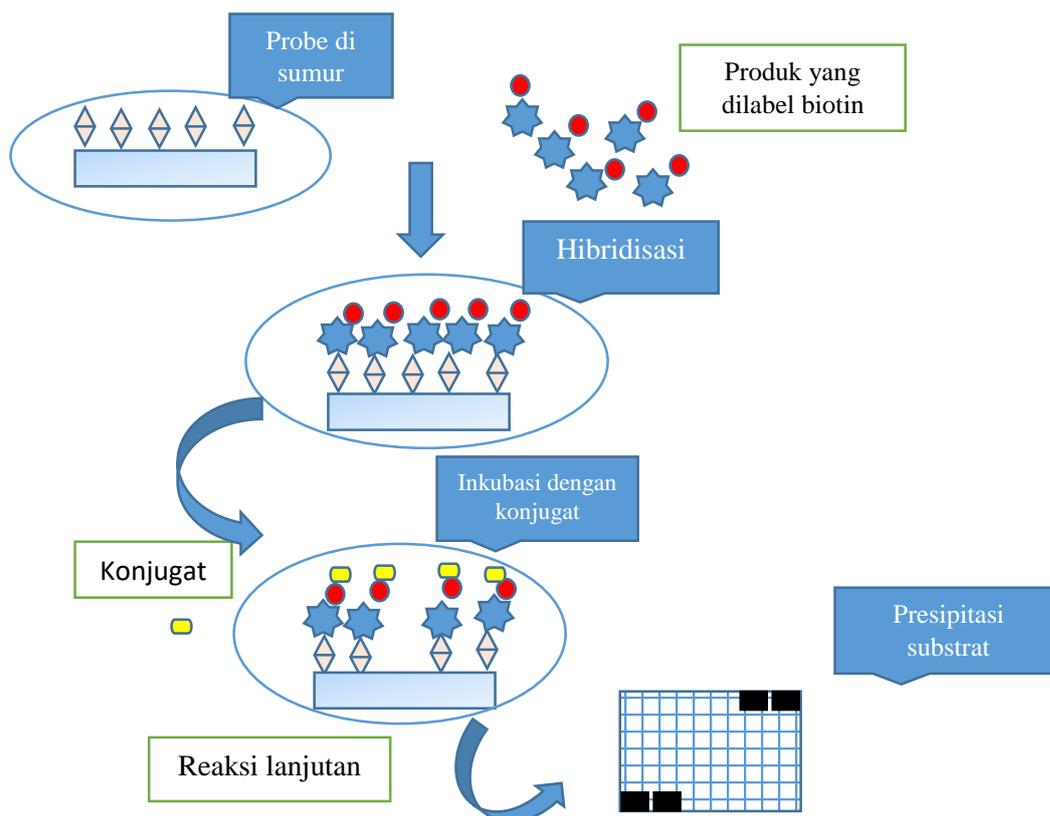
CLART® PneumoVir merupakan uji diagnostik invitro untuk deteksi beberapa virus yang menyebabkan infeksi saluran nafas. Deteksi virus dilakukan melalui amplifikasi RT-PCR (*reverse transcriptase PCR*) dari fragmen spesifik 120 – 330 bp dari genom viral. Visualisasi produk amplifikasi dengan teknologi CLART® berdasarkan microarray densitas rendah. CLART® PneumoVir mendeteksi secara simultan dan subtype virus saluran nafas secara multiple dalam satu kali pemeriksaan. Informasi yang didapatkan memungkinkan manajemen infeksi secara cepat dan tepat serta untuk menghindari penggunaan antibiotik yang tidak diperlukan dan tidak spesifik yang dapat menimbulkan potensi resistensi. Demikian pula, pemeriksaan ini dapat mengurangi biaya dalam diagnosis karena dapat memeriksa beberapa target dalam satu kali pengujian. Beberapa keuntungan CLART® PneumoVir antara lain:³⁶

- Sensitivitas: Dapat mendeteksi terhadap jumlah minimal dari materi genomik virus
- Mendeteksi secara simultan beberapa virus yang ada pada sampel
- Spesifisitas: Menggunakan urutan yang sesuai dengan region yang sangat dipertahankan dalam genom virus dan mengikat probe spesifik untuk setiap jenis virus pernapasan
- Mudah untuk standarisasi dalam rutinitas laboratorium rumah sakit
- Kecepatan: Hasil analisis keluar dalam 8 jam

Kit CLART® PneumoVir dapat mendeteksi dan mengkarakterisasi keberadaan dari 19 jenis virus yang paling sering menyebabkan infeksi pernafasan dari sampel klinis bilasan nasofaring, eksudat faring, eksudat nasofaring dan BAL.³⁶ CLART® PneumoVir memiliki sensitivitas dan spesifisitas lebih dari 90%, karena sensitivitasnya yang sangat tinggi sehingga tidak memerlukan amplifikasi ganda (*nested-PCR*), sehingga dapat menghindari risiko kontaminasi. Virus yang dapat dideteksi antara lain adalah Adenovirus, Bocavirus, Coronavirus, Enterovirus

(Echovirus), Influenza Virus A (Subtipe H3N2 human, H1N1 human, B, C dan H1N1/2009), Metapneumovirus (subtype A dan B), Parainfluenza virus 1, 2, 3 dan 4 (subtype A dan B), Rhinovirus, RSV tipe A, dan RSV tipe B.³⁶

Sistem deteksi Pneumo CLART® PneumoVir didasarkan pada presipitasi dari produk yang tidak larut di *microarray* saat hibridisasi produk amplifikasi dengan probe spesifik berlangsung. Selama RT-PCR, produk amplifikasi diberi label dengan biotin. Setelah amplifikasi, produk ini dihibridisasi dengan masing-masing probe pelengkap khusus yang terfiksasi di area *microarray* spesifik. Selanjutnya diinkubasi dengan konjugat streptavidine-peroksidase. Konjugat yang terikat melalui streptavidine dengan keberadaan biotin dalam produk amplifikasi (yang terikat pada probe yang spesifik) dalam keberadaan substrat o-dianisidine, aktivitas peroksidase pada konjugat menginduksi munculnya produk yang tidak larut, yang mengendap pada *microarray* dimana hibridisasi terjadi.³⁶



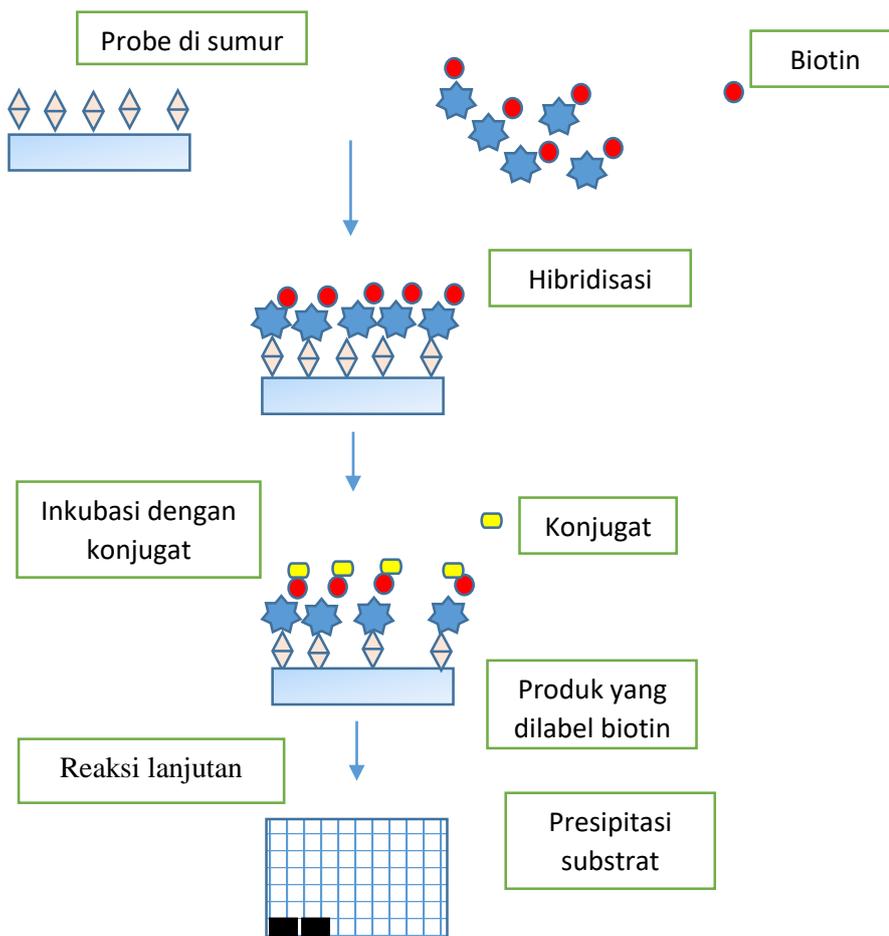
Gambar 2.1. Proses yang terjadi pada saat deteksi dengan CLART. Probes, terfiksasi di permukaan, menangkap produk amplifikasi yang dilabel dengan biotin. Dengan bantuan biotin, akan mengikat konjugat, dalam hal ini adalah streptavidin-HRP. Dengan bantuan HRP, Substrat o-dianisidine, menghasilkan presipitat pada tempat hibridisasi terjadi.³⁶

Telah diolah kembali dari Man CLART® Pneumovir. 2015³³

2.2.7.2 PneumoCLART bacteria®

PneumoCLART bacteria® untuk mendeteksi beberapa bakteri yang menyebabkan infeksi saluran pernafasan, secara simultan dengan menggunakan PCR multipleks dan kemudian di visualisasi dengan teknologi CLART ® berdasarkan microarray densitas rendah. Metode ini didasarkan pada prinsip yang sangat sederhana dan sekaligus mengurangi biaya (*cost effective*). *PneumoCLART bacteria®* mendeteksi keberadaan bakteri yang menyebabkan infeksi saluran nafas pada manusia pada sampel saluran nafas, seperti sputum, bilasan nasofaring/eksudat/aspirat dan BAL.³⁷

Deteksi cepat bakteri dapat membantu klinisi untuk menyesuaikan terapi antimikroba, yang kemudian dapat memperbaiki kesembuhan dan pemulihan pasien, sehingga dapat menurunkan biaya yang berhubungan dengan berkurangnya lama perawatan dirumah sakit dan terapi yang diberikan. Sistem deteksi Pneumo CLART bacteria® didasarkan pada presipitasi dari produk yang tidak larut di daerah-daerah microarray di mana hibridisasi produk amplifikasi dengan probe spesifik berlangsung. Selama PCR, produk amplifikasi diberi label dengan biotin. Setelah amplifikasi, produk ini dihibridisasi dengan masing-masing probe pelengkap khusus yang terfiksasi di area microarray spesifik. Selanjutnya diinkubasi dengan konjugat streptavidine-peroksidase. konjugat yang terikat melalui streptavidine dengan keberadaan biotin dalam produk amplifikasi (yang terikat pada probe yang spesifik) dan aktivitas peroksidase mendorong munculnya produk non-larut dalam keberadaan substrat o-dianisidine, yang mengendap pada daerah microarray hibridisasi terjadi.³⁷



Gambar 2.2. Diagram metode visualisasi. Probes, terfiksasi di permukaan, menangkap produk amplifikasi yang dilabel dengan biotin. Dengan bantuan biotin, akan mengikat konjugat, dalam hal ini adalah streptavidin-HRP. Substrat o-dianisidine, dengan bantuan HRP, menghasilkan presipitat pada area dimana hibridisasi terjadi.³⁷

Telah diolah kembali dari Man PneumoCLART Bact. 2013³⁴

PneumoCLART bacteria® dapat mendeteksi beberapa target bakteri, di antara nya adalah:³⁷

- *Staphylococcus aureus (Mec A)*
- *Streptococcus pneumoniae*
- *Haemophilus influenza*
- *Haemophilus spp.*
- *Moraxella catharralis*
- *Chlamydomyces pneumoniae*

- *Mycoplasma pneumoniae*
- *Bordetella pertussis*
- *Bordetella parapertusis*
- *Bordetella bronchiseptica*
- *Bordetella holmesii*
- *Bordetella spp*

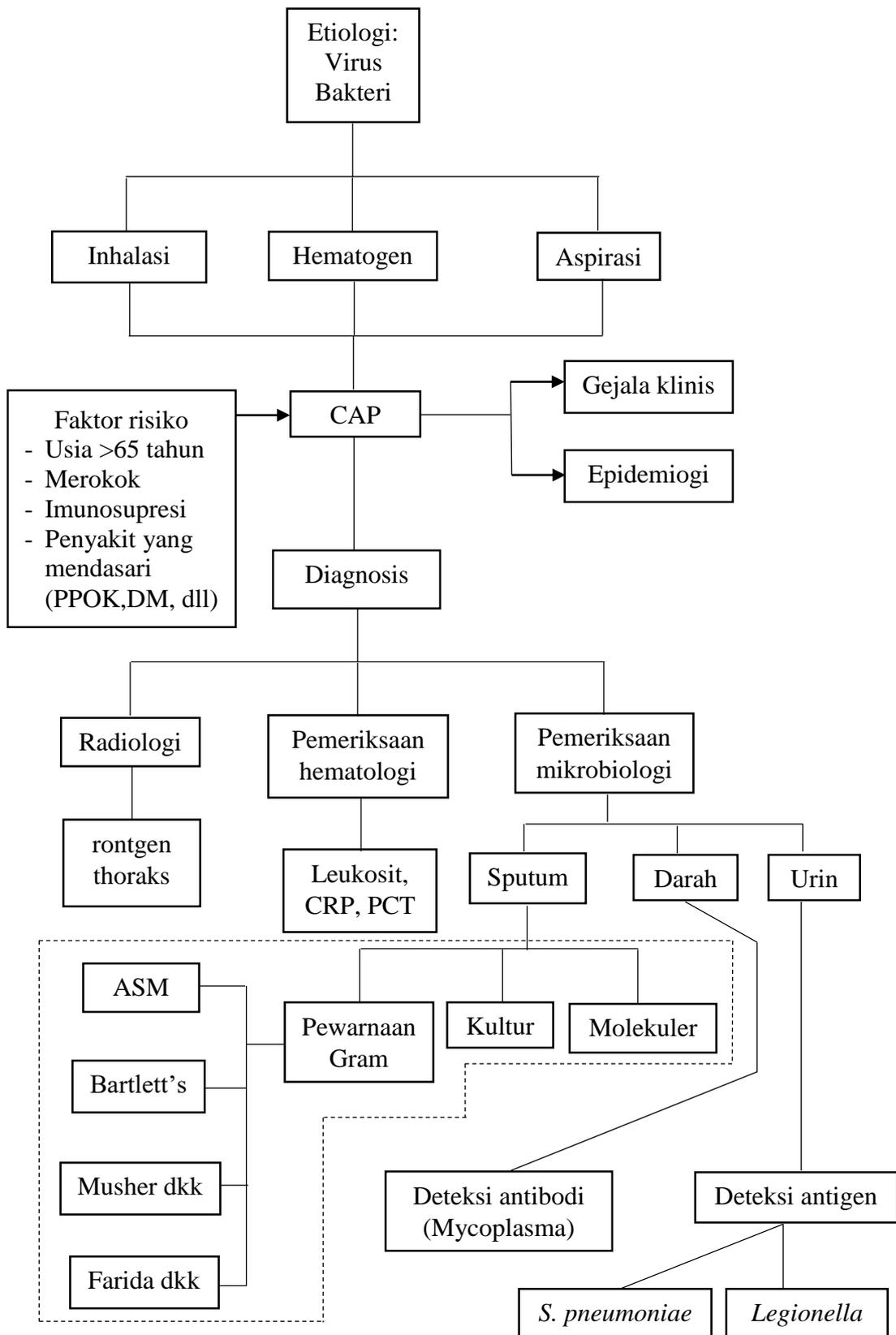
Penerapan teknologi molekular yang baru dalam infeksi bakteri saluran pernafasan dapat jauh mengurangi kelemahan utama dari sistem deteksi secara tradisional, seperti:

- Sensitivitas yang rendah dari beberapa media kultur
- Waktu yang dibutuhkan untuk keluarnya hasil
- Memerlukan media transport yang sangat spesifik

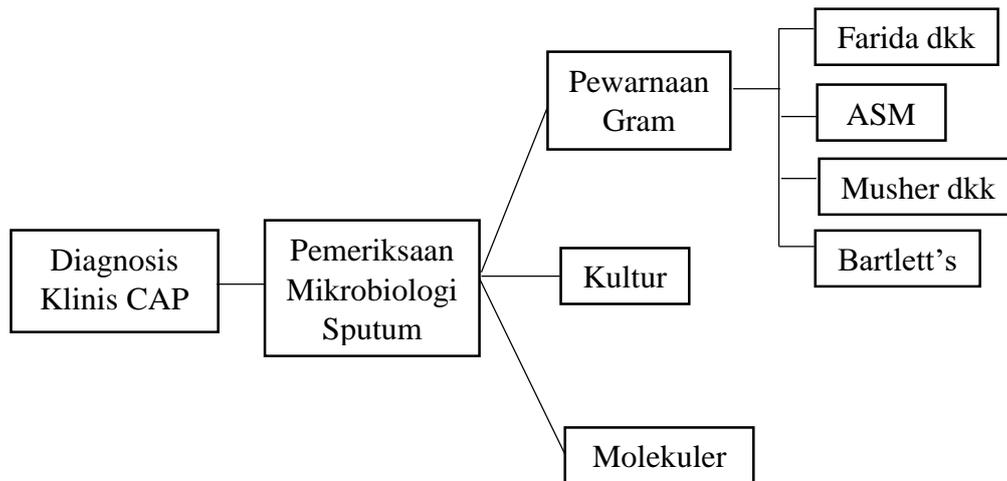
Untuk menghindari hasil negatif palsu, setiap PCR *mastermix* mencakup beberapa kontrol:

- Kontrol amplifikasi internal, untuk memastikan performa yang benar dari proses amplifikasi
- Kontrol genomik DNA, deteksi fragmen ini memastikan isolasi materi genetik selama proses ekstraksi

3.3 Kerangka Teori



2.4 Kerangka Konsep



Variabel Terikat

Variabel Bebas

BAB 3

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dengan desain prospektif

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Pemeriksaan pasien dan pengambilan sampel dilakukan pada pasien dengan diagnosis klinis dan radiologis CAP dengan indikasi rawat inap di RSUD Budhi Asih Kemudian sampel akan dikirim ke Laboratorium Mikrobiologi Klinik FKUI untuk dilakukan pemeriksaan mikrobiologi yang terdiri dari pewarnaan Gram, kultur, dan PCR.

3.3 Sampel Penelitian

Sampel yang diambil untuk pemeriksaan mikroskopik pewarnaan Gram, kultur dan PCR adalah sputum pasien dengan diagnosis pneumonia komunitas.

3.4 Kriteria Penerimaan dan Penolakan

3.4.1 Kriteria Inklusi:

1. Pasien berusia lebih atau sama dengan 18 tahun dengan diagnosis CAP
2. Indikasi rawat inap
3. Pasien dapat mengeluarkan sputum untuk pemeriksaan mikrobiologi
4. Kualitas sputum baik (jumlah epitel <10/LPF atau jumlah leukosit >2,5 kali jumlah epitel)
5. Bersedia mengikuti penelitian

3.4.2 Kriteria Eksklusi:

1. Pasien dirujuk dari rumah sakit lain dengan masa perawatan lebih dari 1x24 jam
2. Pasien mendapat terapi antibiotik intravena dalam waktu lebih dari 1x24 jam

3.5 Besar Sampel

Sampel diambil dengan menggunakan metode total sampling, yaitu semua pasien yang memenuhi kriteria inklusi. Untuk memperoleh jumlah sampel, maka dilakukan perhitungan dengan tingkat kemaknaan yang dikehendaki sebesar 95%, dengan tingkat ketepatan (presisi) penelitian adalah 5%. Dari kepustakaan didapatkan prevalensi pneumonia komunitas di Jakarta, yaitu sebesar 4,7%. Maka jumlah sampel minimal yang diperlukan adalah sebagai berikut:

$$N = \frac{Z\alpha^2 \times P \times Q}{d^2}$$

$$N = \frac{(1.96)^2 \times 0.047 \times 0.953}{0.05^2}$$

$$N = 68,8 \rightarrow \text{dibulatkan menjadi } 69$$

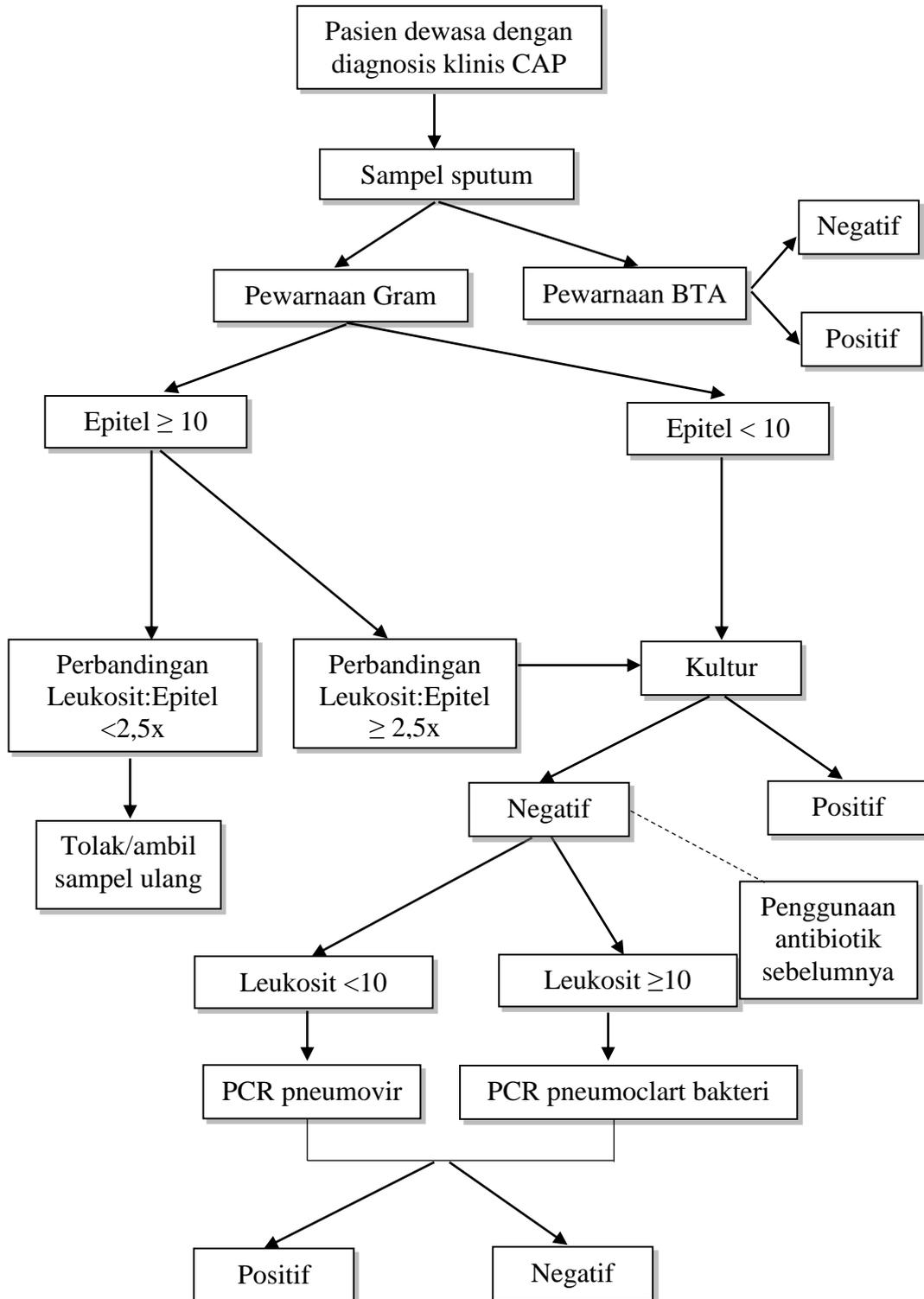
N	: Jumlah sampel
Z α	: Tingkat kesalahan (1.96)
P	: Didapatkan sebesar 4,7%
Q	: 1-P
d	: Presisi penelitian

Maka didapatkan jumlah sampel minimal yang diperlukan adalah 69 sampel.

3.6 Definisi Operasional

- CAP: yaitu pneumonia yang terjadi ≤ 48 jam pada saat pasien masuk ke rumah sakit dan tidak memenuhi kriteria *Healthcare Associated Pneumonia* (HCAP).⁴
- Kualitas sputum baik: Jumlah epitel <10 /LPF atau pembesaran lemah, atau jumlah leukosit dibandingkan jumlah epitel lebih dari 2,5 kali (2,5:1).⁵
- Kualitas sputum yang baik menurut ASM: Jumlah epitel <10 /LPF atau pembesaran lemah atau jumlah leukosit dibandingkan jumlah epitel 10 kali dan ada morfotipe bakteri tunggal sebanyak 3+ sampai dengan 4+.³⁸
- Kualitas sputum yang baik menurut Bartlett: Bila penghitungan skor pada tabel 1 berjumlah ≥ 1 .²⁰
- Kualitas sputum yang baik menurut Musher dkk: Jika jumlah leukosit ≥ 10 kali lebih banyak dari jumlah epitel dengan menggunakan perbesaran 400x.²³

3.7 Alur Penelitian



3.8 Cara Kerja

3.8.1 Pengambilan sampel sputum

Pengambilan sampel sputum dilakukan di IGD atau ruang rawat RSUD Budhi Asih. Pengambilan sampel sputum dilakukan oleh pasien sendiri dibawah supervisi perawat atau dokter. Cara pengambilan sampel sputum sebagai berikut:

Sputum ekspektoran/spontan

- a. Sebelum pengambilan spesimen sputum, pasien berkumur dengan air matang. Bila memakai gigi palsu, sebaiknya dilepas terlebih dahulu
- b. Pasien diberikan penjelasan mengenai pemeriksaan dan tindakan yang akan dilakukan, dan dijelaskan bahwa yang diminta adalah sputum, sedangkan air liur dan sekret hidung tidak diperkenankan
- c. Posisi pasien berdiri tegak atau duduk tegak
- d. Pasien diminta menarik nafas 2 – 3 kali kemudian keluarkan nafas bersamaan dengan batuk yang kuat dan berulang sampai sputum keluar
- e. Sputum yang dikeluarkan ditampung langsung di dalam wadah dengan cara mendekatkan wadah ke mulut
- f. Wadah ditutup dengan erat dan cuci tangan, kemudian sputum segera dikirim dalam waktu ≤ 2 jam pada suhu kamar. Jika terjadi penundaan, spesimen dapat disimpan pada suhu 4°C selama ≤ 24 jam

Sputum induksi

- a. Sputum induksi hanya dilakukan bila pasien tidak dapat mengeluarkan sputum ekspektoran
- b. Pasien diminta kumur dengan air matang setelah terlebih dahulu menyikat gigi dan lidah, jangan gunakan pasta gigi
- c. Kemudian inhalasi dilakukan dengan bantuan nebulizer yang mengandung 25 ml air garam steril dengan konsentrasi 3 – 10% untuk induksi sputum
- d. Spesimen dikumpulkan dalam kontainer steril dengan cara seperti sputum ekspektoran
- e. Sputum yang sudah ditampung segera dikirim dalam waktu ≤ 2 jam pada suhu kamar. Jika terjadi penundaan, maka spesimen dapat disimpan pada suhu 4°C selama ≤ 24 jam

3.8.2 Pewarnaan Gram

- a. Kaca objek dibersihkan dan dilewatkannya di api untuk menghilangkan kotoran dan lemak.
- b. Pada kaca objek diberi label dan dibuat lingkaran dengan diameter 2-3 cm di bagian bawah kaca objek dengan pensil penanda
- c. Pada kaca objek dibuat sediaan spesimen sputum, yaitu dengan mengambil bagian yang purulent kemudian disebar di atas kaca objek dengan menggunakan ose secara merata, keringkan sebentar kemudian sediaan direkatkan dengan dilewatkan di atas nyala api dua sampai tiga kali.
- d. Kemudian crystal violet dituang pada kaca objek dan dibiarkan selama 1 menit.
- e. Dengan air mengalir kaca objek dicuci secara perlahan.
- f. Selanjutnya cairan lugol dituangkan dan dibiarkan selama 1 menit.
- g. Dengan air mengalir sediaan dicuci secara perlahan.
- h. Kemudian etil alkohol 95% diteteskan beberapa detik sampai tidak ada lagi zat warna ungu yang mengalir di sediaan kaca objek.
- i. Setelah itu dicuci kembali dengan air mengalir secara perlahan.
- j. Kemudian safranin dituangkan pada kaca objek dan ditunggu selama 30 detik sampai 1 menit, lalu dicuci kembali dengan air dan kaca objek dikeringkan di udara.
- k. Setelah kering sediaan dapat dilihat di bawah mikroskop dengan perbesaran 10x10, untuk menilai kualitas sputum, kemudian dilihat dengan perbesaran 10x100 setelah sebelumnya diberi minyak emersi.
- l. Kemudian kualitas sputum (jumlah epitel dan leukosit), dan bakteri yang terlihat di catat.

Tabel 3.1. Pelaporan Hasil Pewarnaan Gram.¹⁹

Enumerasi sel di bawah lapang pandang rendah	Deskripsi tipe sel untuk dilaporkan	Enumerasi bakteri di bawah per lapang pandang imersi
Hitung setiap sel dan laporkan sebagai berikut:	Sel epitel PMN Sel darah merah	Hitung bakteri dan ragi dan laporkan sebagai berikut:
1+ (jarang): < 1/LPF		1+ (jarang): < 1/OIF
2+ (sedikit): 1-9/LPF		2+ (sedikit): 1-5/OIF
3+ (sedang): 10-25/LPF		3+ (sedang): 6-30/OIF
4+ (banyak): > 25/LPF		4+ (banyak): > 30/OIF

Diterjemahkan dari Garcia LS. 2010¹⁸

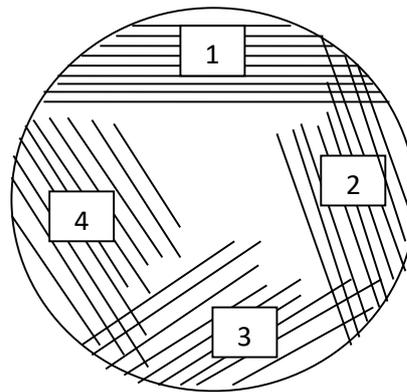
3.8.3 Isolasi dan penanaman bakteri pada media agar

Setelah penilaian kualitas sputum, maka sputum dengan jumlah epitel < 10 per lapang pandang lemah dan leukosit +3 sampai dengan +4 akan dilanjutkan pemeriksaan kultur. Prinsip teknik *streak* ini yaitu mendapatkan koloni yang benar-benar terpisah dari koloni yang lain, sehingga mempermudah proses identifikasi menggunakan mesin vitex.

- a) Media agar darah, agar cokelat dan agar McConkey disiapkan, kemudian gunakan ose/sengkelit steril untuk mengambil sputum pada pot penampung sputum.
- b) Kemudian sputum ditanam di agar darah, dan agar McConkey yang telah diberi label untuk identifikasi
- c) Cara menanam adalah dengan mengambil sputum dengan menggunakan ose/sengkelit, kemudian mengoleskan/menggoreskan sengkelit pada media agar, dilakukan dengan cara membagi cawan petri menjadi 4 kuadran. Pada kuadran pertama, goresan dilakukan beberapa kali dalam bentuk zigzag membentuk garis horisontal permukaan media agar di dalam cawan. Setelah beberapa garis terbentuk, lalu pindah ke kuadran kedua. Pada kuadran kedua, dilakukan mulai dari tepi atas kuadran dengan ujung bersentuhan dengan ujung terakhir olesan pada kuadran pertama, lakukan dengan cara yang sama yaitu mengoleskan beberapa kali secara zigzag dan membentuk

garis horisontal, pindah ke kuadran berikutnya hingga akhirnya seluruh kuadran telah ditanami bakteri.

- d) Simpan media yang telah ditanam dengan bakteri di dalam inkubator dengan suhu 37°C, setelah 18-24 jam kemudian baru dilihat pertumbuhan koloni kuman yang ada.



Gambar 3.1. Cara melakukan goresan (*streak*) untuk penanaman kuman

3.8.4 Identifikasi bakteri gram negatif menggunakan mesin Vitex 2

- Pertama dibuat suspensi kuman tersangka dengan kekeruhan 0,5 – 0,63 McFarland
- Ose dibakar dengan bunsen, pilih koloni tersangka dan masukkan ke dalam tabung NaCl, lakukan *spooling* agar suspensi tercampur rata
- Kekeruhan dipastikan dengan menggunakan nephelometer. Jika larutan > 0,5 – 0,63 McFarland, encerkan dengan menambahkan NaCl pada larutan. Jika larutan < 0,5 McFarland, tambahkan koloni kuman dengan menggunakan ose
- Kemudian pipet sebanyak 145 ul dari tabung tersebut kemudian masukkan ke dalam tabung ke 2 yang hanya berisi NaCl, naik dan turunkan sehingga tercampur merata.
- Letakkan 2 tabung yang sudah dipersiapkan tersebut pada rak yang sudah disiapkan, kemudian beri kit GN pada tabung 1 yang digunakan untuk uji identifikasi bakteri, dan kit AST pada tabung ke 2 untuk uji resistensi.
- Masukkan ke mesin Vitek dan hasil identifikasi dan uji kepekaan antibiotik akan keluar dalam waktu 5 – 8 jam.

3.8.5 Identifikasi bakteri gram positif menggunakan mesin Vitex 2

- a. Pertama dibuat suspensi kuman tersangka dengan kekeruhan 0,5 – 0,63 McFarland
- b. Ose dibakar dengan bunsen, pilih koloni tersangka dan masukkan ke dalam tabung NaCl, lakukan *spooling* agar suspensi tercampur rata
- c. Kekeruhan dipastikan dengan menggunakan nephelometer. Jika larutan > 0,5 – 0,63 McFarland, encerkan dengan menambahkan NaCl pada larutan. Jika larutan < 0,5 McFarland, tambahkan koloni kuman dengan menggunakan ose
- d. Kemudian pipet sebanyak 280 ul dari tabung tersebut kemudian masukkan ke dalam tabung ke 2 yang hanya berisi NaCl, naik turunkan sehingga tercampur merata.
- e. Letakkan 2 tabung yang sudah dipersiapkan tersebut pada rak yang sudah disiapkan, kemudian beri kit GP pada tabung 1 yang digunakan untuk uji identifikasi bakteri, dan kit AST pada tabung ke 2 untuk uji resistensi.
- f. Masukkan ke mesin Vitek dan hasil identifikasi dan uji kepekaan antibiotik akan keluar dalam waktu 5 – 8 jam.

3.8.6 Protokol pengelolaan sputum untuk pemeriksaan PneumoCLART Bacteria dan Pneumovir

- a. Tambahkan *Buffer Saline* steril kedalam sampel sputum dengan perbandingan 1:1
- b. Vortex selama 1 menit
- c. Masukkan kedalam eppendorf masing-masing 200 ul untuk pneumovir dan 400 ul untuk pneumoCLART bacteria, sisa sputum masukkan kedalam eppendorf dan simpan pada -80°C

3.8.7 Ekstraksi DNA sputum untuk pemeriksaan PneumoCLART Bacteria dengan Qiagen DNA mini kit

- a. Lakukan sentrifus pada 400 ul sampel sputum yang sudah dipisahkan dengan kecepatan 12.000 rpm selama 30 menit untuk memisahkan pellet dengan supernatant
- b. Sisakan pellet dan buang supernatant nya

- c. Tambahkan proteinase K 20 ul, kemudian tambahkan buffer ATL sebanyak 180 ul
- d. Kemudian vorteks selama 15 detik
- e. Inkubasi pada suhu 56°C selama 16 jam, untuk melisiskan sel bakteri
- f. Setelah inkubasi selesai lakukan sentrifus selama 15 detik
- g. Tambahkan buffer AL sebanyak 200 ul, kemudian vortex 15 detik
- h. Inkubasi lagi pada suhu 70°C selama 10 menit
- i. Setelah selesai lakukan sentrifus selama 15 detik, kemudian tambahkan ethanol 96-100% sebanyak 200 ul
- j. Vorteks lagi selama 15 detik, kemudian sentrifus selama 15 detik
- k. Kemudian pindahkan 600 ul cairan tersebut ke QIAMP DNA mini spin column
- l. Sentrifus column 12.000 rpm selama 1 menit
- m. Buang tabung yang berisi filtrat dan ganti dengan tabung yang baru
- n. Tambahkan buffer AW1 sebanyak 500 ul
- o. Sentrifus column 12.000 rpm selama 1 menit
- p. Buang tabung yang berisi filtrat dan ganti dengan tabung yang baru
- q. Tambahkan buffer AW2 sebanyak 500 ul
- r. Sentrifus column 12.000 rpm selama 3 menit
- s. Buang filtrat yang ada pada tabung
- t. Sentrifus column kosong 12.000 rpm selama 1 menit, kemudian buang tabung yang berisi filtrat
- u. Letakkan QIAMP DNA mini spin column pada tabung eppendorf yang baru
- v. Tambahkan buffer AE 40 ul
- w. Inkubasi pada suhu ruang selama 5 menit
- x. Kemudian sentrifus 12.000 rpm selama 2 menit

3.8.8 Mix PCR PneumoCLART Bacteria

- a. Master mix sudah dalam bentuk jadi pada tabung yang berisi 45ul
- b. Vorteks selama beberapa detik
- c. Kemudian tambahkan 5 ul sampel DNA yang sudah diekstraksi campuran dengan dipipet naik dan turun beberapa kali

3.8.9 PCR PneumoCLART Bacteria

- a. Tempatkan tube PCR yang terdiri dari campuran DNA dan mix PCR dalam mesin PCR, dan mulai program PCR
 - i. 95°C, 15 menit
 - ii. 95°C, 30 detik
 - iii. 59°C, 1 menit
 - iv. 72°C, 1 menit
 - v. 72°C, 10 menit
- } 45 kali

3.8.10 Deteksi dengan menggunakan PneumoCLART Bacteria

- a. Ambil 10 ul produk PCR dalam tube PCR baru
- b. Inkubasi pada 95°C 10 menit di mesin PCR (denaturasi)
- c. Segera letakkan produk PCR diatas es sampai digunakan
- d. Siapkan larutan pencuci (LP)
- e. Masukkan kedalam sumur 200 ul LP
- f. Pipet naik turun 10 – 15 kali dan keringkan dengan vakum
- g. Tambahkan 100 ul larutan SH pada sumur yang sudah dihangatkan 56°C
- h. Ambil masing-masing 5 ul produk PCR tabung yang sudah didenaturasi, pipet naik turun beberapa kali (7 kali)
- i. Inkubasi 56°C, 1 jam 550 rpm (setelah selesai keringkan dengan vakum)
- j. Atur thermomixer 30°C, kemudian siapkan larutan konjugat (LC)
- k. Cuci sumur 2 kali dengan 200 ul LP, pipet naik turun 10 – 15x, kemudian keringkan dengan vakum
- l. Tambahkan 100 ul LC, kemudian inkubasi 30°C, 15 menit, 550 rpm
- m. Atur thermomixer 25°C
- n. Cuci sumur 3 kali dengan 200 ul LP (cuci dengan cepat), kemudian keringkan dengan vakum
- o. Tambahkan 100 ul RE, lalu Inkubasi 25°C, 10 menit, 0 rpm
- p. Sisa RE keringkan dengan vakum
- q. Letakkan sumur pada CAR (*Clinical Array Reader*)

3.8.11 Ekstraksi DNA sputum untuk pemeriksaan Pneumovir dengan menggunakan kit Genomica

- a. Siapkan sampel sputum sebanyak 200 ul, yang sudah dipisahkan pada Eppendorf
- b. Tambahkan SEML (liquid sample extraction solution) sebanyak 600 ul
- c. Campurkan dengan membalikkan tabung beberapa kali
- d. Inkubasi pada suhu ruang selama 15 menit
- e. Tambahkan isopropanol 500 ul
- f. Kemudian campurkan dengan membalikkan tabung beberapa kali
- g. Setelah itu sentrifus pada suhu 4°C, 13.000 rpm selama 20 menit
- h. Buang supernatant dan sisakan pellet saja
- i. Tambahkan ethanol 70% sebanyak 1000 ul
- j. Setelah itu sentrifus pada suhu 4°C, 13.000 rpm selama 15 menit
- k. Buang supernatant dan sisakan pellet saja
- l. Pelet dibiarkan mengering sampai tidak ada residu etanol yang tersisa
- m. Kemudian resuspensi dengan DS (*Dilution Solution*) sebanyak 20 ul

3.8.12 Mix PCR pneumovir

- a. Sudah dalam bentuk jadi dalam tabung putih dan tabung hijau yang masing-masing berisi 43 ul
- b. Tambahkan enzim yang sudah disediakan dalam kit kedalam tabung putih dan hijau masing-masing 2 ul
- c. Tambahkan DNA sampel 5 ul, kemudian campurkan dengan memipet naik dan turun selama beberapa kali

3.8.13 PCR pneumovir

- a. Tempatkan tube PCR yang terdiri dari campuran DNA dan mix PCR dalam mesin PCR, dan mulai program PCR
 - i. 45°C, 45 menit
 - ii. 95°C, 15 menit
 - iii. 95°C, 30 detik
 - iv. 50°C, 1,5 menit
 - v. 68°C, 1 menit
 - vi. 68°C, 10 menit → 1 siklus

3.8.14 Deteksi dengan menggunakan pneumovir

- a. Ambil 10 ul produk PCR dalam tabung PCR baru
- b. Inkubasi pada 95°C 8 menit di mesin PCR (denaturasi)
- c. Segera letakkan produk PCR diatas es sampai digunakan
- d. Siapkan larutan pencuci (LP)
- e. Masukkan kedalam sumur sebanyak 200 ul LP
- f. Pipet naik turun 10 – 15 kali, kemudian keringkan dengan vakum
- g. Tambahkan 100 ul larutan SH pada sumur
- h. Ambil masing-masing 3 ul produk PCR tabung putih dan hijau yang sudah didenaturasi, kemudian pipet naik turun beberapa kali (7 kali)
- i. Inkubasi 59°C, 1 jam 550 rpm (setelah selesai keringkan dengan vakum)
- j. Atur thermomixer 30°C, dan siapkan larutan konjugat (LC)
- k. Cuci sumur 2 kali dengan 200 ul LP, pipet naik turun 10 – 15 kali, kemudian keringkan dengan vakum
- l. Tambahkan 100 ul LC, kemudian inkubasi 30°C, 15 menit, 550 rpm
- m. Atur thermomixer 25°C
- n. Cuci sumur 3 kali dengan 200 ul LP (cuci dengan cepat), kemudian keringkan dengan vakum
- o. Tambahkan 100 ul RE, kemudian inkubasi 25°C, 10 menit, 0 rpm
- p. Sisa RE keringkan dengan vakum
- q. Letakkan sumur pada CAR (*Clinical Array Reader*)

3.9 Analisis Data

Data yang diperoleh ditabulasi dan diolah dengan menggunakan perangkat lunak SPSS versi 21.0 dan di analisis dengan uji *Chi-square* atau dengan uji *Fisher* bila jumlah data sedikit. Data yang terkumpul akan disajikan dalam bentuk narasi, tabel dan grafik.

3.10 Persetujuan Etik

Penelitian ini telah lulus kaji etik dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dengan surat nomor 607/UN2.F1/ETIK/2016.

BAB 4

HASIL PENELITIAN

4.1 Penilaian Kelayakan Spesimen

Penelitian dilakukan terhadap pasien dewasa penderita pneumonia komunitas dan memenuhi kriteria inklusi selama periode September 2016 – Februari 2017 di RSUD Budhi Asih, sejumlah 100 orang, dengan karakteristik responden ditabel bawah ini (tabel 4.1)

Tabel 4.1. Sebaran karakteristik demografik Responden (n=100)

Karakteristik demografik	Jumlah	Persen
Jenis kelamin		
Laki-laki	67	67
Wanita	33	33
Usia		
18 – 24 tahun	11	11
25 – 44 tahun	25	25
45 – 64 tahun	43	43
≥ 65 tahun	21	21

Dari semua penderita tersebut, kelompok usia terbanyak adalah usia 45 - 64 tahun yaitu 43 orang (43%), dengan rentang usia 18 – 83 tahun dan usia rata-rata 50,40 dengan standar deviasi 16,729. Kisaran ini merupakan kelompok usia lanjut. Sedangkan kelompok usia yang kedua terbanyak adalah kelompok usia produktif atau kelompok usia dewasa dengan rentang usia 25 – 44 tahun yaitu sejumlah 25 orang (25%). Sedangkan kelompok usia yang paling sedikit adalah kelompok usia 18 – 25 tahun yaitu sejumlah 11 orang (11%). (Tabel 4.1)

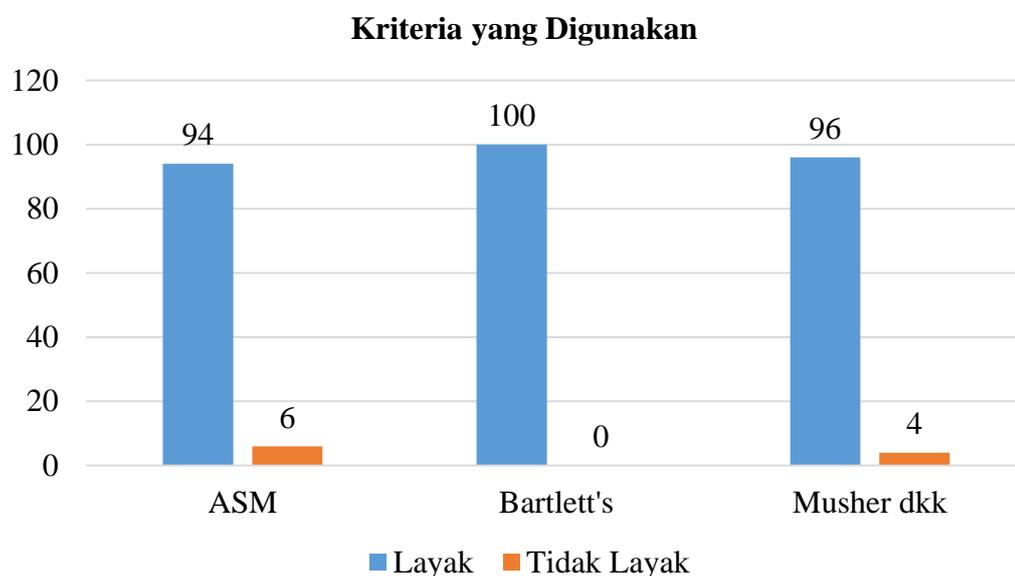
Dari seluruh spesimen yang berhasil dikumpulkan, didapatkan jumlah spesimen yang memiliki jumlah epitel < 10/LPF dan leukosit ≥ 10/LPF yaitu sebanyak 94 (94%) spesimen, sedangkan 6 (6%) spesimen memiliki jumlah epitel ≥ 10/LPF dan leukosit ≥ 10/LPF dengan perbandingan leukosit dengan epitel lebih dari 2,5 kali.

Tabel 4.2 Analisis Jumlah Epitel dan Leukosit Spesimen Sputum Terhadap Hasil Kultur (n=100)

Jumlah epitel dan leukosit	Ditemukan patogen	Tidak ditemukan patogen	Jumlah
Epitel \leq 9, Leukosit $>$ 9	56	38	94
Epitel $>$ 9, Leukosit $>$ 9	2	4	6
Jumlah	58	42	100

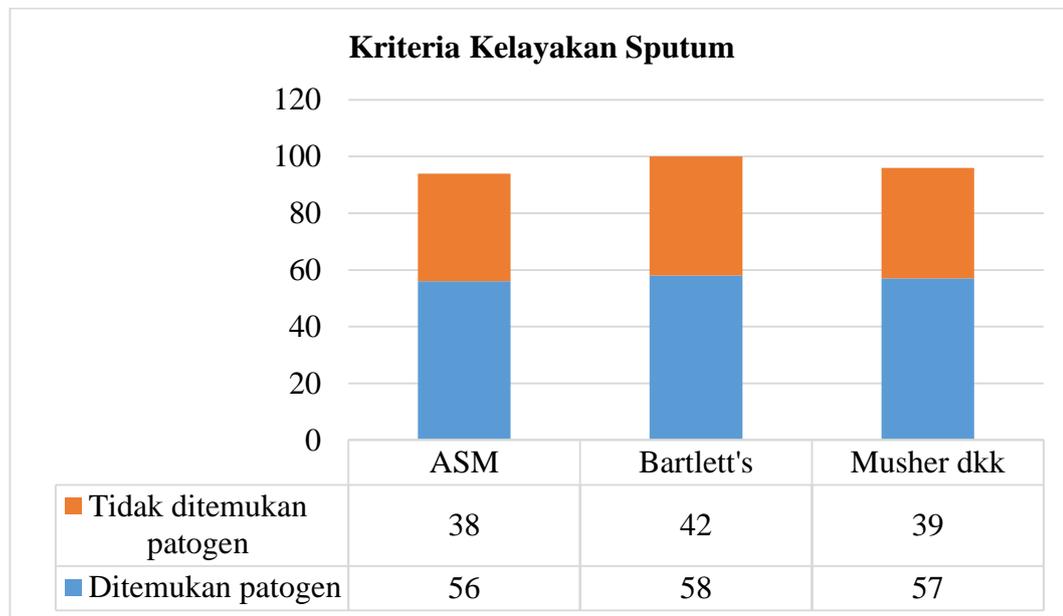
p=0.235

Dari tabel 4.2 didapatkan jumlah spesimen memiliki epitel \leq 9/LPF dan leukosit $>$ 9/LPF sebanyak 94 spesimen, 38 spesimen tidak ditemukan patogen penyebab CAP, dan 56 spesimen dapat ditemukan bakteri patogen. Sedangkan dari 6 spesimen sputum dengan jumlah epitel dan leukosit $>$ 9/LPF, 4 spesimen tidak ditemukan bakteri patogen penyebab CAP. Secara statistik tidak terdapat hubungan yang bermakna antara jumlah epitel dan leukosit dengan ditemukan atau tidaknya patogen penyebab ($p>0.05$).



Gambar 4.1 Kelayakan Spesimen Berdasarkan Kriteria ASM, Bartlett's dan Kriteria yang digunakan oleh Musher dkk (n=100)

Berdasarkan gambar 4.1 dapat dilihat kelayakan spesimen menggunakan 3 kriteria yang berbeda (ASM, Bartlett's dan Kriteria yang digunakan oleh Musher dkk), didapatkan spesimen yang layak jumlahnya berbeda, yaitu masing-masing 94 (ASM), 100 (Bartlett's) dan 96 (Kriteria yang digunakan Musher dkk).



Gambar 4.2 Analisis Mikroskopik dengan Pewarnaan Gram dengan Kriteria ASM, Bartlett's dan Musher dkk Terhadap Hasil Kultur

Pada gambar 4.2 didapatkan jumlah spesimen sputum layak yang berbeda, setelah dilakukan penilaian kelayakan spesimen sputum menggunakan 3 kriteria yang berbeda, yaitu menggunakan kriteria ASM, kriteria Bartlett's dan kriteria yang digunakan oleh Musher dkk.

Tabel 4.3 Analisis Perbandingan Kelayakan Spesimen Sputum Berdasarkan Kriteria ASM dan Bartlett's Terhadap Hasil Kultur dan PCR

Kriteria spesimen layak	Ditemukan patogen	Tidak Ditemukan patogen	Jumlah
ASM	63	31	94
Bartlett's	65	35	100
Jumlah	128	66	194

p=0,766

Berdasarkan tabel 4.3, dapat dilihat tidak ada perbedaan bermakna antara kriteria kelayakan spesimen berdasarkan ASM dengan kriteria Bartlet dihubungkan dengan ditemukan atau tidaknya patogen penyebab CAP ($p>0,05$).

Tabel 4.4 Analisis Perbandingan Kelayakan Spesimen Sputum Berdasarkan Kriteria ASM dan Musher Terhadap Hasil Kultur dan PCR

Kriteria spesimen layak	Ditemukan patogen	Tidak Ditemukan patogen	Jumlah
ASM	63	31	94
Musher	64	32	96
Jumlah	127	63	190

p=0.959

Berdasarkan tabel 4.4, dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna antara kriteria kelayakan spesimen berdasarkan ASM dengan kriteria yang digunakan oleh Musher dkk, yang dihubungkan dengan ditemukan atau tidaknya patogen penyebab CAP ($p>0,05$).

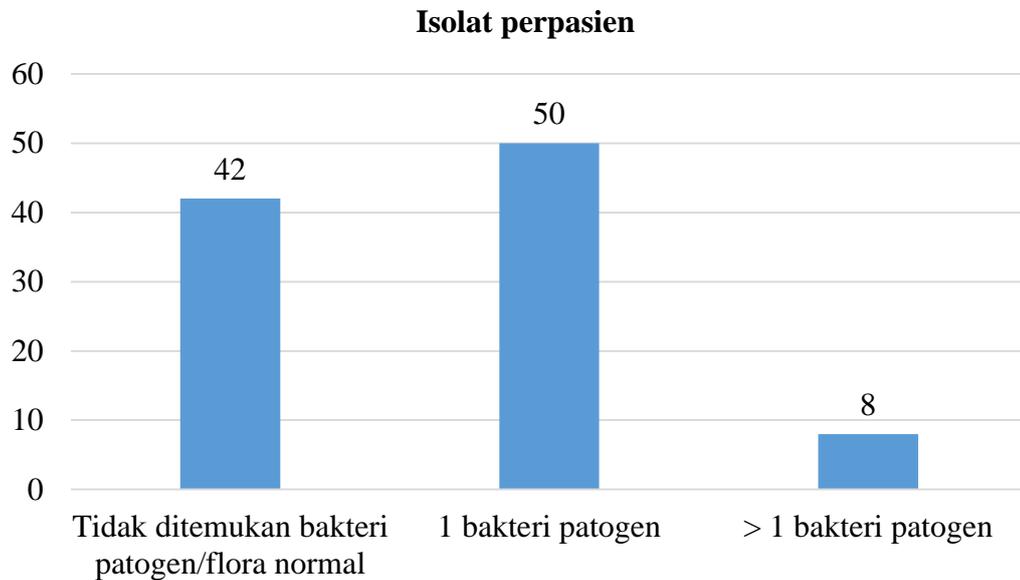
Tabel 4.5 Analisis Perbandingan Kelayakan Spesimen Sputum Berdasarkan Kriteria Bartlett's dan Musher Terhadap Hasil Kultur dan PCR

Kriteria spesimen layak	Ditemukan patogen	Tidak Ditemukan patogen	Jumlah
Bartlett's	65	35	100
Musher	64	32	96
Jumlah	129	67	196

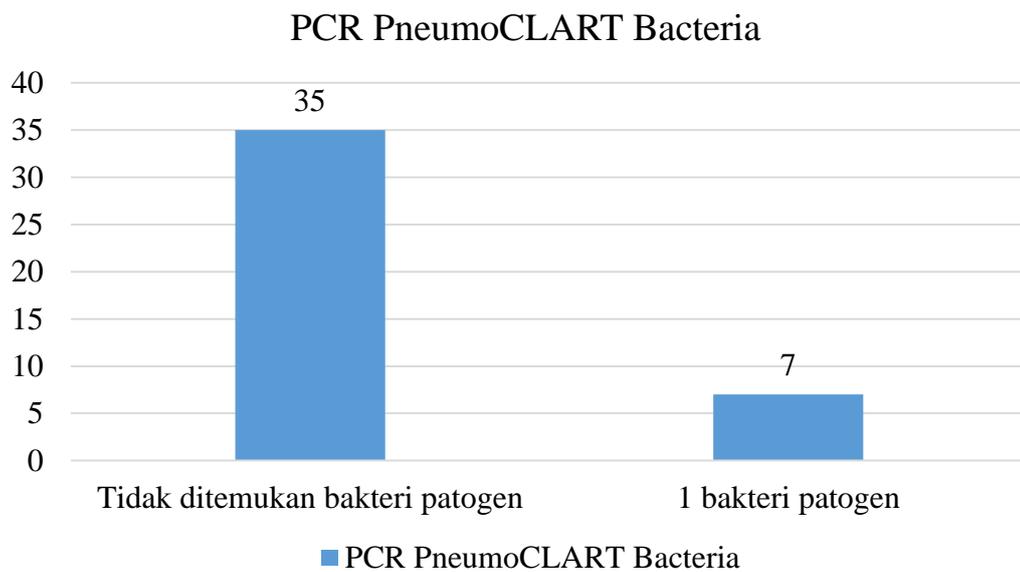
p=0.806

Berdasarkan tabel 4.5, dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna antara kriteria kelayakan spesimen berdasarkan kriteria Bartlet dengan kriteria yang digunakan oleh Musher dkk, yang dihubungkan dengan ditemukan atau tidaknya patogen penyebab CAP ($p>0,05$).

4.2 Hasil Pemeriksaan Mikrobiologi pada Penderita CAP



Gambar 4.3 Sebaran Jumlah Patogen Menurut Jumlah Isolat Sputum (n=100)



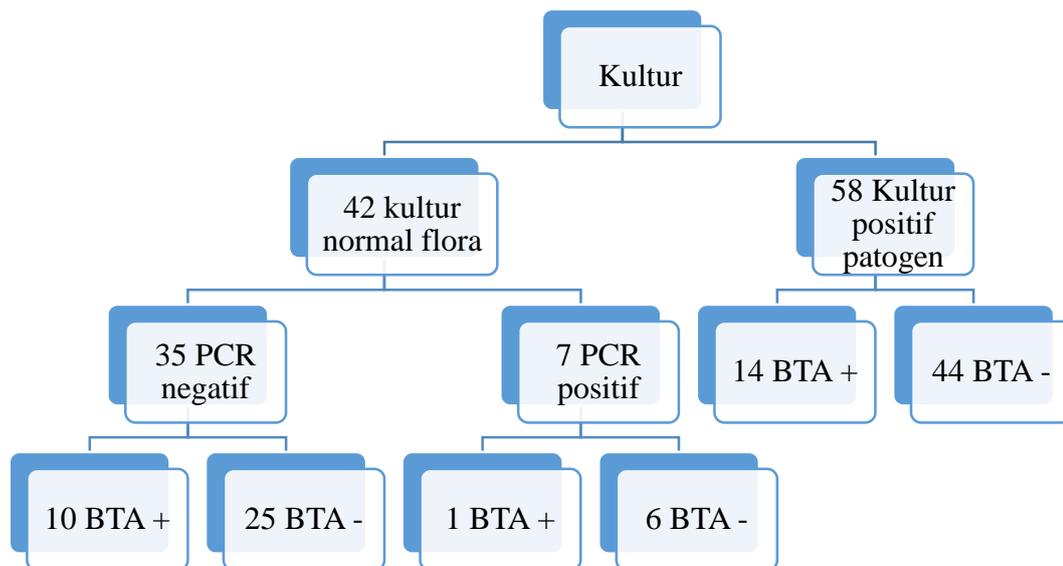
Gambar 4.4 Hasil PCR Sputum (n=42)

Berdasarkan pemeriksaan PCR pneumoCLART Bacteria pada sputum yang hasil kulturnya negatif, ternyata didapatkan 7 orang pasien (16,7%) ditemukan bakteri patogen, sedangkan 35 orang pasien (83,3%) tidak ditemukan bakteri patogen. (Gambar 4.4)

Tabel 4.6 Gambaran Bakteri dari Spesimen Sputum (n=100)

Jenis Mikroorganisme	Jumlah	Persen
<i>Normal flora</i>	35	32,4
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	32	29,6
<i>Acinetobacter baumannii</i>	11	10,2
<i>Enterobacter cloacae</i>	5	4,6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5	4,6
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	4,6
<i>Moraxella catarrhalis</i>	4	3,7
<i>Enterobacter aerogenes</i>	3	2,8
<i>Escherichia coli</i>	3	2,8
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2	1,9
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	2	1,9
<i>Citrobacter koseri</i>	1	0,9
Jumlah	108	100

Dari hasil penelitian didapatkan jumlah bakteri terbanyak yang ditemukan pada pasien CAP adalah *Klebsiella pneumoniae* sebanyak 29,6%, kemudian berturut-turut diikuti *Acinetobacter baumannii* 10,2%, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* sebanyak 4,6%, *Moraxella catarrhalis* sebanyak 3,7%, *Enterobacter aerogenes* dan *Escherichia coli* sebanyak 2,8%, *Streptococcus pneumoniae* dan *Mycoplasma pneumoniae* sebanyak 1,9%, serta *Citrobacter koseri* 0,9%. Sedangkan spesimen yang masih tidak ditemukan bakteri penyebab sebanyak 32,4%. (Tabel 4.6)



Gambar 4.5. Ringkasan Jumlah Bakteri yang Ditemukan Pada Pemeriksaan Kultur, PCR dan BTA.

4.3 Analisis Pengaruh Pemberian Antibiotik Intravena Terhadap Hasil Kultur

Berdasarkan data penelitian yang didapatkan, sebanyak 43 (43%) orang pasien belum mendapatkan terapi antibiotik sebelum pengambilan spesimen sputum, sedangkan kelompok pasien yang sudah mendapatkan antibiotik sebelum pengambilan spesimen sputum yaitu sebanyak 57 (57%) pasien.

Tabel 4.7 Pengaruh Pemberian Antibiotik Intravena <24 jam Sebelum Pengambilan Spesimen Sputum Terhadap Hasil Kultur (n=100)

Pemberian Antibiotik	Ditemukan patogen (%)	Tidak Ditemukan patogen (%)	Jumlah
Belum	26 (60,5)	17 (39,5)	43
Sudah	32 (56)	25 (44)	57
Jumlah	58	42	100

p=0.664

Berdasarkan tabel 4.7, dapat dilihat secara statistik tidak terdapat hubungan yang bermakna antara pemberian antibiotik dalam waktu kurang dari 24 jam dengan ditemukan atau tidaknya patogen penyebab ($p>0.05$).

BAB 5

PEMBAHASAN

5.1 Penilaian Kelayakan Spesimen

Telah dilakukan penelitian terhadap 100 orang pasien pneumonia komunitas di RSUD Budhi Asih dari bulan September 2006 sampai dengan bulan Februari 2017. Dari data penelitian, didapatkan 67 pasien (67%) berjenis kelamin laki-laki dan 33 pasien (33%) berjenis kelamin perempuan. Pada penelitian ini didapatkan rentang usia pasien 18 – 83 tahun, dengan mean usia $50,40 \pm 16,729$. Berdasarkan kelompok umur terbanyak pasien CAP pada penelitian ini adalah kelompok usia lanjut yaitu 45 – 64 tahun, sebanyak 43%, yang diikuti oleh kelompok usia dewasa (25 – 44 tahun) sebanyak 25%, usia manula (≥ 65 tahun) sebanyak 21%, dan yang paling sedikit adalah usia dewasa (18 – 24 tahun) sebanyak 11%.

Dari hasil kelayakan spesimen sputum berdasarkan masing-masing kriteria (ASM, Bartlett dan Musher dkk) tidak didapatkan perbedaan jumlah yang signifikan, dengan jumlah spesimen sputum yang layak yaitu 94 menurut kriteria ASM, 100 menurut kriteria Bartlett dan 96 menurut kriteria Musher dkk. Begitu juga saat dilakukan analisis hubungan masing-masing kriteria dengan ditemukannya patogen penyebab, berdasarkan uji *chi-square* yang dilakukan masing-masing kriteria terhadap ditemukan atau tidaknya patogen penyebab CAP, didapatkan hasil tidak ada perbedaan yang signifikan baik ASM dengan Bartlett, ASM dengan Musher dkk, dan Bartlett dengan Musher dkk ($p > 0,05$). Hal ini dapat disebabkan karena jumlah spesimen yang tidak berbeda jauh dengan masing-masing kriteria, karena sejak awal penelitian telah dilakukan skrining terhadap kelayakan spesimen, berdasarkan jumlah epitel < 10 atau jumlah leukosit 2,5 kali dari jumlah epitel.

Jumlah patogen yang ditemukan atau angka kepositifan berdasarkan masing-masing kriteria yaitu ASM 67% (63/94), Bartlett 65% (65/100) dan Musher dkk 66,7% (64/96). Hasil ini sedikit berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Jean-Jacques dkk yang mendapatkan angka kepositifan sampel sputum dibandingkan terhadap hasil kultur sebesar 57%.³⁹ Hasil penelitian lain yang dilakukan oleh Mariraj dkk menggunakan kriteria Bartlett menunjukkan hasil yang

tidak berbeda dengan penelitian yang telah dilakukan, yaitu didapatkan sebesar 63% sampel yang ditemukan patogen dari hasil kultur.¹⁸ Studi lain yang dilakukan oleh Musher dkk menggunakan kriteria jumlah leukosit ≥ 10 kali jumlah epitel pada pasien bakteremia pneumokokus pneumonia, didapatkan angka kepositifan pewarnaan gram sebesar 31%.²³ Studi lain yang menggunakan kriteria kelayakan sputum dengan jumlah sel epitel < 10 dan jumlah sel PMN ≥ 25 dengan perbesaran lemah (100x) yang dilakukan oleh Garcia dkk dan Miyashita dkk, didapatkan hasil kultur yang ditemukan patogen dari kualitas sputum yang baik masing-masing sebesar 45% dan 65%.^{34,40}

5.2 Hasil Pemeriksaan Mikrobiologi pada Penderita CAP

Dari hasil penelitian yang dilakukan terhadap 100 pasien CAP, didapatkan sebanyak 58% diketahui etiologi bakteri yang menyebabkan infeksi, sedangkan, sedangkan 42% masih belum diketahui melalui pemeriksaan kultur sputum, namun setelah dilakukan pemeriksaan pneumoCLART bacteria dari 42 sampel yang tidak diketahui penyebabnya, didapatkan 7 sampel yang dapat diidentifikasi penyebabnya, sedangkan 35 sampel (35%) masih tidak ditemukan penyebabnya. Hasil ini tidak berbeda jauh dengan penelitian yang dilakukan oleh Farida dkk di Semarang, dimana sebanyak 32% etiologi yang masih belum diketahui penyebabnya.⁵ Dari 35 sampel yang tidak diketahui penyebabnya setelah dilakukan pemeriksaan BTA, 10 sampel diantaranya BTA +. Total sampel yang didapatkan BTA + sebanyak 25 sampel sputum, 15 diantaranya koinfeksi dengan bakteri sedangkan 10 sampel BTA + didapat dari sampel yang tidak ditemukan bakteri penyebab baik setelah pemeriksaan kultur, maupun PCR.

Dari penelitian yang dilakukan di Iran oleh Naderi dkk, etiologi CAP yang tidak diketahui sebesar 40%.¹⁵ Hasil yang sangat jauh berbeda didapatkan oleh Shrestha dkk yang melakukan penelitian di Nepal, dimana didapatkan etiologi yang tidak diketahui sebagai penyebab CAP sebesar 76% kasus.⁹

Dari hasil kultur dan PCR yang telah dilakukan pada sputum, didapatkan 57 bakteri tunggal yang menjadi penyebab, sedangkan 8 spesimen ditemukan 2 bakteri penyebab, dengan koinfeksi penyebabnya yang berbeda masing-masing diantaranya adalah *Enterobacter cloacae* dan *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella*

pneumoniae dan *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* dan *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* dan *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli* dan *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae* dan *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* dan *Escherichia coli*.

Pola etiologi terbanyak yang didapatkan dari penelitian didominasi oleh bakteri gram negatif, diantaranya adalah *Klebsiella pneumoniae* sebanyak 32 (29,6%) isolat, *Acinetobacter baumannii* 11 (10,2%) isolat dari total 108 isolat. Hasil ini tidak berbeda jauh dengan beberapa penelitian yang telah dilakukan, diantaranya studi yang dilakukan pada pasien rawat inap pneumonia komunitas di RS Pesahabatan, dimana didapatkan penyebab CAP terbanyak adalah bakteri gram negatif yang mirip dengan hasil penelitian ini, diantaranya adalah *Klebsiella pneumoniae* sebesar 34% dan *Acinetobacter baumannii* sebesar 19,1%.⁴¹ Sedangkan hasil dari studi yang dilakukan di Semarang oleh Farida dkk, didapatkan hasil etiologi bakteri CAP terbanyak adalah *Klebsiella pneumoniae* sebanyak 14% dan *Streptococcus pneumoniae* (13%).⁵ Begitu juga dengan hasil penelitian dari RSUD Zainoel Abidin, Banda Aceh, yang mendapatkan etiologi terbanyak CAP adalah *Klebsiella pneumoniae* (47,7%) dan diikuti oleh *Streptococcus pneumoniae* (20%).⁴² Hasil ini juga hampir sama dengan. Studi lain di Kamboja pada pasien infeksi akut saluran nafas bawah, didapatkan *Klebsiella pneumoniae* sebagai penyebab infeksi sebesar 8%.⁴³

Sedangkan hasil ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Naderi dkk, Shrestra dkk, Lauderdale dkk, dan Wattanathum dkk, patogen terbanyak yang didapatkan sebagai penyebab CAP adalah *Streptococcus pneumoniae* dengan jumlah yang berkisar antara 15% - 38%.^{6,9,15,29,44,45} Sedangkan dari penelitian ini *Streptococcus pneumoniae* hanya didapatkan sebesar 1,9%. Hal ini dapat disebabkan kultur yang kurang optimal karena tidak menggunakan media agar darah gentamisin karena keterbatasan biaya. Perbedaan ini dapat disebabkan karena lokasi penelitian sehingga pola bakterinya berbeda atau dapat disebabkan penggunaan antibiotik yang secara luas di masyarakat Indonesia, khususnya Jakarta. Selain itu hasil ini dapat juga erat kaitannya dengan bakteri yang

berkolonisasi di nasofaring. Dari penelitian yang pernah dilakukan di Indonesia, dari penelitian yang dilakukan Farida dkk didapatkan kolonisasi *S. pneumoniae* sebesar 11% pada kelompok usia 45 – 75 tahun di Semarang.⁴⁶ Prevalensi karier *S. pneumoniae* yang lebih kecil didapatkan dari penelitian yang dilakukan oleh Dodi dkk di Jakarta, yaitu sebesar 3% pada kelompok usia ≥ 60 tahun.⁴⁷

Patogen yang berbeda didapatkan dari penelitian ini dibandingkan dengan negara-negara lain dapat disebabkan perbedaan kolonisasi nasofaring, hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Farida dkk di Semarang, pada penelitian tersebut didapatkan karier nasofaring terbanyak pada pasien dewasa adalah *Klebsiella pneumoniae* sebesar 15%, dan gram negatif lainnya sebesar 20%. Karier *Klebsiella pneumoniae* dan gram negatif lainnya lebih sering dan berkaitan dengan hygiene yang jelek, terutama kebersihan makanan dan air. *Klebsiella pneumoniae* dan gram negatif lainnya merupakan mikroflora enterik, yang dapat menjadi sebagai sumber kontaminasi, terutama pada negara dengan sanitasi yang buruk, dan orang-orang yang mengkonsumsi air yang terkontaminasi menjadi terkolonisasi. Karier *K. pneumoniae* dan gram negatif lainnya berperan penting dalam patogenesis pneumonia.⁴⁸

Sulit melakukan interpretasi pada kesesuaian mikroskopik gram dan kultur mengingat sputum melalui rongga mulut dan saluran nafas atas sehingga pasti akan terkontaminasi. Hal ini mengakibatkan penilaian morfologi sel bakteri pada mikroskopik sulit dilakukan untuk mengetahui dugaan kelompok bakteri penyebab (gram positif, gram negatif). Tapi pada keadaan tertentu, apabila bakteri memiliki kekhususan (misalnya *Streptococcus pneumoniae*) maka interpretasi dengan pewarnaan gram sangat berguna untuk membantu menentukan terapi empirik, atau apabila bakteri gram negatif terlihat dominan.

Bakteri atipik, seperti *Mycoplasma pneumoniae* perlu suplemen khusus, sehingga tidak dapat ditemukan baik dengan pemeriksaan mikroskopik dan kultur yang dilakukan dalam penelitian ini, sehingga diperlukan pemeriksaan PCR untuk mendeteksi bakteri atipik. Dari referensi juga didapatkan sensitivitas kultur terhadap *M. pneumoniae* sangat rendah, sehingga tidak dianjurkan untuk dilakukan

secara rutin, sehingga perlu dilakukan pemeriksaan PCR dan atau serologi untuk menegakkan diagnosis yang disebabkan oleh bakteri atipik.⁴⁹

Meskipun pasien dirawat dengan diagnosis awal CAP, namun ternyata dari penelitian diperoleh pasien CAP tersebut adalah penderita TB, dalam penelitian ini kami tidak melakukan *assessment* terhadap penyakit TB. Oleh karena itu untuk hasil pemeriksaan mikroskopik dan kultur negatif atau tidak ditemukan bakteri patogen, selain perlu dipertimbangkan pemeriksaan bakteri atipik sebaiknya juga dipikirkan pemeriksaan BTA atau kultur TB, terutama apabila hasil pemeriksaan atipik juga tidak ditemukan bakteri patogen.

5.3 Analisis Pemberian Antibiotik Intravena Terhadap Hasil Kultur

Dari hasil penelitian didapatkan tidak ada perbedaan bermakna antara pemberian antibiotik intravena <24 jam dengan yang belum mendapatkan antibiotik sebelum pengambilan sampel sputum terhadap kepositifan hasil kultur ($p>0,05$). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Miyashita dkk yang melaporkan bahwa tidak ada perbedaan hasil kepositifan kultur antara yang belum diberikan antibiotik dengan yang sudah mendapatkan antibiotik <24 jam saat pengambilan sampel sputum (80% vs 80%). Namun perbedaan yang bermakna terjadi pada kelompok yang sudah mendapatkan antibiotik >24 jam (44% vs 80%).³⁴ Hasil serupa juga ditunjukkan dari penelitian Musher dkk yang menunjukkan tidak ada perbedaan terhadap kepositifan hasil kultur antara yang belum mendapatkan antibiotik dengan yang sudah mendapatkan antibiotik <24 jam, sebaliknya bila dibandingkan dengan hasil kultur yang sudah mendapatkan antibiotik >24 jam terdapat penurunan kepositifan hasil kultur yang bermakna ($p=0,03$).²³

5.4 Keterbatasan Penelitian

1. Penelitian hanya berfokus pada etiologi bakteri saja
2. Penelitian ini tidak melakukan *assessment* terhadap TB sehingga kultur TB tidak dikerjakan
3. Penelitian ini tidak menggunakan media agar darah gentamisin untuk identifikasi *Streptococcus pneumoniae*

BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 KESIMPULAN

- a. Hipotesis diterima, yaitu tidak ada perbedaan bermakna antara ketiga kriteria pemilihan kelayakan sputum terhadap hasil kultur sputum dan PCR, sehingga dapat digunakan kriteria Bartlett's yang memiliki kriteria kelayakan yang lebih longgar sehingga jumlah penolakan spesimen sputum dapat berkurang
- b. Pola bakteri yang didapatkan adalah *Klebsiella pneumoniae* sebanyak 29,6%, *Acinetobacter baumannii* 10,2%, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* masing-masing 4,6%, *Moraxella catarrhalis* 3,7%, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli* masing-masing 2,8%, *Streptococcus pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae* 1,9%, serta *Citrobacter koseri* 0,9%

6.2 SARAN

6.2.1 Untuk Klinisi dan Rumah Sakit

- a. Dari hasil penelitian, patut diduga meskipun pasien dengan diagnosis CAP ada kemungkinan pasien juga menderita TB, sehingga perlu mempertimbangkan pemeriksaan bakteriologi untuk TB (BTA dan kultur) pada pasien dengan diagnosis CAP
- b. Pengambilan sampel sputum untuk kultur dapat diambil dalam waktu <24 jam setelah terapi awal antibiotik diberikan
- c. Melakukan penilaian kualitas sputum secara rutin dengan metode Bartlett's

6.2.2 Untuk Mikrobiologi Klinik

- a. Melakukan penelitian lebih lanjut secara multisenter
- b. Mempertimbangkan penggunaan media agar darah gentamisin untuk kultur sputum

DAFTAR PUSTAKA

1. Grosso A, Famiglietti A, Luna C. Community-acquired pneumonia due to gram-negative bacteria. *Community Acquir Infect*. 2015;2(4):117. doi:10.4103/2225-6482.172651.
2. Peto L, Nadjm B, Horby P, Ngan TTD, van Dorn R, Kinh NV, et al. The bacterial aetiology of adult community-acquired pneumonia in Asia: A systematic review. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2014;108(6):326-337. doi:10.1093/trstmh/tru058.
3. Watkins RR, Lemonovich TL. Diagnosis and management of community-acquired pneumonia in adults. *Clin Chest Med*. 2011;83(11):1299-1306. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21661712>.
4. Anand N, Kollef MH. The Alphabet Soup of Radiotherapy. *Semin Respir Crit Med*. 2009;30. doi:10.1055/s-0028-1119803.
5. Farida H, Gasem MH, Suryanto A, Keuter M, Zulkarnain N, Satoto B, et al. Viruses and Gram-negative bacilli dominate the etiology of community-acquired pneumonia in Indonesia, a cohort study. *Int J Infect Dis*. 2015;38:101-107. doi:10.1016/j.ijid.2015.07.023.
6. Holter JC, Müller F, Bjørang O, Samdal HH, Marthinsen JB, Jennum PA, et al. Etiology of community-acquired pneumonia and diagnostic yields of microbiological methods: a 3-year prospective study in Norway. *BMC Infect Dis*. 2015;15(1):64. doi:10.1186/s12879-015-0803-5.
7. Çağlayan Serin D, Pullukçu H, Çiçek C, Sipahi OR, Taşbakan S, Atalay S. Bacterial and viral etiology in hospitalized community acquired pneumonia with molecular methods and clinical evaluation. *J Infect Dev Ctries*. 2014;8(4):510-518. doi:10.3855/jidc.3560.
8. Shah BA, Ahmed W, Dhobi GN, Shah NN, Khursheed SQ, Haq I. Validity of Pneumonia Severity Index and CURB-65 Severity Scoring Systems in Community Acquired Pneumonia in an Indian Setting. *Indian J Chest Dis Allied Sci*. 2010;52(1):9-17.
9. Shrestha R, Paudel N, Barakoti B, Dhungana D, Sharma P. Etiology and clinical profile of inpatients with Community acquired pneumonia in Manipal Teaching hospital , Pokhara , Nepal. *Nepal J Med Sci*. 2012;1(2):84-

- 88.
10. Broulette J, Yu H, Pyenson B, Iwasaki K, Sato R. The incidence rate and economic burden of community-acquired pneumonia in a working-age population. *Am Heal Drug Benefits*. 2013;6(8):494-503.
 11. Jain S, Self WH, Wunderink RG, Balk R, Bramley AM, Reed C, et al. Community-Acquired Pneumonia Requiring Hospitalization among U.S. Adults. *N Engl J Med*. 2015;372(9):1507-1514. doi:10.1056/NEJMoa1500245.
 12. Takahashi K, Suzuki M, Minh LN, Anh NH, Huong LTM, Son TVV, et al. The incidence and aetiology of hospitalised community-acquired pneumonia among Vietnamese adults: a prospective surveillance in Central Vietnam. *BMC Infect Dis*. 2013;13(1):296. doi:10.1186/1471-2334-13-296.
 13. Bao Z, Yuan X, Wang L, Sun Y, Dong X. The incidence and etiology of community-acquired pneumonia in fever outpatients. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2012;237(11):1256-1261. doi:10.1258/ebm.2012.012014.
 14. Soepandi PZ, Burhan E, Nawas A, Giriputro S, Isbaniah F, Agustin H et al. *Perhimpunan Dokter Paru Indonesia*. 2nd ed. Badan Penerbit FKUI; 2014.
 15. Naderi H, Sheybani F, Sarvghad M, Meshkat Z, Nooghabi MJ. Etiological diagnosis of community-acquired pneumonia in adult patients: A prospective hospital-based study in Mashhad, Iran. *Jundishapur J Microbiol*. 2015;8(8). doi:10.5812/jjm.22780.
 16. Mandell LA, Wunderink RG, Anzueto A, Bartlett JG, Campbell GD, Dean NC, et al. Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society Consensus Guidelines on the Management of Community-Acquired Pneumonia in Adults. *Clin Infect Dis*. 2007;44(Supplement 2):S27-S72. doi:10.1086/511159.
 17. Fukuyama H, Yamashiro S, Kinjo K, Tamaki H, Kishaba T. Validation of sputum Gram stain for treatment of community-acquired pneumonia and healthcare-associated pneumonia: a prospective observational study. *BMC Infect Dis*. 2014;14:534. doi:10.1186/1471-2334-14-534.
 18. Mariraj J, Asangi SY, Krishna S, Sonth SB, Ramesh, Shanmugum. Sputum Gram stain assessment in relation to sputum culture for respiratory tract

- infections in a Tertiary Care Hospital. *J Clin Diagnostic Res.* 2011;5(8):1699-1700.
19. Garcia LS, Isenberg HD. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Vol 1.; 2010. doi:10.1128/9781555817435.
 20. Mokkapati A, Yalamanchili M. Correlation Of Sputum Gram ' s Stain And Culture In Lower Respiratory Tract Infections. 2013;8(1):6-9.
 21. Johansson N, Kalin M, Tiveljung-lindell A, Giske CG, Hedlund J. Etiology of Community-Acquired Pneumonia : Increased Microbiological Yield with New Diagnostic Methods. 2010;50. doi:10.1086/648678.
 22. Herrera M, Aguilar YA, Rueda ZV, Muskus C, Vélez LA. Comparison of serological methods with PCR-based methods for the diagnosis of community-acquired pneumonia caused by atypical bacteria. *J Negat Results Biomed.* 2016. doi:10.1186/s12952-016-0047-y.
 23. Musher DM, Montoya R, Wanahita A. Diagnostic value of microscopic examination of Gram-stained sputum and sputum cultures in patients with bacteremic pneumococcal pneumonia. *Clin Infect Dis.* 2004;39(2):165-169. doi:10.1086/421497.
 24. Ewig S, Schlochtermeyer M, Go??ke N, Niederman MS. Applying sputum as a diagnostic tool in pneumonia: Limited yield, minimal impact on treatment decisions. *Chest.* 2002;121(5):1486-1492. doi:10.1378/chest.121.5.1486.
 25. PDPI. Pneumonia komuniti. *Pedoman diagnosis dan penatalaksanaan di Indones.* 2003.
 26. American Thoracic Society. Guideline for the Management of Adults with Hospital Acquired, Ventilator Associated, and Healthcare-associated Pneumonia. *Am J Crit Care Med.* 2005;171:388-416. doi:10.1164/rccm.200405-644ST.
 27. British Thoracic Society. Guidelines for the Management of Community Acquired Pneumonia in Adults Update 2009 A Quick Reference Guide. *Thorax.* 2009;64(Suppl 3):15. www.brit-thoracic.org.uk/clinical-information/pneumonia/pneumonia-guidelines.
 28. Musher, D. M., Thorner AR. Community-Acquired Pneumonia. *N Engl J*

- Med.* 2014;371:1618-1628. doi:10.1056/NEJMcp1214869.
29. Johansson N, Kalin M, Tiveljung-Lindell A, Giske CG, Hedlund J. Etiology of Community-Acquired Pneumonia: Increased Microbiological Yield with New Diagnostic Methods. *Clin Infect Dis.* 2010;50(2):202-209. doi:10.1086/648678.
 30. Singh YD. Pathophysiology of Community Acquired Pneumonia. *Suppl to JAPI.* 2012;60(January):7-9.
 31. Moldoveanu B, Otmishi P, Jani P, Walker J, Sarmiento X, Guardiola J, et al. Inflammatory mechanisms in the lung. *J Inflamm Res.* 2009;2:1-11. doi:10.2147/JIR.S4385.
 32. Torres A, Peetermans WE, Viegi G, Blasi F. Risk factors for community-acquired pneumonia in adults in Europe: a literature review. *Thorax.* 2013;68(11):1057-1065. doi:10.1136/thoraxjnl-2013-204282.
 33. Lim WS, Baudouin S V, George RC, Hill AT, Jamieson C, Jeune IL, et al. BTS guidelines for the management of community acquired pneumonia in adults: update 2009, annotated 2015. *Thorax.* 2015;64 Suppl 3(October):iii1-i55. doi:10.1136/thx.2009.121434.
 34. Miyashita N, Shimizu H, Ouchi K, Kawasaki K, Kawai Y, Obase Y, et al. Assessment of the usefulness of sputum Gram stain and culture for diagnosis of community-acquired pneumonia requiring hospitalization. *Med Sci Monit.* 2008;14(4):CR171-6. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18376343>.
 35. da Silva RM, Teixeira PJZ, Moreira JDS. The clinical utility of induced sputum for the diagnosis of bacterial community-acquired pneumonia in HIV-infected patients: a prospective cross-sectional study. *Braz J Infect Dis.* 2006;10:89-93.
 36. Characterization of Viruses Causing Human Respiratory Infections via Genomic Identification for In Vitro Diagnosis. *Man CLART® PneumoVir.* 2015;11:1-24.
 37. Pneumo CLART bacteria ® DETECTION AND GENETIC IDENTIFICATION OF BACTERIA CAUSING HUMAN RESPIRATORY Pneumo CLART bacteria ®. *Man PneumoCLART Bact.* 2013:1-20.
 38. Leber AL. *Clinical Microbiology Procedures Handbook.* 4th ed.

Washington DC: ASM PRESS; 2016.

39. Lloveras J-J, Shukr M-I, Pinos C, Lindoulsi PG. Usefulness of Sputum Gram Stain and Culture for Diagnosis of Pneumonia in a Geriatric Institution. *J IMAB*. 2010;16(3):32-37. doi:10.5272/jimab.1632010.
40. García-Vázquez E, Marcos MA, Mensa J, de Roux A, Puig J, Font C, et al. Assessment of the usefulness of sputum culture for diagnosis of community-acquired pneumonia using the PORT predictive scoring system. *Arch Intern Med*. 2004;164(16):1807-1811. doi:10.1001/archinte.164.16.1807.
41. Faisal F, Burhan E, Aniwidyaningsih W, Kekalih A. Penilaian Respons Pengobatan Empiris pada Pasien Rawat Inap dengan Pneumonia Komunitas Evaluation of Empirical Treatment Responsse in Hospitalized Patient Community Acquired Pneumonia. *J Respir Indo*. 2014;34(2):60-70.
42. Zainoel IN, Hospital A, Aceh B. Etiology and Risk Factors for Community Acquired Pneumonia. *Folia Medica Indones*. 2011;47(2):127-129.
43. Rammaert B, Goyet S, Beauté J, Hem S, Te V, Try PL, et al. Klebsiella pneumoniae related community-acquired acute lower respiratory infections in Cambodia: Clinical characteristics and treatment. *BMC Infect Dis*. 2012;12(1):3. doi:10.1186/1471-2334-12-3.
44. Wattanathum A, Chaoprasong C, Nunthapisud P, Chantaratchada S, Limpairojn N, Jatakanon A, et al. Community-acquired pneumonia in Southeast Asia: The microbial differences between ambulatory and hospitalized patients. *Chest*. 2003;123(5):1512-1519. doi:10.1378/chest.123.5.1512.
45. Lauderdale T-L, Chang F-Y, Ben R-J, Yin H-C, Ni Y-H, Tsai J-W, et al. Etiology of community acquired pneumonia among adult patients requiring hospitalization in Taiwan. *Respir Med*. 2005;99(9):1079-1086. doi:10.1016/j.rmed.2005.02.026.
46. Farida H, Severin JA, Gasem MH, Keuter M, Wahyono H, Broek PVD, et al. Nasopharyngeal carriage of Streptococcus pneumonia in pneumonia-prone age groups in Semarang, Java Island, Indonesia. *PLoS One*. 2014;9(1):16-18. doi:10.1371/journal.pone.0087431.
47. Safari D, Harimurti K, Khoeri MM ajid, Waslia L, Mudaliana S, A'yun HQ,

- et al. Staphylococcus Aureus and Streptococcus Pneumoniae Prevalence Among Elderly Adults in Jakarta, Indonesia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2015;46(3):465-471.
48. Farida H, Severin JA, Gasem MH, Keuter M, Broek PVD, Hermans PWM, et al. Nasopharyngeal carriage of klebsiella pneumoniae and other gram-negative bacilli in pneumonia-prone age groups in semarang, indonesia. *J Clin Microbiol*. 2013;51(5):1614-1616. doi:10.1128/JCM.00589-13.
49. Kashyap S, Sarkar M. *Mycoplasma pneumonia*: Clinical features and management. *Lung India*. 2010;27(2):75. doi:10.4103/0970-2113.63611.

Lampiran 1. Distribusi Bakteri Secara Mikroskopik Pewarnaan Gram, Kultur dan PCR

Kode	Bakteri					Hasil Kultur	Hasil PCR
C5001	coccus + 2+	batang - 2+	batang + 2+			Klebsiella pneumoniae	
C5002	batang + 1+					Ragi 5 koloni	Negatif
C5003	coccus + 4+	batang - 3+	diplo - +4			Klebsiella pneumoniae	
C5004	diplo + 3+	batang - 2+				Normal flora	Haemophilus spp (non H. influenzae), Streptococcus pneumoniae
C5005	coccus + 3+	batang - 4+	batang + 4+	ragi 3+	hifa 3+	Enterobacter cloacae	
C5006	coccus + 2+	batang - 3+	batang + 1+	diplo + 2+		Enterobacter cloacae, Enterobacter aerogenes	
C5007	diplo + 1+	coccus + 4+	batang - 2+	diplo - 3+		Klebsiella pneumoniae	
C5008	coccus + 4+	diplo - 4+	batang + 2+	batang - 2+		Normal flora	Haemophilus spp (non H. influenzae)
C5009	diplo + 1+	batang - 1+				Klebsiella pneumoniae	
C5010	coccus + 2+	batang - 2+	batang + 1+	diplo + 2+		Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus aureus	
C5011	coccus + 2+	diplo + 1+	diplo - 2+			Normal flora	Haemophilus spp (non H. influenzae), Moraxella catarrhalis
C5012	coccus + 4+	diplo - 2+	batang - 2+			Klebsiella pneumoniae	

Kode	Bakteri				Hasil Kultur	Hasil PCR
C5013	coccus + 2+	diplo - 2+	batang + 1+		Normal flora	Haemophilus spp (non H. influenzae)
C5014	coccus + 2+	diplo - 2+	batang - 2+	diplo + 3+	Streptococcus pneumoniae	
C5015	coccus + 3+	diplo - 2+	batang + 1+		Normal flora	Haemophilus spp (non H. influenzae)
C5016	coccus + 4+	diplo - 3+	batang - 1+		Normal flora	Haemophilus spp (non H. influenzae), Mycoplasma pneumoniae
C5017	coccus + 2+	diplo + 2+	diplo - 1+	batang - 1+	Klebsiella pneumoniae	
C5018	batang - 3+	coccus + 2+			Pseudomonas aeruginosa	
C5019	coccus + 3+	diplo + 2+	batang - 2+	batang + 1+	Citrobacter koseri	
C5020	diplo + 2+	coccus + 3+	batang - 2+		Escherichia coli	
C5021	diplo - 3+	coccus + 2+	batang - 1+		Klebsiella pneumoniae	
C5022	batang - 4+	coccus + 3+	diplo - 3+		Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii	
C5023	coccus + 2+	diplo - 2+	batang + 1+		Normal flora	Haemophilus spp (non H. influenzae)

Kode	Bakteri				Hasil Kultur	Hasil PCR
C5024	coccus + 2+	diplo - 2+	batang - 2+		Normal flora	Haemophilus spp (non H. influenzae)
C5025	coccus + 1+	batang - 1+	batang + 1+		Normal flora	Haemophilus spp (non H. influenzae)
C5026	coccus + 1+	batang - 1+			Klebsiella pneumoniae	
C5027	coccus + 1+	diplo - 2+	batang - 2+	batang + 2+	Normal flora	Haemophilus spp (non H. influenzae)
C5028	coccus + 1+	diplo + 1+	batang - 2+		Pseudomonas aeruginosa	
C5029	coccus + 1+	batang - 1+			Normal flora	Haemophilus spp (non H. influenzae)
C5030	coccus + 1+	batang - 1+	diplo + 1+		Normal flora	Haemophilus spp (non H. influenzae)
C5031	coccus + 3+	diplo - 1+	batang + 1+		Normal flora	Haemophilus spp (non H. influenzae)
C5032	coccus + 1+	batang - 1+			Klebsiella pneumoniae, Enterobacter cloacae	
C5033	coccus + 2+	diplo + 1+	batang + 3+	batang - 1+	Staphylococcus aureus	
C5034	coccus + 3+	diplo - 2+	batang - 3+		Escherichia coli, Acinetobacter baumannii	

Kode	Bakteri				Hasil Kultur	Hasil PCR
C5035	batang - 1+	diplo - 2+			Normal flora	Haemophilus spp (non H. influenzae)
C5036	coccus + 1+	batang - 1+			Klebsiella pneumoniae	
C5037	diplo - 3+	batang - 1+			Normal flora	Haemophilus spp (non H. influenzae)
C5038	diplo + 2+	batang + 1+			Normal flora	Negatif
C5039	coccus + 2+	diplo + 1+	batang - 1+		Normal flora	Moraxella catarrhalis
C5040	coccus + 4+	diplo - 3+	batang - 2+		Normal flora	Haemophilus spp (non H. influenzae)
C5041	diplo + 1+	batang - 2+			Enterobacter cloacae	
C5042	batang - 1+	batang + 1+	coccus + 1+		Normal flora	Haemophilus spp (non H. influenzae)
C5043	coccus + 4+	diplo + 2+	batang - 2+		Klebsiella pneumoniae	
C5044	coccus + 3+	diplo - 3+	batang + 1+		Normal flora	Negatif
C5045	bakteri 0				Normal flora	Haemophilus spp (non H. influenzae)
C5046	coccus + 3+	diplo + 2+	diplo - 1+	batang - 2+	Klebsiella pneumoniae	
C5047	coccus + 3+	diplo - 1+	batang - 4+		Klebsiella pneumoniae	
C5048	coccus + 2+	diplo - 2+	diplo + 2+	batang - 2+	Enterobacter aerogenes	

Kode	Bakteri				Hasil Kultur	Hasil PCR
C5049	coccus + 3+	diplo - 3+			Normal flora	Haemophilus spp (non H. influenzae)
C5050	coccus + 2+	diplo + 2+	batang - 2+	batang + 1+	Acinetobacter baumannii	
C5051	coccus + 2+	diplo + 2+	batang + 2+	batang - 1+	Normal Flora	Negatif
C5052	coccus + 3+	diplo + 2+	batang - 2+	batang + 1+	Acinetobacter baumannii	
C5053	coccus + 4+	diplo + 3+	batang - 3+	batang + 3+	Normal flora	Haemophilus spp (non H. influenzae)
C5054	batang - 1+	coccus + 1+			Normal flora	Negatif
C5055	coccus + 3+	diplo + 2+	batang - 2+	diplo - 3+	Klebsiella pneumoniae	
C5056	coccus + 2+	diplo - 3+	batang - 3+		Klebsiella pneumoniae	
C5057	coccus + 2+	diplo + 2+	diplo - 2+	batang - 2+	Acinetobacter baumannii	
C5058	coccus + 3+	batang - 3+	diplo - 2+	diplo + 1+	Klebsiella pneumoniae	
C5059	coccus + 1+				Normal flora	Negatif
C5060	diplo - 2+	diplo + 1+	batang - 1+		Klebsiella pneumoniae	
C5061	coccus + 4+	diplo + 2+	batang - 3+		Klebsiella pneumoniae	
C5062	coccus + 2+	batang + 1+	diplo + 1+	batang - 1+	Klebsiella pneumoniae	
C5063	coccus + 4+	diplo - 3+	batang - 2+		Normal flora	Haemophilus spp (non H. influenzae)

Kode	Bakteri				Hasil Kultur	Hasil PCR
C5064	coccus + 4+	diplo + 1+	batang - 1+	batang + 1+	Enterobacter aerogenes	
C5065	coccus + 2+	diplo - 1+	batang - 1+		Acinetobacter baumannii	
C5066	coccus + 2+	diplo + 1+	batang - 1+		Klebsiella pneumoniae	
C5067	coccus + 3+	diplo + 2+	batang + 2+	batang - 1+	Normal flora	Haemophilus spp (non H. influenzae)
C5068	coccus + 1+	diplo - 1+	diplo + 1+		Normal flora	Haemophilus spp (non H. influenzae)
C5069	coccus + 1+	diplo - 1+	batang + 2+		Normal flora	Negatif
C5070	coccus + 2+	diplo - 2+	batang - 1+		Normal flora	Haemophilus spp (non H. influenzae)
C5071	coccus + 4+	diplo + 3+	diplo - 2+	batang - 2+	Klebsiella pneumoniae	
C5072	coccus + 3+	diplo - 4+			Staphylococcus aureus	
C5073	coccus + 3+	diplo + 2+	diplo - 2+	batang - 2+	Klebsiella pneumoniae	
C5074	coccus + 3+	diplo - 2+	batang - 3+		Klebsiella pneumoniae	
C5075	coccus + 2+	diplo - 1+	batang + 2+		Normal flora	Haemophilus spp (non H. influenzae)
C5076	coccus + 3+	diplo - 1+	batang - 2+		Klebsiella pneumoniae	

Kode	Bakteri				Hasil Kultur	Hasil PCR
C5077	coccus + 1+	batang - 1+			Normal flora	Haemophilus spp (non H. influenzae), Mycoplasma pneumoniae
C5078	coccus 3+	diplo + 1+	batang + 1+		Normal flora	Haemophilus spp (non H. influenzae), Moraxella catarrhalis
C5079	diplo + 2+	batang + 1+	coccus + 2+		Normal flora	Negatif
C5080	diplo + 1+	batang + 1+	diplo - 2+		Normal flora	Negatif
C5081	coccus + 3+	diplo - 2+	batang - 3+	diplo + 2+	Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus	
C5082	coccus + 1+	diplo - 2+	batang - 1+		Pseudomonas aeruginosa	
C5083	batang - 2+				Klebsiella pneumoniae	
C5084	ragi 2+	hifa 2+	batang - 2+	coccus + 2+	Enterobacter cloacae, Staphylococcus aureus	
C5085	coccus + 1+	batang + 1+			Normal flora	Haemophilus spp (non H. influenzae)
C5086	coccus + 3+	batang + 3+	batang - 1+	diplo + 1+	Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli	
C5087	coccus + 1+	batang + 1+			Normal flora	Haemophilus spp (non H. influenzae)

Kode	Bakteri			Hasil Kultur	Hasil PCR
C5088	batang - 1+	diplo + 1+		Acinetobacter baumannii	
C5089	batang - 2+	coccus + 1+		Acinetobacter baumannii	
C5090	coccus + 2+	diplo - 1+	batang - 1+	Klebsiella pneumoniae	
C5091	coccus + 3+	diplo - 3+	batang - 2+	Klebsiella pneumoniae	
C5092	coccus + 1+	diplo + 1+	batang - 1+	Pseudomonas aeruginosa	
C5093	coccus + 3+	diplo - 2+	batang - 3+	Acinetobacter baumannii	
C5094	coccus + 4+	diplo + 3+	batang - 2+	Normal flora	Haemophilus spp (non H. influenzae), Moraxella catarrhalis
C5095	batang - 2+	diplo - 2+		Klebsiella pneumoniae	
C5096	diplo - 3+	batang + 3+	batang - 2+	Normal flora	Negatif
C5097	diplo - 2+	ragi 1+	batang - 1+	Normal flora	Haemophilus spp (non H. influenzae)
C5098	diplo + 2+	batang - 2+	batang + 1+	Klebsiella pneumoniae	
C5099	batang -4+	diplo + 3+		Acinetobacter baumannii	
C5100	coccus + 2+	batang + 2+	batang - 2+	Acinetobacter baumannii	

Lampiran 2. Keterangan Lolos Kaji Etik



UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS KEDOKTERAN

Gedung Fakultas Kedokteran UI
Jl. Salemba Raya No.5, Jakarta 10430
PO.Box 1368
T. 62.21.3912477, 31930371, 31930373,
3922972, 3927360, 3153236,
F. 62.21.3912477, 31930372, 3157288,
E. humas@fk.ui.ac.id, office@fk.ui.ac.id
fk.ui.ac.id

Nomor : 607 /UN2.F1/ETIK/2016

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK

ETHICAL APPROVAL

Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subjek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul:

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, University of Indonesia, with regards of the Protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the research protocol entitled:

"Pneumonia Komunitas pada Pasien Dewasa di Jakarta: Kajian Etiologi, Faktor Risiko dan Luaran."

Peneliti Utama : dr. Anis Karuniawati, PhD, SpMK (K)
Principal Investigator

Nama Institusi : CRID-TROPHID UI
Name of the Institution

dan telah menyetujui protokol tersebut di atas.
and approved the above mentioned protocol.



25 JUL 2016
Ketua
Chairman
Rianto
Prof. Dr. dr. Rianto Setiabody, SpFK

* Ethical approval berlaku satu tahun dari tanggal persetujuan.
** Peneliti berkewajiban

1. Menjaga kerahasiaan identitas subjek penelitian.
2. Menertahankan status penelitian apabila
 - a. Setelah masa berlakunya persetujuan lolos kaji etik, penelitian masih belum selesai, dalam hal ini etical approval harus diperpanjang.
 - b. Penelitian berhenti di tengah jalan.
3. Melaporkan kejadian serious yang tidak diinginkan (serious adverse event).
4. Peneliti tidak boleh melakukan tindakan apapun pada subjek sebelum penelitian lolos kaji etik dan informed consent.

Semua prosedur persetujuan dilakukan sesuai dengan standar ICH-GCP.
All procedures of Ethical Approval are performed in accordance with ICH-GCP standard procedure.