

# Identifikasi bakteri pada sampel sputum menggunakan spektrometri massa MALDI-TOF di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Makassar

Febriyanti<sup>1</sup>, Syarif Hidayat Amrullah<sup>1\*</sup>, Khairul Syahri<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Biologi

Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar  
Jl. Sultan Alauddin No. 63 Gowa, Sulawesi Selatan, Indonesia. 92113

<sup>2</sup>Balai Besar Laboratorium Kesehatan Makassar

Jl. Perintis Kemerdekaan KM 11 Makassar, Sulawesi Selatan, Indonesia. 90245

\*E-mail: [syarifhidayat.amrullah@uin-alauddin.ac.id](mailto:syarifhidayat.amrullah@uin-alauddin.ac.id)

**Abstrak:** Bakteri merupakan salah satu jenis mikroorganisme yang dapat bersifat patogen. Penanganan yang tepat terhadap pasien yang terinfeksi penyakit dibutuhkan diagnosis yang tepat terhadap agen bakteri penyebab penyakit. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri pada sampel sputum menggunakan alat otomatis Spektrometri Massa MALDI-TOF (*Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry*). Metode yang digunakan dalam penelitian yaitu metode identifikasi bakteri berbasis MALDI-TOF MS. Hasil yang diperoleh dari 21 sampel sputum pada manusia terdapat 9 sampel yang positif terdapat bakteri aerob patogen, yaitu *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Acinetobacter* spp., *Acinetobacter junii* dan *Klebsiella pneumoniae*. Pemanfaatan teknologi MALDI-TOF dalam identifikasi bakteri terbukti efektif dan efisien, sehingga memungkinkan deteksi patogen yang berpotensi mengancam kesehatan secara lebih cepat dan akurat. Pohon filogeni digunakan untuk melihat tingkat kekerabatan suatu spesies, seperti pada hasil yang diperoleh bahwa strain *Acinetobacter* spp., dan *A. junii* strain DSM 6964 sangat erat hubungannya dengan tingkat kesamaan genetik yang tinggi. *S. aureus* dan *S. epidermidis* juga berkerabat dekat dalam genus *Staphylococcus*, tetapi divergensi genetiknya cukup besar untuk diklasifikasikan sebagai spesies terpisah. Sementara itu, *P. aeruginosa* dan *A. baumannii*, meskipun berbeda secara filogenetik, termasuk dalam kelompok ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, dan *Enterobacter* spp.) yang sering menyebabkan infeksi nosokomial dan menunjukkan resistensi antibiotik yang tinggi.

**Kata Kunci:** bakteri patogen, MALDITOF-MS, penyakit infeksi, pohon filogeni, sputum

**Abstract:** Bacteria are one type of microorganism that can be pathogenic. Proper treatment of patients infected with the disease requires a proper diagnosis of the bacterial agent that causes the disease. This study aims to identify bacteria in sputum samples using an automatic MALDI-TOF Mass Spectrometry tool. The method used in the study is the MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry)-based bacterial identification method. The results obtained from 21 human sputum samples showed 9 positive samples for pathogenic aerobic bacteria, namely *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Acinetobacter* spp., *A. junii* and *Klebsiella pneumoniae*. The use of MALDI-TOF technology in bacterial identification has proven to be effective and efficient, allowing for faster and more accurate detection of pathogens that have the potential to threaten health. Phylogenetic trees are used to see the level of kinship of a species, such as in the results obtained that *Acinetobacter* spp. strains and *A. junii* DSM 6964 strains are very closely related with a high level of genetic similarity. *Staphylococcus aureus* and *S. epidermidis* are also closely related in the genus *Staphylococcus*, but their genetic divergence is large enough to be classified as separate species. Meanwhile, *P. aeruginosa* and *A. baumannii*, although phylogenetically different, are included in the ESKAPE group which often causes nosocomial infections and shows high antibiotic resistance.

**Keywords:** pathogenic bacteria, MALDITOF-MS, infectious diseases, phylogenetic tree, sputum

## PENDAHULUAN

Bakteri merupakan kelompok organisme mikroskopis yang umumnya bersel tunggal, dan tidak memiliki membran inti sel (Febriza et al., 2021). Bakteri termasuk salah satu jenis mikroorganisme yang dapat bersifat patogen, menyebabkan sejumlah penyakit pada manusia, mulai dari penyakit ringan hingga yang mengancam jiwa. Untuk penanganan yang tepat terhadap pasien yang terinfeksi penyakit ini dibutuhkan diagnosis yang tepat terhadap agen bakteri penyebab penyakit (Shoaib et al., 2020). Jumlah bakteri sangat banyak dan ada dimana-mana, tidak mengherankan jika banyak bakteri yang belum teridentifikasi secara lengkap (Noer, 2021).

MALDI-TOF (*Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight*) merupakan metode identifikasi bakteri yang lebih cepat, akurat, dan hemat biaya dibandingkan metode konvensional seperti kultur dan uji biokimia (Sidik, 2017). Sedangkan, pewarnaan Gram yang hanya membedakan morfologi umum bakteri, MALDI-TOF mampu mengidentifikasi hingga tingkat spesies dengan waktu analisis yang jauh lebih singkat (Rychert, 2019). Pewarnaan Gram tetap berguna sebagai identifikasi awal, tetapi integrasi dengan MALDI-TOF memberikan hasil yang lebih komprehensif dalam mendeteksi patogen dalam sampel klinis seperti sputum (Koleangan et al., 2018). MALDI-TOF digunakan untuk menganalisis sampel beberapa sampel klinis seperti sputum, pus, urin, darah dan lain-lain (Hardouin et al., 2022).

Sputum merupakan cairan kental yang diproduksi di paru-paru dan dikeluarkan melalui batuk. Sputum terdiri dari lendir, sel, dan zat lain yang penampilannya dapat bervariasi. Sputum merupakan penanda penting untuk memantau penyakit paru obstruktif mukosa seperti *Cystic Fibrosis* (CF) dan *Non-Cystic Fibrosis Bronchiectasis* (NCFB). Kondisi ini ditandai dengan gejala seperti batuk, produksi dahak dan obstruksi jalan napas (Enjuto et al., 2023). Sampel sputum telah dikirim dari beberapa rumah sakit dan klinik untuk diproses lebih lanjut di laboratorium untuk pemeriksaan dan identifikasi patogen penyebab infeksi menggunakan metode yang ditetapkan. Dalam konteks laboratorium klinik, penerapan MALDI-TOF MS telah memenuhi standar *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI M58-A) dan ISO 15189:2012 terkait kompetensi laboratorium medik, serta mengacu pada prosedur operasi standar Kementerian Kesehatan Republik Indonesia untuk laboratorium mikrobiologi klinik. MALDI-TOF MS terbukti efektif dalam mendeteksi patogen seperti *Pseudomonas* dan *Mycobacterium* yang diisolasi dari sampel sputum (Hardouin et al., 2022).

Maurer et al., (2017) menyatakan bahwa, untuk memperoleh hasil identifikasi bakteri penyebab infeksi yang cepat, tepat, akurat dan murah, dikembangkan teknik yang lebih maju, yaitu teknik MALDI-TOF MS. MALDI-TOF MS (menggunakan perangkat VITEK<sup>®</sup>MS, bioMérieux, USA) merupakan metode identifikasi berdasarkan spektrometri massa yang menganalisis profil spektrum protein (*mass spectral fingerprints*) koloni bakteri, sehingga dapat mengidentifikasi mikroorganisme hingga tingkat spesies dengan cepat dan akurat. Penelitian sebelumnya oleh Patel (2015) telah membuktikan bahwa MALDI-TOF MS efektif untuk mengidentifikasi berbagai bakteri patogen dari sampel klinis, termasuk sputum. Identifikasi mikroorganisme menggunakan MALDI-TOF dilakukan dengan menyiapkan koloni bakteri yang telah dikultur pada media agar, kemudian dioleskan pada plat target dan ditambahkan larutan matriks seperti asam sinapin (CHCA). Sampel tersebut kemudian dimasukkan ke dalam instrumen spektrometri massa, di mana laser akan memicu ionisasi molekul protein dari bakteri. Ion-ion tersebut dipisahkan berdasarkan rasio massa terhadap muatan ( $m/z$ ) dan menghasilkan

spektrum massa yang unik untuk setiap spesies bakteri. Spektrum ini kemudian dibandingkan dengan basis data referensi untuk menentukan spesies mikroba secara akurat.

Identifikasi sputum merupakan tantangan diagnostik karena sifatnya yang kompleks, mengandung campuran sel, lendir, dan mikroorganisme yang menyulitkan isolasi patogen tertentu. Metode konvensional seperti pewarnaan apusan memerlukan keterampilan tinggi dan sering kali mengakibatkan kesalahan, terutama pada kasus dengan jumlah bakteri yang rendah (Rulaningtyas et al., 2015). Sebagai alternatif, MALDI-TOF MS memberikan identifikasi yang cepat dan akurat langsung dari sputum. Metode ini mampu mendeteksi *Mycobacterium tuberculosis* dengan sensitivitas 83% dan spesifisitas 100% (Su et al., 2017) dan mempercepat proses identifikasi dari 24–72 jam menjadi kurang dari 1 jam (Rychert, 2019). Kecepatan ini didukung oleh kemampuan analisis spektrum massa protein secara *real time* dengan sensitivitas yang tinggi. Efisiensi ini penting untuk mempercepat diagnosis dan pengambilan keputusan terapi. Selain itu, MALDI-TOF memungkinkan pemrosesan sampel yang kompleks dengan waktu respons hanya beberapa detik hingga menit, sehingga sangat meningkatkan kecepatan dan keakuratan diagnostik di laboratorium klinis (Meyer, 2018).

Sputum merupakan salah satu bahan utama dalam pemeriksaan laboratorium untuk mendiagnosis Infeksi Saluran Pernapasan Akut (ISPA), karena di dalamnya terdapat mikroorganisme dari saluran pernapasan bawah yang menjadi sumber infeksi. Bakteri penyebab ISPA secara umum terbagi menjadi dua kelompok besar, yaitu bakteri Gram positif dan Gram negatif, yang dibedakan berdasarkan karakteristik dinding selnya. Patogen yang sering ditemukan pada ISPA antara lain *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Branhamella*, *Pseudomonas*, *Escherichia*, dan *Proteus* (Dorawati et al., 2021). Untuk mengidentifikasi bakteri tersebut secara cepat dan akurat, metode MALDI-TOF-MS sekarang telah banyak digunakan karena mampu mengenali fragmen protein dari bakteri. Fragmen tersebut dianalisis untuk menghasilkan spektrum unik yang kemudian dibandingkan dengan basis data, sehingga memungkinkan identifikasi mikroorganisme dalam waktu kurang dari 5 menit dari koloni, atau sekitar 1 jam dari kultur darah positif, dibandingkan dengan 24–72 jam dengan metode konvensional (Oviaño & Rodríguez-Sánchez, 2021).

Berdasarkan uraian latar belakang tersebut, maka dilakukanlah penelitian ini guna mengidentifikasi bakteri yang terdapat pada sampel sputum melalui pemeriksaan MALDI-TOF MS. Hasil penelitian ini dapat memberikan tambahan informasi yang mendukung pentingnya deteksi yang cepat dan akurat dalam diagnosis infeksi saluran pernapasan dengan jenis bakteri yang terdeteksi, sehingga mencegah resistensi antibiotik di masyarakat.

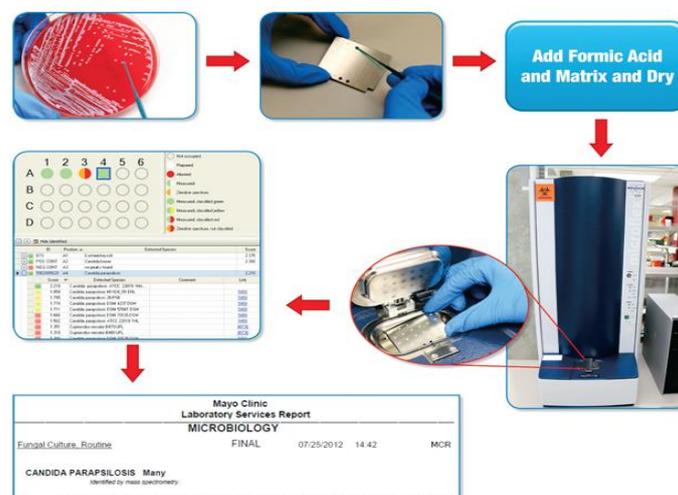
## METODE PENELITIAN

Penelitian ini menganalisis 21 sampel sputum yang dikirim dari beberapa rumah sakit dan klinik di Kota Makassar. Semua sampel dikultur dan diidentifikasi di Laboratorium Mikrobiologi Klinik Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) Makassar. Alat dan bahan yang digunakan adalah isolat bakteri dari sampel sputum, mesin VITEK<sup>®</sup> MS (bioMérieux, USA), mikropipet, BSC (*Biosafety Cabinet*), APD (Masker, *handsocon*, jas lab), *tissues*, tusuk gigi steril, tip 1  $\mu$ , slide uji VITEK<sup>®</sup> MS, Matriks VITEK MS-CHCA, tempat pembuangan alat dan bahan habis pakai infeksius.

Metode identifikasi bakteri dalam penelitian ini mengacu pada prosedur yang

digunakan oleh Patel (2015) yang menerapkan teknologi MALDI-TOF MS dalam mengidentifikasi mikroorganisme dari berbagai sampel klinis, termasuk sputum. Metode penelitian meliputi: (1) Persiapan sampel, isolat koloni bakteri diambil dari sampel sputum yang telah dikultur pada Media *Blood Agar* (BA) dan *MacConkey Agar* (MCA). (2) Persiapan isolat bakteri, isolat subjek dioleskan ke titik sampel pada slide target menggunakan tusuk gigi steril. 1  $\mu\text{L}$  matriks VITEK MS-CHCA diberikan pada spot target yang sudah terdapat isolat. Slide dikeringkan hingga matriks dan sampel terkristalisasi. (3) Proses *running*, slide dimuat ke dalam alat VITEK® MS. Selanjutnya, informasi pasien dimasukkan ke dalam perangkat komputer yaitu dengan *software* VITEK® MS dibuka pada monitor dengan mengklik dua kali pada gambar *software* VITEK® MS. Lalu, *username* dan *password* dimasukkan. Data yang diperlukan diisi, termasuk pasien ID, nama pasien, lab ID, tipe sampel (spesimen), contoh: darah, sputum, pus, dll. Kemudian tekan "OK". (4) Pembacaan hasil, dilakukan menggunakan alat bantu komputer. Hasil identifikasi muncul di monitor yang terhubung VITEK® MS (bioMérieux, USA) berupa nama spesies bakteri yang menjadi penyebab infeksi pada pasien dan dicatat. (5) Pembuatan pohon filogeni, pohon filogenetik dibangun menggunakan perangkat lunak MEGA11 (*Molecular Evolutionary Genetic Analysis versi 11*). Sebelum penyusunan pohon, nama-nama spesies bakteri yang teridentifikasi terlebih dahulu dicari melalui situs web NCBI dan dipilih berdasarkan beberapa sekuens gen mitokondria atau gen tertentu yang tersedia. Sekuens gen 16S rRNA masing-masing spesies kemudian diunduh dalam format FASTA. Semua sekuens difilter dan dimasukkan ke dalam aplikasi MEGA11, kemudian dilakukan pemangkasan sekuens sesuai dengan kebutuhan analisis. Selanjutnya, dilakukan *multiple sequence alignment* menggunakan algoritma *ClustalW*. Setelah proses *alignment* selesai, pohon filogenetik dibangun menggunakan metode *Neighbor-Joining* (NJ) dengan parameter model evolusi Kimura 2-parameter. Analisis *bootstrap* sebanyak 1000 replikasi diterapkan untuk menilai resolusi setiap cabang pohon, dengan penghapusan lengkap celah atau nilai yang hilang. Nilai *bootstrap*  $\geq 70\%$  dianggap menunjukkan tingkat keyakinan yang tinggi dalam hubungan antar spesies. Pohon filogenetik yang dihasilkan memberikan gambaran umum tentang hubungan evolusi antara spesies berdasarkan kedekatan genetik dan perbedaan dalam urutan gen 16S rRNA.

Proses MALDI-TOF (VITEK® MS) bekerja dengan cara yang cukup sederhana namun efektif untuk mengidentifikasi mikroorganisme (Gambar 1).



Gambar1. Proses kerja MALDI-TOF (Patel, 2015)

Metode kerja dalam penelitian ini terdiri dari dua tahapan yang saling berkaitan. Pada tahap awal, isolat bakteri dikultur terlebih dahulu pada media BA dan MCA untuk memperoleh koloni murni. Koloni yang tumbuh selanjutnya digunakan pada tahap identifikasi menggunakan metode MALDI-TOF. Gambar 1 dapat dijelaskan sebagai berikut: a) Menyiapkan alat dan bahan dalam penelitian; b) Pengambilan koloni mikroba dari cawan petri kultur menggunakan stik plastik, *loop*, atau pipet; c) Koloni tersebut kemudian ditempatkan pada sebuah pelat target MALDI-TOF. Setelah itu, mikroba yang ada di pelat tersebut diperlakukan dengan asam formiat untuk memecah protein dan mempersiapkannya untuk analisis; (d) Setelah perlakuan, matriks ditambahkan ke atas sampel dan dibiarkan mengering; dan (e) Plat target kemudian dimasukkan ke dalam ruang ionisasi dari spektrometer massa. Di dalam ruang ini, sampel akan ditembak dengan laser, yang akan menyebabkan adsorpsi dan ionisasi molekul mikroba serta matriks. Molekul yang terionisasi kemudian dipercepat menuju *Ionization Time-of-Flight* (TOF), dengan molekul yang lebih ringan akan bergerak lebih cepat dibandingkan molekul yang lebih berat. Hasil dari proses ini adalah spektrum massa yang menunjukkan jumlah ion yang mengenai detektor seiring waktu.

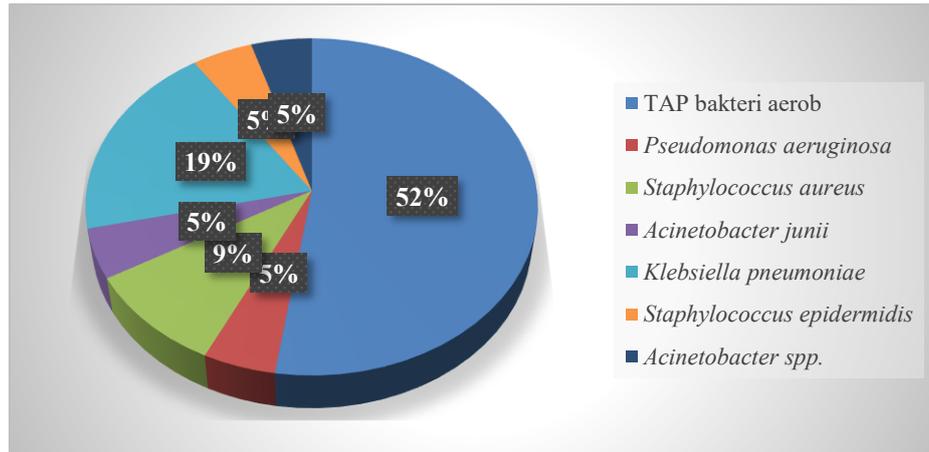
## HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan adalah isolat bakteri dari sampel sputum dengan jumlah sampel sebanyak 21 sampel yang telah di kultur di Laboratorium Mikrobiologi Klinik BBLK Makassar, sebelumnya telah menjalani pemeriksaan mikroskopis berupa pewarnaan gram dan dikultur pada media selektif *Blood Agar* dan *MacConkey Agar* dan diinkubasi pada suhu 30-37°C selama 18-24 jam. Masing-masing isolat diidentifikasi menggunakan teknik pemeriksaan MALDI-TOF MS (VITEK<sup>®</sup>MS, bioMérieux, USA) sebagai uji lanjut. Karakteristik pasien yang sampelnya diperiksa pada penelitian ini dapat dilihat di pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik pasien menurut kategori usia (n=21)

Kategori Usia (tahun)	Jumlah (orang)	Persentase (%)
Remaja (12-25)	1	4,76
Dewasa (26-45)	6	28,57
Lansia (46-65)	7	33,33
Manula (>65)	7	33,33

Berdasarkan Tabel 1, karakteristik pasien menurut kategori usia menunjukkan seiring bertambahnya usia, kerentanan terhadap penyakit menular meningkat secara signifikan. Hal ini disebabkan oleh berbagai faktor, antara lain adanya penyakit penyerta, penurunan fungsi sistem kekebalan tubuh (*immunosenescence*), dan kondisi kesehatan yang lebih buruk pada pasien lanjut usia. Penelitian menunjukkan bahwa lebih dari 50% infeksi aliran darah (BSI) terjadi pada individu berusia 65 tahun ke atas, dengan angka kematian 30 hari mencapai 11-50% pada kelompok ini. Selain itu, pasien lanjut usia yang dirawat di rumah sakit mempunyai risiko lebih tinggi terkena infeksi nosokomial, yang seringkali diperburuk dengan penggunaan peralatan medis dan prosedur invasif. Dengan meningkatnya populasi lansia, yang diperkirakan akan mencapai sekitar 72 juta di Amerika Serikat dalam 25 tahun ke depan, tantangan dalam mengelola infeksi pada kelompok usia ini menjadi semakin penting (Yahav et al., 2016). Hasil identifikasi isolat bakteri pada sampel sputum menggunakan MALDI TOF MS dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil identifikasi isolat bakteri pada sampel sputum menggunakan MALDI TOF MS selama rentan waktu 1 bulan (VITEK®MS, bioMérieux, USA (n=21))

Berdasarkan Gambar 2, identifikasi bakteri pada sputum yang telah dilakukan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Makassar didapatkan sebanyak 9 dari 21 sampel dinyatakan terdapat pertumbuhan bakteri aerob. Hasil tersebut dapat dilihat pada Gambar 2 diperoleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* teridentifikasi pada individu berusia 54 tahun, *Staphylococcus aureus* ditemukan pada individu berusia 64 dan 68 tahun, *S. epidermidis* terdeteksi pada individu berusia 63 tahun. *Acinetobacter spp.* dan *A. junii* ditemukan pada usia 66 dan 61 tahun. *Klebsiella pneumoniae* teridentifikasi pada individu yang lebih muda, berusia 40 dan 47 tahun. Menurut Esme et al., (2019), usia berperan penting dalam meningkatkan kerentanan terhadap infeksi bakteri, terutama pada orang lanjut usia. Proses penuaan menyebabkan perubahan pada sistem imun yang dikenal sebagai immunosenescence, yaitu sel imun menjadi kurang responsif sehingga menyulitkan tubuh untuk merespons infeksi secara efektif. Perubahan fisiologis yang terjadi seiring bertambahnya usia, seperti penurunan kapasitas paru-paru dan fungsi organ lainnya, juga meningkatkan risiko komplikasi saat terpapar infeksi.

Infeksi saluran pernapasan akut (ISPA) merupakan salah satu penyakit menular yang paling umum menyerang individu di seluruh dunia. Bakteri patogen merupakan agen etiologi utama yang bertanggung jawab atas ISPA. Penelitian telah menunjukkan bahwa bakteri Gram positif, seperti *S. pneumoniae* dan *S. aureus*, bersama dengan bakteri Gram negatif seperti *Haemophilus influenzae* dan *P. aeruginosa*, umumnya diisolasi dari pasien yang menderita infeksi ini. Faktanya, *S. pneumoniae* diidentifikasi sebagai patogen yang paling dominan dalam penelitian ini, mencakup 51,7% dari organisme Gram positif yang diisolasi (Khan et al., 2015).

Usia merupakan salah satu faktor risiko utama terjadinya infeksi bakteri. Seiring bertambahnya usia, sistem imun mengalami penurunan kemampuan mengenali dan merespons infeksi, kondisi yang dikenal sebagai *immunosenescence* (Esme et al., 2019). *P. aeruginosa* dan *S. aureus* berkaitan erat dengan infeksi saluran pernapasan pada lansia karena kemampuannya beradaptasi dengan kondisi tubuh yang lemah dan resistensi terhadap antibiotik. Selain itu, orang lanjut usia dengan penyakit penyerta seperti diabetes dan penyakit paru obstruktif menahun (PPOK) lebih rentan terhadap infeksi berulang oleh *S. aureus* (Todd, 2024).

*Pseudomonas aeruginosa* adalah bakteri Gram negatif, aerobik, batang yang tidak membentuk spora yang mampu menyebabkan berbagai infeksi pada inang yang memiliki sistem kekebalan tubuh yang baik maupun yang memiliki sistem kekebalan tubuh yang

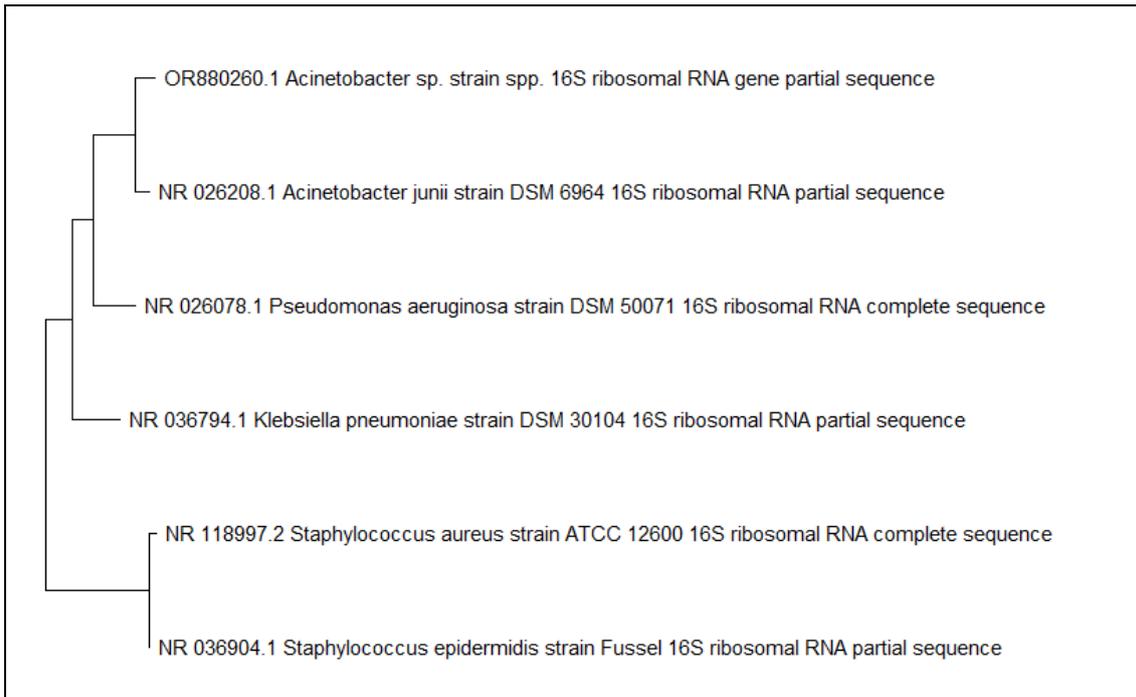
lemah. Kecenderungannya untuk menyebabkan infeksi pada inang yang memiliki sistem kekebalan tubuh yang baik, sifatnya yang serba guna, ketahanannya terhadap antibiotik, dan susunan pertahanannya yang dinamis membuatnya menjadi organisme yang sangat sulit (Wilson & Pandey, 2023).modern (Wilson & Pandey, 2023).

*Staphylococcus aureus* merupakan patogen bakteri utama pada manusia, yang menyebabkan berbagai macam manifestasi klinis. *Staphylococcus aureus* termasuk strain yang resisten terhadap obat seperti MRSA (*Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*) ditemukan pada kulit dan selaput lendir, dan manusia merupakan reservoir utama bagi organisme tersebut. *S. aureus* merupakan salah satu infeksi bakteri yang paling umum pada manusia dan merupakan agen penyebab berbagai infeksi pada manusia, termasuk bakteremia, endokarditis infektif, infeksi kulit dan jaringan lunak, infeksi paru-paru (misalnya, pneumonia dan empiema), gastroenteritis, meningitis, sindrom syok toksik, dan infeksi saluran kemih. Bergantung pada strain yang terlibat dan lokasi infeksi, bakteri ini dapat menyebabkan infeksi invasif dan penyakit yang dimediasi oleh toksin (Taylor & Unakal, 2023).

*Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri patogen oportunistik yang memanfaatkan menurunnya fungsi imun untuk menginfeksi tubuh manusia. Bakteri *K. pneumoniae* merupakan bakteri yang dapat hidup di mana saja. Bakteri ini merupakan flora sementara yang terdapat di saluran pernapasan atas dan kulit. Bakteri *K. pneumoniae* juga dilaporkan dapat diisolasi dari lingkungan seperti permukaan udara dan peralatan medis. Bakteri ini merupakan penyebab pneumonia, infeksi saluran kemih, sepsis, meningitis dan abses hati (Iffitawati et al., 2024). Dalam penelitian ini, *K. pneumoniae* ditemukan pada pasien usia 40 dan 47 tahun, yang tergolong usia dewasa. meskipun infeksi nosokomial umumnya lebih umum terjadi pada lansia, temuan ini menunjukkan bahwa infeksi juga dapat terjadi pada pasien yang lebih muda, terutama jika terdapat faktor risiko seperti paparan lingkungan rumah sakit, penggunaan alat invasif, atau gangguan imun lokal. *K. pneumoniae* diketahui memiliki tingkat virulensi yang tinggi dan mampu menyerang individu dengan sistem imun yang terganggu, tidak hanya lansia tetapi juga orang dewasa yang menjalani perawatan di fasilitas kesehatan (Paczosa & Meccas, 2016).

*Acinetobacter* adalah *coccobacillus* Gram negatif, yang secara alami hidup di udara dan tanah serta hewan peliharaan, artropoda, dan hewan pangan. Pada manusia, bakteri ini dapat berkolonisasi di kulit, luka, saluran pernapasan atau saluran pencernaan, dan mukosa mulut, sehingga menyebabkan pneumonia jika terhirup ke saluran pernapasan bagian bawah. *Acinetobacter junii* adalah salah satu dari lebih dari 50 spesies berbeda yang termasuk dalam Genus *Acinetobacter*. Bakteri ini jarang dilaporkan menyebabkan infeksi pada manusia. Spesies *Acinetobacter* tertentu merupakan penyebab beberapa infeksi terkait pelayanan kesehatan seperti pneumonia terkait ventilator, infeksi aliran darah terkait kateter, infeksi saluran kemih terkait kateter, dan infeksi tempat penyembuhan (Abo-Zed et al., 2020).

Pohon filogenetik merupakan salah satu metode yang digunakan untuk mengetahui hubungan kekerabatan makhluk hidup di bumi. Pohon filogenetik merupakan susunan spesies yang tersusun dalam bentuk cabang-cabang yang menghubungkannya berdasarkan hubungan kekerabatan evolusi. Ada dua cara untuk membuat pohon filogenetik, yaitu yang pertama secara sederhana (manual) dan yang kedua menggunakan perangkat lunak. Metode sederhana yang digunakan adalah berdasarkan urutan DNA dengan cara membandingkan urutan DNA. Sedangkan menggunakan perangkat lunak yaitu menggunakan perangkat lunak Clustal W (Subari et al., 2021).



Gambar 3. Pohon filogenetik dari jenis bakteri yang terdapat pada sampel sputum

Berdasarkan Gambar 3, pohon filogeni memberikan gambaran tentang hubungan evolusi antar spesies bakteri berdasarkan analisis genetik. Melalui urutan gen RNA ribosom 16S, yang sering digunakan sebagai alat untuk mengidentifikasi kekerabatan antar spesies. Dalam kelompok *Acinetobacter*, terlihat bahwa *Acinetobacter* sp. strain spp. dan *A. junii* strain DSM 6964 memiliki kekerabatan yang erat. Jarak garis 0,050 menunjukkan bahwa meskipun ada perbedaan, keduanya berbagi nenek moyang yang relatif baru. Hal ini menunjukkan bahwa spesies dalam genus *Acinetobacter* memiliki karakteristik biologi dan ekologi yang serupa, yang memungkinkan mereka untuk berkembang dalam lingkungan yang sama. Menurut MAO et al. (2014) analisis urutan gen 16S rRNA menunjukkan bahwa strain yang diisolasi memiliki 100% kesamaan dengan data *A. junii* yang dipublikasikan di GenBank. Tingkat kesamaan genetik yang tinggi ini menunjukkan hubungan kekerabatan yang erat antara strain yang terisolasi dan *A. junii*, yang menunjukkan bahwa keduanya termasuk dalam spesies yang sama atau era yang terkait erat.

*Staphylococcus aureus* dan *S. epidermidis* adalah spesies yang berkerabat dekat dalam Genus *Staphylococcus*, memiliki tingkat kesamaan genetik yang signifikan meskipun merupakan organisme yang berbeda. Keduanya adalah patogen oportunistik dan komensal umum yang ditemukan pada kulit manusia dan di faring hidung, yang berkontribusi pada tumpang tindih ekologisnya. Secara genetik, mereka menunjukkan divergensi nukleotida rata-rata sekitar 24% di 1.478 gen inti, menunjukkan bahwa sementara mereka terkait, mereka telah cukup menyimpang untuk diklasifikasikan sebagai spesies terpisah (Méric et al., 2015).

*Pseudomonas aeruginosa* dan *A. baumannii* merupakan salah satu penyebab utama infeksi nosokomial. Bakteri ini termasuk dalam kelompok bakteri yang dikenal sebagai “ESKAPE” (*E. faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, dan spesies *Enterobacter*). Selain itu, kelompok bakteri ini sulit diobati dalam banyak kasus. Spesies *Acinetobacter* dan *Pseudomonas* sebelumnya telah dilaporkan dari berbagai

sampel klinis infeksi hewan dan manusia. Banyak dari mereka yang resistan terhadap beberapa kelas antibiotik terutama oleh beberapa mekanisme resistensi intrinsik yang dikodekannya, dan kedua oleh mekanisme resistensi yang didapat. Penelitian ini menunjukkan bahwa strain *P. aeruginosa* dan *A. baumannii* yang resistan terhadap banyak obat merupakan penyebab utama infeksi yang didapat di rumah sakit (Sewunet et al., 2022).

## KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian dapat disimpulkan bahwa pada 21 sampel sputum, sebanyak 9 sampel (42,86%) berhasil teridentifikasi dan 12 sampel yang tidak ditemukan pertumbuhan bakteri aerob patogen pada spesimen sputum. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa bakteri yang terdeteksi antara lain *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Acinetobacter* spp., *A. junii* dan *Klebsiella pneumoniae*. Dari hasil penelitian diketahui bahwa *K. pneumoniae* dan *S. aureus* merupakan jenis bakteri yang paling banyak teridentifikasi pada sampel sputum. Pemanfaatan teknologi MALDI-TOF dalam identifikasi bakteri terbukti efektif dan efisien, sehingga memungkinkan deteksi patogen yang berpotensi mengancam kesehatan secara lebih cepat dan akurat. Hasil analisis filogenetik menunjukkan bahwa strain *Acinetobacter* spp. dan strain *A. junii* DSM 6964 sangat erat hubungannya dengan tingkat kesamaan genetik yang tinggi. *Staphylococcus aureus* dan *S. epidermidis* juga berkerabat dekat dalam genus *Staphylococcus*, tetapi divergensi genetiknya cukup besar untuk diklasifikasikan sebagai spesies terpisah. Sementara itu, *Pseudomonas aeruginosa* dan *A. baumannii*, meskipun berbeda secara filogenetik, termasuk dalam kelompok ESKAPE yang sering menyebabkan infeksi nosokomial dan menunjukkan resistensi antibiotik yang tinggi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abo-Zed, A., Yassin, M., & Phan, T. (2020). *Acinetobacter junii* as a rare pathogen of urinary tract infection. *Urology Case Reports*, 32(101209), 1-2. <https://doi.org/10.1016/J.EUCR.2020.101209>.
- Dorawati, M., Herawati, I., & Fauziah, P. N. (2021). Identifikasi bakteri Gram negatif dari sputum penderita infeksi saluran pernapasan akut di Rumah Sakit Dustira Kota Cimahi. *Anakes : Jurnal Ilmiah Analisis Kesehatan*, 7(1), 37–44. <https://doi.org/10.37012/ANAKES.V7I1.515>.
- Enjuto, E. L., Robert de Saint Vincent, M., Maurin, M., Degano, B., & Bodiguel, H. (2023). Sputum handling for rheology. *Scientific Reports*, 13(1), 1-10. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-34043-9>.
- Esme, M., Topeli, A., Yavuz, B. B., & Akova, M. (2019). Infections in the Elderly Critically-Ill Patients.
- Febriza, M. A., Adrian, Q. J., & Sucipto, A. (2021). Penerapan Ar dalam media pembelajaran klasifikasi bakteri. *Jurnal BIOEDUIN: Program Studi Pendidikan Biologi*, 11(1), 10–18. <https://doi.org/10.15575/bioeduin.v11i1.12076>.
- Hardouin, P., Pible, O., Marchandin, H., Culotta, K., Armengaud, J., Chiron, R., & Grenga, L. (2022). Quick and wide-range taxonomical repertoire establishment of the cystic fibrosis lung microbiota by tandem mass spectrometry on sputum samples. *Frontiers in Microbiology*, 13(October), 1-15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.975883>.
- Iffitawati, L., Rini, C. S., Mushlih, M., & Hanum, G. R. (2024). Deteksi bakteri dari sampel sputum pada pasien terdiagnosa pneumonia dan non pneumonia dengan alat semiautomatis mikrobiologi. *UMSIDA Preprints Server*, 1–5. <https://doi.org/10.21070/ups.6506>.
- Khan, S., Priti, S., & Ankit, S. (2015). Bacteria etiological agents causing lower respiratory tract infections and their resistance patterns. *Iranian Biomedical Journal*, 19(4), 240–246. <https://doi.org/10.7508/ibj.2015.04.008>.
- Mao, Z., Mao, Y., & Wang, J. (2013). Isolation, identification and drug-resistance genes detection of *Acinetobacter junii* from fish. *Journal of Fisheries of China*, 37(10), 1572. <https://doi.org/10.3724/SP.J.1231.2013.38707>.
- Maurer, F. P., Christner, M., Hentschke, M., & Rohde, H. (2017). Advances in rapid identification and susceptibility testing of bacteria in the clinical microbiology laboratory: Implications for patient care

- and antimicrobial stewardship programs. *Infectious Disease Reports*, 9(1), 18–27. <https://doi.org/10.4081/idr.2017.6839>.
- Méric, G., Miragaia, M., De Been, M., Yahara, K., Pascoe, B., Mageiros, L., Mikhail, J., Harris, L. G., Wilkinson, T. S., Rolo, J., Lamble, S., Bray, J. E., Jolley, K. A., Hanage, W. P., Bowden, R., Maiden, M. C. J., Mack, D., De Lencastre, H., Feil, E. J., ... Sheppard, S. K. (2015). Ecological overlap and horizontal gene transfer in *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Genome Biology and Evolution*, 7(5), 1313–1328. <https://doi.org/10.1093/gbe/evv066>.
- Meyer, J. G. (2018). Fast proteome identification and quantification from data-dependent acquisition - tandem mass spectrometry using free software tools. *ArXiv: Quantitative Methods*, 2(1), 1–17. <https://doi.org/10.3390/MPS2010008>.
- Noer, S. (2021). Identifikasi bakteri secara molekular menggunakan 16S rRNA. *EduBiologia: Biological Science and Education Journal*, 1(1), 1-6. <https://doi.org/10.30998/edubiologia.v1i1.8596>.
- Oviaño, M., & Rodríguez-Sánchez, B. (2021). MALDI-TOF mass spectrometry in the 21st century clinical microbiology laboratory. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 39(4), 192–200. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2020.02.027>.
- Paczosa, M. K., & Meccas, J. (2016). *Klebsiella pneumoniae*: Going on the offense with a strong defense. *Molecular Biology and Reviews*, 80(3), 629–661. <https://doi.org/10.1128/mbr.00078-15>.
- Patel, R. (2015). MALDI-TOF MS for the diagnosis of infectious diseases. *Clinical Chemistry*, 61(1), 100–111. <https://doi.org/10.1373/CLINCHEM.2014.221770>.
- Rulaningtyas, R., Suksmono, A. B., Mengko, T. L. R., & Saptawati, P. (2015). Identification of *Mycobacterium Tuberculosis* in sputum smear slide using automatic scanning microscope. *AIP Conference Proceedings*, 1656(1), 060011. <https://doi.org/10.1063/1.4917142>.
- Rychert, J. (2019). Benefits and limitations of MALDI-TOF mass spectrometry for the identification of microorganisms. *Journal of Infectiology and Epidemiology*, 2(4), 1–5. <https://doi.org/10.29245/2689-9981/2019/4.1142>.
- Sewunet, T., Asrat, D., Woldeamanuel, Y., Aseffa, A., & Giske, C. G. (2022). Molecular epidemiology and antimicrobial susceptibility of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. from clinical samples at Jimma medical center, Ethiopia. *Frontiers in Microbiology*, 13(951857), 1-13. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2022.951857>.
- Shoaib, M., Muzammil, I., Hammad, M., Bhutta, Z. A., & Yaseen, I. (2020). A mini-review on commonly used biochemical tests for identification of bacteria. *International Journal of Research Publications*, 54(1), 1–6. <https://doi.org/10.47119/ijrp100541620201224>.
- Sidik, N. S. (2017). Identifikasi bakteri kelompok viridans streptokokus menggunakan spektrometri Massa MALDI-TOF. *Tesis*. Institut Pertanian Bogor.
- Su, K. Y., Yan, B. S., Chiu, H. C., Yu, C. J., Chang, S. Y., Jou, R., Liu, J. L., Hsueh, P. R., & Yu, S. L. (2017). Rapid sputum multiplex detection of the m. tuberculosis complex (mtbc) and resistance mutations for eight antibiotics by nucleotide MALDI-TOF MS. *Scientific Reports*, 7(1), 41486–41486. <https://doi.org/10.1038/SREP41486>.
- Subari, A., Razak, A., & Sumarmin, R. (2021). Phylogenetic analysis of *Rasbora* spp. based on the mitochondrial DNA COI gene in Harapan Forest. *Jurnal Biologi Tropis*, 21(1), 89–94. <https://doi.org/10.29303/JBT.V21I1.2351>.
- Taylor, T. A., & Unakal, C. G. (2023). *Staphylococcus aureus* infection. *Encyclopedia of Food Safety, Second Edition*, 1-4, V2-310-V2-318. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822521-9.00048-4>.
- Todd, E. C. D. (2024). *Staphylococcus aureus*. *Encyclopedia of Food Safety, Second Edition*, 1-4, 310–318. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822521-9.00048-4>.
- Wilson, M. G., & Pandey, S. (2023). *Pseudomonas aeruginosa*. 373–389. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557831/>.
- Yahav, D., Eliakim-Raz, N., Leibovici, L., & Paul, M. (2016). Bloodstream infections in older patients. *Virulence*, 7(3), 341–352. <https://doi.org/10.1080/21505594.2015.1132142>.