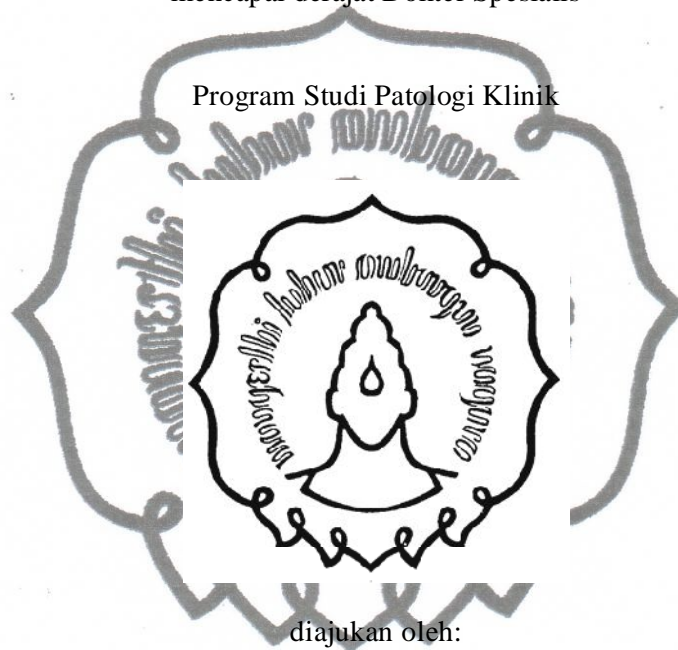


VALIDITAS DAN *CUT-OFF* BAKTERI URINE BERDASARKAN METODE
FLOW CYTOMETRY UNTUK MENDIAGNOSIS
INFEKSI BAKTERI SALURAN KEMIH

Karya Akhir

Untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai derajat Dokter Spesialis

Program Studi Patologi Klinik



diajukan oleh:

Kurniawan Sutanto
NIM: S970109004

PROGRAM STUDI PATOLOGI KLINIK
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA

2012

commit to user

PERSETUJUAN

Laporan Tugas Akhir

**VALIDITAS DAN *CUT-OFF* BAKTERI URINE BERDASARKAN
METODE *FLOW CYTOMETRY* UNTUK MENDIAGNOSIS
INFEKSI BAKTERI SALURAN KEMIH**

Kurniawan Sutanto

S970109004

Telah diuji dan disahkan di hadapan

Tim Penguji Laporan Tugas Akhir

Program Studi Pendidikan Dokter Spesialis Patologi Klinik

Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta

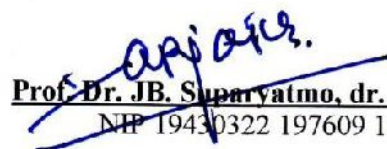
Pada hari Kamis tanggal 8 November 2012

Pembimbing Utama



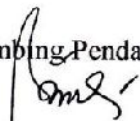
Tahono, dr., Sp.PK-K
NIP 19491112 197609 1 001

Penguji Utama



Prof. Dr. JB. Suparyatmo, dr. Sp.PK-K
NIP 19430322 197609 1 001

Pembimbing Pendamping



B. Rina A Sidharta, dr., Sp.PK
NIP 19630422 198812 2 001

Anggota Penguji



H. Yuwono H S, dr., Sp.PK
NIP 19450510 197903 1 001

Kepala Bagian/Ketua Program Studi Patologi Klinik
Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret



Tahono, dr., Sp.PK-K
NIP 19491112 197609 1 001

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam karya akhir ini bukan merupakan karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga bukan merupakan karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.



Surakarta, 28 Oktober 2012

Kurniawan Sutanto

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus, Allah yang Maha Adil dan Penyayang, Juruselamat dunia, atas Kasih dan KuasaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya akhir ini untuk memenuhi persyaratan mencapai derajat Dokter Spesialis Patologi Klinik, Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Ucapan terima kasih yang tak terhingga penulis sampaikan kepada Prof. Dr. JB. Suparyatmo, dr. Sp.PK-K selaku Kepala Bagian/SMF Fakultas Kedokteran UNS RSUD dr. Moewardi Surakarta, Tahono, dr. Sp.PK-K selaku pembimbing materi dan Ketua Program Studi Patologi Klinik Fakultas Kedokteran UNS Surakarta, dan B. Rina A. Sidharta, dr. Sp.PK-K selaku Kepala Instalasi Laboratorium Patologi Klinik RSUD dr. Moewardi Surakarta, dan segenap Bapak Ibu Dosen Patologi Klinik Fakultas Kedokteran UNS Surakarta yang telah banyak memberikan saran-saran dan mengarahkan sehingga karya akhir ini menjadi jauh lebih baik serta lebih bermakna.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada mama saya yang sangat saya kagumi dan saya cintai, Ny. Ong Tjit Nio, atas segala doa, dana, dukungan dan nasehatnya; istriku tercinta Francisca Irawati, S.Psy. Psy.; anakku tercinta Richard Nathanael Sutanto yang dapat memberikan kebahagiaan dan juga semangat kepada saya, serta para pasien yang bersedia diperiksa urinenya serta para residen Interna yang telah banyak membantu dan rekan-rekan di Laboratorium Patologi Klinik RSUD dr. Moewardi Surakarta atas dukungan dan kerjasamanya selama ini.

Akhirnya penulis berharap semoga karya akhir ini dapat memberikan manfaat yang sebesar-besarnya bagi umat manusia. Tuhan Yesus memberkati kita semua..

Surakarta, 28 Oktober 2012

Kurniawan

commit to user

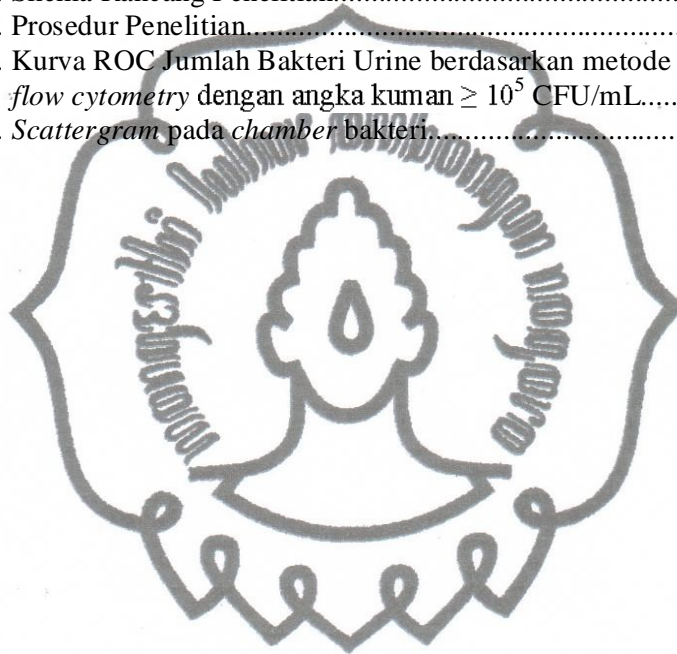
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
PERNYATAAN.....	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR SINGKATAN.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
INTISARI.....	xi
ABSTRACT.....	xii
BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Penelitian.....	1
B. Perumusan Masalah.....	6
C. Pertanyaan Penelitian	7
D. Keaslian Penelitian	7
E. Manfaat Penelitian	8
F. Tujuan Penelitian	9
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Definisi Infeksi Saluran Kemih.....	10
B. Klasifikasi ISK.....	12
C. Epidemiologi ISK.....	13
D. Etiologi ISK.....	13
E. Patogenesis ISK.....	14
Faktor yang mempengaruhi patogenesis ISK.....	15
F. Diagnosis ISK.....	18
Metode pemeriksaan urine untuk diagnosis ISK.....	18
Metode <i>Flow Cytometry</i>	18
Metode Konvensional.....	22
Kultur Urine.....	23
Faktor Lingkungan yang Berdampak Pada Pertumbuhan Mikroorganisme.....	24
Kontrol Kualitas (Pemantapan Mutu).....	26
G. Penentuan Jumlah Bakteri dan Interpretasi Hasil Biakan Urine Kuantitatif.....	27
H. Kerangka Teori	30
I. Kerangka Konsep.....	31
J. Hipotesis.....	31

BAB III. METODE DAN CARA PENELITIAN	
A. Rancang Penelitian.....	32
B. Tempat dan Waktu Penelitian	32
C. Subyek Penelitian	32
D. Besar Sampel	33
E. Skema Rancang Penelitian.....	34
F. Prosedur Penelitian.....	35
G. Identifikasi Variabel Penelitian	38
H. Definisi Operasional Variabel dan Pengukuran.....	38
I. Kualitas Kontrol Internal.....	40
J. Analisis Statistik	41
K. Pertimbangan Etik.....	41
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Validitas Uji Analitik.....	42
B. Karakteristik Subyek Penelitian.....	44
C. Penentuan <i>Cut-Off</i> Jumlah Bakteri Urine UF1000i Untuk Mendiagnosis ISK.....	46
D. Interpretasi Hasil Uji Diagnosis.....	49
E. Evaluasi Hasil Penelitian berdasarkan EBM.....	51
F. Validitas Penelitian berdasarkan Uji Statistik dan EBM.....	52
BAB V. SIMPULAN DAN SARAN	
A. Simpulan.....	54
B. Saran.....	54
RINGKASAN.....	55
DAFTAR PUSTAKA.....	59
LAMPIRAN.....	61

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Metode Urine <i>Flow Cytometry</i>	21
Gambar 2. Kerangka Teori.....	30
Gambar 3. Kerangka Konsep.....	31
Gambar 4. Skema Rancang Penelitian.....	34
Gambar 5. Prosedur Penelitian.....	37
Gambar 6. Kurva ROC Jumlah Bakteri Urine berdasarkan metode <i>flow cytometry</i> dengan angka kuman $\geq 10^5$ CFU/mL.....	46
Gambar 7. <i>Scattergram</i> pada <i>chamber</i> bakteri.....	48

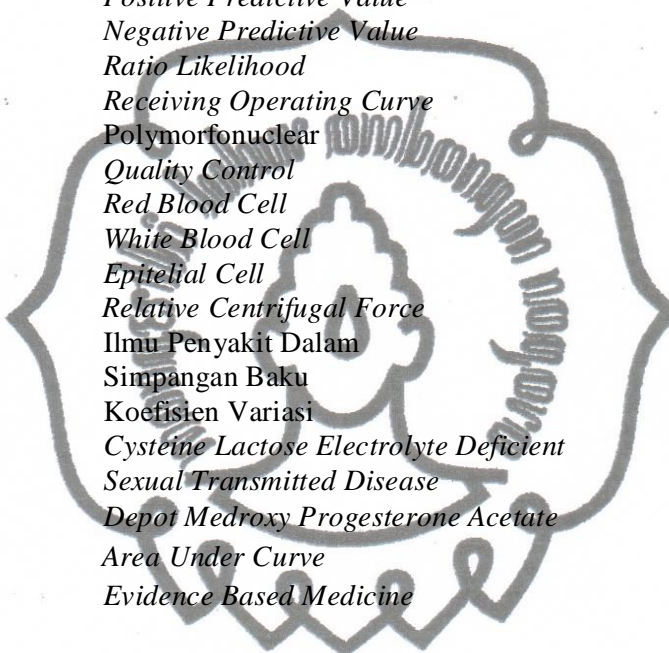


DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Penggunaan <i>cut-off</i> yang bervariasi untuk penentuan diagnosis ISK berdasarkan kultur urine oleh berbagai peneliti.....	29
Tabel 2. Hasil uji presisi sehari Jumlah Bakteri UF-1000i.....	42
Tabel 3. Hasil Uji presisi hari ke hari Jumlah Bakteri UF-1000i. Kontrol <i>High</i>	43
Tabel 4. Hasil Uji presisi hari ke hari Jumlah Bakteri UF-1000i. Kontrol <i>Low</i>	43
Tabel 5. Hasil Uji Akurasi Jumlah Bakteri Urine UF1000i. Kontrol <i>High</i>	44
Tabel 6. Hasil Uji Akurasi Jumlah Bakteri Urine UF1000i. Kontrol <i>Low</i>	44
Tabel 7. Karakteristik dasar subyek penelitian.....	45
Tabel 8. Frekuensi hasil kultur berbagai angka kuman	45
Tabel 9. Berbagai nilai <i>cut-off</i> jumlah bakteri urine berdasarkan metode <i>flow cytometry</i> dengan angka kuman $\geq 10^5$ CFU/mL.....	47
Tabel 10. Uji presisi sehari Jumlah Bakteri UF-1000i.....	61
Tabel 11. Uji presisi hari ke hari Jumlah Bakteri UF-1000i. Kontrol <i>High</i>	61
Tabel 12. Uji presisi hari ke hari Jumlah Bakteri UF-1000i. Kontrol <i>Low</i>	61

DAFTAR SINGKATAN



ISK	Infeksi Saluran Kemih
CFU	<i>Colony Forming Unit</i>
LPB	Lapang Pandang Besar
WHO	<i>World Health Organization</i>
UTI	<i>Urinary Tract Infection</i>
PPV	<i>Positive Predictive Value</i>
NPV	<i>Negative Predictive Value</i>
RL	<i>Ratio Likelihood</i>
ROC	<i>Receiving Operating Curve</i>
PMN	Polymorfonuclear
QC	<i>Quality Control</i>
RBC	<i>Red Blood Cell</i>
WBC	<i>White Blood Cell</i>
EC	<i>Epitelial Cell</i>
RCF	<i>Relative Centrifugal Force</i>
IPD	Ilmu Penyakit Dalam
SB	Simpangan Baku
KV	Koefisien Variasi
CLED	<i>Cysteine Lactose Electrolyte Deficient</i>
STD	<i>Sexual Transmitted Disease</i>
DMPA	<i>Depot Medroxy Progesterone Acetate</i>
AUC	<i>Area Under Curve</i>
EBM	<i>Evidence Based Medicine</i>

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Tabel Uji Presisi Sehari dan Hari ke Hari.....	61
Lampiran 2. Grafik <i>Quality Control</i> (QC).....	62
Lampiran 3. Formulir Persetujuan Mengikuti Penelitian.....	68
Lampiran 4. Formulir Isian Penelitian.....	69
Lampiran 5. Tabel Cumitech 2A.....	70
Lampiran 6 Rumus Uji Diagnostik dan <i>Test-treatment Thresholds</i>	71
Lampiran 7. <i>Ethical Clearance</i>	72



VALIDITAS DAN *CUT-OFF* BAKTERI URINE BERDASARKAN METODE
FLOW CYTOMETRY UNTUK MENDIAGNOSIS
INFEKSI BAKTERI SALURAN KEMIH

Kurniawan Sutanto, Tahono

ABSTRAK

Infeksi Saluran Kemih (ISK) merupakan salah satu penyakit infeksi terbanyak kedua setelah Infeksi Saluran Pernafasan Akut yang sering ditemukan di praktik umum. Kultur urine adalah tes mikrobiologi yang paling sering digunakan untuk diagnosis ISK. Tes ini tidak praktis, mahal dan hasil baru dapat diperoleh setelah satu hari. *Urine analyzer* metode *flow cytometry* merupakan tes yang lebih praktis dan dapat diandalkan dalam mendiagnosis ISK. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan validitas dan *cut-off* jumlah bakteri urine pada *urine analyzer* metode *flow cytometry*.

Rancangan penelitian potong lintang dengan subyek penelitian adalah penderita usia 18-60 tahun, dengan leukosituria lebih dari 10/Lapang Pandang Besar yang memeriksakan diri di Poliklinik Penyakit Dalam. Sampel dianalisis di Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr.Moewardi Surakarta. Diagnosis ISK ditentukan dengan cara membandingkan hasil tes dengan kultur urine sebagai *gold standard* dan dikatakan positif bila ditemukan jumlah koloni bakteri $\geq 10^5$ CFU/mL. Analisis statistik menggunakan kurva ROC untuk mendapatkan *cut-off* terbaik lalu dianalisis sensitivitas, spesifisitas, *positive predictive value* (PPV), *negative predictive value* (NPV), *likelihood ratio* (LR) dan akurasi menggunakan program komputer dengan interval kepercayaan 95%.

Berdasarkan analisis kurva ROC didapatkan *area under the curve* (AUC) jumlah bakteri urine berdasarkan metode *flow cytometry* sebesar 0,905 dan dengan menetapkan *cut-off* 2.150/ μ L, memberikan hasil validitas sensitivitas 76% untuk menyaring ISK dan spesifisitas 90% untuk mendiagnosis ISK, PPV 82,4%, NPV 85,5%, LR positif 7,6 dan LR negatif 0,26. Koefisien Variasi hasil uji presisi sehari 3,63%, presisi hari ke hari pada kontrol tinggi 0,48%, pada kontrol rendah 5,26% dan nilai bias hasil uji akurasi pada kontrol tinggi 0,0009% sedangkan pada kontrol rendah 0,01%.

Jumlah bakteri urine berdasarkan metode *flow cytometry* dengan *cut-off* 2.150/ μ L mempunyai validitas yang tinggi untuk mendiagnosis ISK.

Kata kunci : ISK - urine flow cytometry - kultur urine

THE VALIDITY AND CUT-OFF OF URINE BACTERIA BASED ON THE
FLOW CYTOMETRY METHOD TO DIAGNOSE THE BACTERIAL
URINARY TRACT INFECTION

Kurniawan Sutanto, Tahono

ABSTRACT

Urinary Tract Infection (UTI) is considered to be the common disease and only the second in frequency to upper respiratory tract infection. Urine culture is the most common microbiologic tests in confirming the UTI diagnosis, so far. This test, is however considered not so practical, time consuming, and expensive. The flow cytometry method as urine analyzer has been introduced to be a more practical and reliable than microbiological tests for UTI. The aim of this study is to determine the validity and the best cut-off value of the test.

The study was performed by using cross sectional design. The urine samples were drawn from the patients, age between 18-60 years, with leucocyte in urine more than 10/HPF who admitted to the outpatient department of internal medicine of Moewardi Hospital at Surakarta. The diagnosis of UTI was determined by comparing the test results with urine culture as the gold standard which is considering as positive samples with $\geq 10^5$ CFU/mL. Analytic parameters such as : ROC, sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), negative predictive value (NPV) and likelihood ratio (LR) were performed to demonstrate the analytic performance.

Receiver operating characteristics (ROC) curve analysis showed an area under the curve (AUC) of 0.905 for bacterial count. Applying cut-off value 2150/ μ L has a sensitivity of 76% for screening UTI and specificity of 90% for diagnosing UTI, PPV 82.4%, NPV 85.5%, positive LR 7, 6 and negative LR 0.26. Coefficient of variation for bacteria count obtained within day precision of 3.63%, day to day precision at high control 0.48% and 5.26% at low control. Bias value at high control 0,0009% and 0.01% at low control.

The number of bacteria by urine flow cytometry method with cut-off 2.150/ μ L have a high validity for diagnosing UTI.

Key words : UTI- urine flow cytometry- urine culture.

BAB I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Penelitian

Infeksi Saluran Kemih (ISK) merupakan salah satu penyakit infeksi yang sering ditemukan di praktik umum (Sukandar, 2006; Okada *et al.*, 2007; Schmiemann *et al.*, 2010; Sukandar, 2010) dan merupakan penyakit infeksi kedua terbanyak setelah Infeksi Saluran Pernafasan Akut (ISPA) (Manoni *et al.*, 2009). Infeksi saluran kemih merupakan suatu istilah untuk menunjukkan adanya invasi mikroorganisme yang dapat mengenai tempat manapun sepanjang traktus urinarius, mulai dari meatus uretra sampai ginjal (Musim, 2007; Rosnety & Benny, 2007).

Sebagian besar kasus ISK disebabkan oleh bakteri gram negatif yang banyak ditemukan dalam traktus gastrointestinal yang merupakan famili Enterobacteriaceae dan juga bakteri gram positif yaitu *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* dan Enterococcus spesies. Bakteri tersebut dapat masuk ke dalam traktus urinarius secara hematogen maupun secara asenden. Jalur asenden merupakan jalur utama masuknya bakteri pada sebagian besar kasus ISK (Musim, 2007).

Infeksi saluran kemih dapat mengenai baik pria maupun wanita dari semua umur. Wanita lebih sering terkena ISK dibanding pria dengan angka populasi umum sekitar 5-15% (Rosnety & Benny, 2007). Prevalensi ISK sangat bervariasi menurut umur dan jenis kelamin (Musim, 2007; Schmiemann *et al.*, 2010). Prevalensi ISK pada wanita usia 18-60 tahun sekitar 60 penyakit/1000 orang/tahun (Schmiemann *et al.*, 2010). Infeksi saluran kemih juga sering

mengalami rekurensi dan dapat menyebabkan morbiditas akut maupun sekuele jangka panjang berupa sikatriks pada ginjal yang akhirnya dapat menyebabkan hipertensi dan insufisiensi maupun gagal ginjal (Musim, 2007).

Diagnosis dini dan akurat ISK sangat diperlukan (Musim, 2007; Okada *et al.*, 2007; Schmiemann *et al.*, 2010) karena ISK menimbulkan nyeri dan ketidaknyamanan (Okada *et al.*, 2007) dan juga untuk menentukan pasien yang membutuhkan terapi, pemeriksaan penunjang khusus atau intervensi lebih lanjut (Musim, 2007). Diagnosis ISK sering terlewatkan. Hal ini disebabkan karena kewaspadaan terhadap diagnosis ISK masih rendah dan fasilitas untuk menegakkan ataupun menyingkirkan diagnosis ISK sangat terbatas. Kendala lainnya dalam diagnosis ISK adalah karena gejala yang tidak muncul (asimtomatik) dan metode pemeriksaan yang sering tidak nyaman bagi pasien, membutuhkan waktu lama dan biaya yang mahal (Musim, 2007).

Diagnosis ISK dibuat berdasarkan anamnesis adanya gejala / tanda ISK, yaitu: nyeri suprapubik, disuria, frekuensi, urgensi, dan stranguria untuk ISK bagian bawah sedangkan demam, kram, nyeri punggung, muntah, skoliosis, dan penurunan berat badan untuk ISK bagian atas (Sukandar, 2006), pemeriksaan fisik dan pemeriksaan penunjang (Musim, 2007).

Urinalisis merupakan pemeriksaan diagnostik yang paling sering digunakan untuk mendeteksi kemungkinan adanya ISK karena hasilnya dapat diperoleh segera. Pemeriksaan urinalisis biasanya dilakukan pada spesimen urine yang telah disentrifus. Tiga komponen pemeriksaan urinalisis yang paling bermanfaat untuk evaluasi kemungkinan adanya ISK adalah pemeriksaan dengan

reagen strip/dipstick (pemeriksaan leukosit esterase dan pemeriksaan nitrit) dan pemeriksaan mikroskopik (Musim, 2007).

Pemeriksaan leukosit tidak spesifik karena pyuria dapat terjadi tanpa adanya infeksi sedangkan pemeriksaan nitrit memberikan bukti tidak langsung adanya bakteriuria karena pemecahan nitrat yang berasal dari makanan menjadi nitrit oleh adanya bakteri patogen dalam urine. Pemeriksaan mikroskopik untuk pyuria dilakukan dengan menilai jumlah leukosit dalam Lapangan Pandang Besar/LPB (*High Power Field/HPF*) dan disebut pyuria bila didapatkan >10 leukosit/LPB (McPherson *et al.*, 2007).

Berdasarkan berbagai penelitian, didapatkan sensitivitas, spesifisitas maupun *positive predictive value* yang berbeda-beda, dengan rentang yang cukup lebar, terutama untuk pemeriksaan mikroskopik (Musim, 2007). Hal ini disebabkan karena pemeriksaan mikroskopik membutuhkan latihan dan keterampilan tertentu; proses dekantasi, jumlah urine yang diletakkan di atas *object glass*, juga terdapat penyebaran sel yang tidak merata dalam pemeriksaan sehingga terjadi perbedaan antar laboratorium (Van der Zwet *et al.*, 2010).

Pada kenyataannya, semua pemeriksaan urinalisis tersebut mempunyai keterbatasan dalam mendiagnosis ISK (Musim, 2007). Pada sebuah *systematic review* yang dilakukan oleh Schmiemann *et al.* (2010) terhadap 105 artikel dari Medline, Pubmed dan *Cochrane Database*, tentang studi diagnostik ISK dengan *dipstick test* didapatkan hasil yang bervariasi dalam hal sensitivitas maupun spesifisitasnya.

Untuk menyatakan adanya ISK harus ditemukan bakteri di dalam urine. Tes yang terpenting ialah kultur urine sebagai baku emas diagnosis (Musim, 2007; Rosnety & Benny, 2007), tetapi kultur urine mahal, membutuhkan tenaga yang terlatih dan juga hasilnya baru bisa diperoleh dalam waktu 48 jam (Musim, 2007; Van der Zwet *et al.*, 2010) sehingga dokter sangat bergantung pada pemeriksaan laboratorium lainnya untuk sementara waktu sambil menunggu hasil kultur urine untuk konfirmasi diagnosis ISK (Musim, 2007).

Saat ini dikembangkan sebuah alat yang merupakan *urine analyzer* secara otomatis menggunakan metode gabungan antara *flow cytometry* dan impedansi. Nilai kuantitatif dari parameter yang dianalisis (RBC/*Red Blood Cell*, WBC/*White Blood Cell*, EC/*Epithelial Cell*, *Cast*, dan bakteri) dapat diperoleh menggunakan sampel urine yang belum disentrifugasi (Terajima *et al.*, 2009).

Alat dengan metode *flow cytometry* ini dapat menghitung bakteri, leukosit dan jamur bersamaan dengan sel darah merah, sel epitel skuamosa, *small round cell*, silinder hialin, silinder patologis, spermatozoa dan kristal (Manoni *et al.*, 2009). Alat ini diklaim dapat mendeteksi secara spesifik dan penghitungan bakteri urine menggunakan pewarna yang spesifik. Kelebihan lain dari alat ini adalah bakteri dianalisis menggunakan *channel* yang berbeda dari sedimen urine lainnya (Van der Zwet *et al.*, 2010).

Alat dengan metode *flow cytometry* sangat sensitif untuk mendeteksi bakteri, sampai mencapai konsentrasi antara 10^2 - 10^3 /mL. *Throughput* alat ini adalah sampai 100 sampel / jam dan dapat dianalisis secara otomatis (Manoni *et al.*, 2009).

Flow cytometry memungkinkan skrining sampel dalam jumlah besar dalam periode waktu yang singkat. Hasil akan segera tersedia dalam waktu sekitar 50 detik dan merupakan alternatif dalam mendiagnosis ISK, sehingga dapat mempercepat proses diagnosis karena akan mengurangi sejumlah besar kultur urine dan analisis mikroskopis (Van der Zwet *et al.*, 2010).

Kelebihan pemeriksaan alat dengan metode *flow cytometry* ini adalah tidak perlu tenaga dan waktu yang banyak dalam mempersiapkan spesimen dan tidak adanya variasi antar teknisi. Sebagai akibatnya, test sedimen urine dapat ditingkatkan kecepatan dan kualitasnya (Terajima *et al.*, 2009).

Menurut Van der Zwet *et al.* (2010) alat dengan metode *flow cytometry* mempunyai beberapa keuntungan dalam mendiagnosis ISK karena :

1. Penggunaan pewarna yang spesifik dan kemampuan *flow cytometry* dalam mendeteksi partikel yang lebih kecil dalam *scattergram*, menghasilkan sensitivitas yang tinggi.
2. Adanya *chamber* khusus bakteri pada alat ini mampu membedakan debris dan bakteri sehingga mempertinggi sensitivitas dan spesifisitas.
3. Nilai dari WBC dan bakteri yang digabungkan akan meningkatkan NPV (*Negative Predictive Value*) hampir 100%.
4. Durasi dalam proses diagnostik dapat diturunkan secara signifikan dari kultur yang membutuhkan waktu paling cepat 1 hari menjadi hanya beberapa jam, bahkan untuk sejumlah besar spesimen, 80-100 sampel dapat dianalisis per jam.

5. Hasil test negatif dari alat ini dapat menyingkirkan keperluan *follow up* dengan kultur.
6. Jika proses logistik optimal, para klinisi dapat memperoleh hasil hanya dalam beberapa jam saja, atau paling lambat diterima dalam hari yang sama.
7. Karena alat ini dapat menyingkirkan ISK, para klinisi dapat memutuskan kapan untuk memulai terapi antibiotik.

Pada penelitian ini akan ditentukan validitas dan nilai *cut-off* jumlah bakteri urine menggunakan alat dengan metode *flow cytometry* untuk menyaring dan mendiagnosis infeksi bakteri saluran kemih dengan mengacu kepada kultur urine menggunakan agar darah dan MacConkey dengan *cut off* $> 10^5$ *Colony Forming Unit/mL* (CFU/mL), karena setiap laboratorium sebaiknya mempunyai nilai referensinya sendiri.

B. Perumusan Masalah

1. Infeksi Saluran Kemih adalah penyakit infeksi yang sering ditemukan di praktek umum dan penyakit infeksi kedua terbanyak setelah ISPA, sering terjadi rekurensi, menyebabkan morbiditas akut, menimbulkan nyeri dan ketidaknyamanan.
2. Fasilitas untuk menegakkan atau menyingkirkan diagnosis ISK masih terbatas, urinalisis mempunyai keterbatasan dalam mendiagnosis ISK, kultur urine sebagai *gold standard* membutuhkan tenaga terlatih, butuh waktu lama dan biaya mahal.
3. Jumlah minimum bakteriuria yang menyebabkan ISK belum didefinisikan dalam literatur ilmiah maupun standarisasi dari laboratorium mikrobiologi.

4. Urine metode *flow cytometry* dapat menghitung bakteri secara spesifik, otomatis, hasil dapat segera tersedia, tidak memerlukan tenaga khusus, tidak ada variasi antar teknisi dan lebih murah. Diharapkan alat ini reliabel dan mempunyai validitas yang tinggi dalam menyaring dan mendiagnosis ISK sehingga terapi empiris dapat lebih cepat diberikan.

C. Pertanyaan penelitian

Apakah jumlah bakteri urine berdasar metode *flow cytometry* mempunyai validitas yang tinggi untuk menyaring dan mendiagnosis ISK?

D. Keaslian Penelitian

Penelitian potong lintang (Wang *et al.*, 2010) *Evaluation of the Sysmex UF-1000i for the Diagnosis of Urinary Tract Infection* pada 368 sampel urine *mid-stream* dari Departemen Mikrobiologi di Shanghai China, yang melakukan pemeriksaan UF-1000i didapatkan sensitivitas, spesifisitas, PPV, NPV, and akurasi dari UF-1000i untuk mendiagnosis ISK (WBC > 56/ μ L atau bakteri > 10⁵/mL atau *yeast-like fungi* > 100/ μ L), dibandingkan dengan kultur urine menggunakan media agar darah & MacConkey dengan *cut-off* untuk bakteri gram positif > 10⁴ CFU/mL sedangkan gram negatif > 10⁵ CFU/mL, didapatkan sensitivitas : 86%, spesifisitas : 95%, PPV: 91%, NPV: 94%, dan akurasi: 91%.

Penelitian potong lintang (Manoni *et al.*, 2009) di Italia pada 1463 sampel urine *mid-stream* yang diambil secara konsekutif selama 3 bulan dari Departemen Patologi Klinik yang melakukan pemeriksaan UF-1000i didapatkan 546 sampel yang memenuhi kriteria, dengan menggunakan analisis ROC (*Receiving Operator Curve*) didapatkan sensitivitas, spesifisitas, PPV, NPV, and akurasi dari UF-1000i

untuk mendiagnosis ISK (WBC > 40/ μ L dan atau bakteri > 125/ μ L), dibandingkan dengan kultur urine menggunakan media agar CLED dengan *cut-off* untuk bakteri $\geq 10^6$ CFU/mL, didapatkan sensitivitas : 99%, spesifisitas : 77%, PPV: 82%, NPV: 98%, dan akurasi: 87%.

Penelitian (Okada *et al.*, 2007) di Jepang pada 74 sampel urine dari Departemen Urologi dievaluasi antara jumlah bakteri menggunakan UF-1000i dan dengan kultur secara kuantitatif. Menggunakan *cut-off* 10^4 CFU/mL pada media kultur dan 10^4 /mL dengan UF-1000i, didapatkan sensitivitas 96,4%, spesifisitas 89,1%, akurasi 91,9%, PPV 84,4% dan NPV 97,6%.

Sepengetahuan penulis, penelitian serupa belum pernah dilakukan di Indonesia. Pada penelitian ini akan ditentukan validitas dan nilai *cut-off* jumlah bakteri urine menggunakan alat *flow cytometry* untuk menyaring dan mendiagnosis infeksi bakteri saluran kemih dengan mengacu kepada kultur urine menggunakan agar darah dan MacConkey dengan angka kuman > 10^5 CFU/mL yang sesuai dengan kriteria Sukandar (2006).

E. Manfaat Penelitian

Diharapkan dari penelitian ini akan didapatkan validitas bakteriuria berdasarkan metode *flow cytometry* dan juga nilai *cut-off* jumlah bakteri sebagai alternatif cara untuk mendiagnosis infeksi saluran kemih yang lebih cepat, praktis, murah dan mudah sehingga terapi empiris dapat lebih cepat diberikan dan juga untuk *follow up* manfaat pemberian antibiotik serta membantu klinisi dalam proses *clinical decision making*.

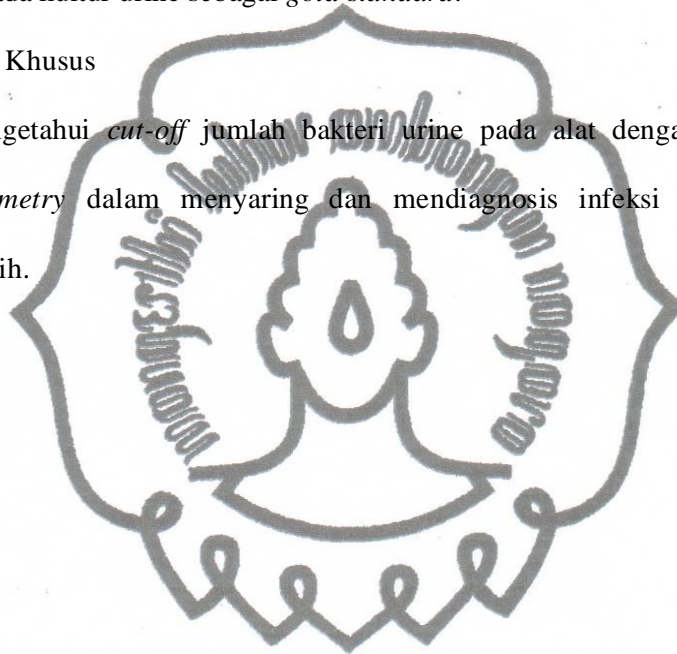
F. Tujuan penelitian

1. Tujuan Umum

Menentukan validitas bakteriuria berdasarkan metode *flow cytometry* untuk menyaring dan mendiagnosis infeksi bakteri saluran kemih dengan mengacu kepada kultur urine sebagai *gold standard*.

2. Tujuan Khusus

Mengetahui *cut-off* jumlah bakteri urine pada alat dengan metode *flow cytometry* dalam menyaring dan mendiagnosis infeksi bakteri saluran kemih.



BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Definisi Infeksi Saluran Kemih

Infeksi Saluran Kemih (ISK) adalah istilah umum yang dipakai untuk menyatakan adanya invasi mikroorganisme pada saluran kemih. Untuk menyatakan adanya ISK harus ditemukan bakteri di dalam urine (Rosnety & Benny, 2007).

Infeksi saluran kemih didefinisikan sebagai adanya bakteriuria yang bermakna pada pasien disertai respons inflamasi (yaitu pyuria pada pemeriksaan *dipstick* atau urinalisis mikroskopik). Batasan bakteriuria yang bermakna tergantung metode pengumpulan sampel urine. Definisi standar berupa pertumbuhan bakteri uropatogenik dengan jumlah $\geq 10^5$ CFU/ml dari sampel urine *mid-stream*. Bila spesimen urine didapatkan dengan aspirasi suprapubik maka adanya satu bakteri saja sudah dianggap penting secara klinis. ISK dikatakan rekuren bila terjadi infeksi lagi oleh organisme yang lain dan dikatakan relaps bila terjadi infeksi lagi oleh organisme yang sama (Musim, 2007).

Menurut perspektif mikrobiologi, infeksi saluran kemih ditegakkan bila terdeteksi adanya mikroorganisme patogen dalam urine, uretra, kandung kemih, ginjal atau prostat. Pertumbuhan kuman $\geq 10^5$ /mL yang berasal dari urine *mid-stream* mengindikasikan adanya ISK. Pada pasien simptomatik, bakteri yang lebih sedikit (10^2 - 10^4 /mL) mungkin menandakan adanya infeksi. Spesimen dari suprapubik atau “*in-and-out*” kateterisasi dan pada pasien dengan *indwelling kateter*, jumlah koloni 10^2 - 10^4 /mL secara umum mengindikasikan adanya infeksi.

commit to user

Kebalikannya, jumlah koloni $> 10^5$ urine *mid-stream* biasanya berhubungan dengan adanya kontaminasi, yaitu saat ditemukan *multiple* spesies bakteri (Fauci *et al.*, 2008).

Infeksi yang terjadi lagi setelah terapi antibiotik berhubungan dengan adanya infeksi *strain* yang persisten (dipastikan oleh spesies, antibiogram, serotipe dan tipe molekuler) atau adanya infeksi ulang dari *strain* baru. Infeksi rekuren dari *strain* yang sama terjadi bila dalam 2 minggu sejak penghentian terapi, dapat akibat infeksi prostat atau renal yang tidak terselesaikan (relapse) atau adanya kolonisasi dari intestinal atau vagina yang persisten yang berakibat menjadi reinfeksi kandung kemih. Gejala klinis berupa disuria, urgensi dan frekuensi yang tidak didapatkan adanya bakteriuria yang bermakna dikategorikan sebagai Sindrom Uretra Akut (SUA). Meskipun telah secara luas digunakan, terminologi ini mempunyai kekurangan ditinjau dari presisi anatomisnya karena banyak kasus SUA sebenarnya menunjuk adanya infeksi kandung kemih. Lebih lagi, sejak bakteri patogen dapat diidentifikasi, terminologi sindrom (penyebab yang tidak diketahui) kurang tepat (Fauci *et al.*, 2008).

Menurut Sukandar (2006) istilah bakteriuria bermakna digunakan bila ditemukan bakteri dalam urine (tidak terkontaminasi flora normal dari uretra) $> 10^5$ CFU/mL, dan tanpa leukosituria, sedangkan *covert bacteriuria* ialah bakteriuria bermakna tanpa manifestasi klinik. Bakteriuria simtomatik ialah bakteriuria disertai manifestasi klinik dinamakan infeksi saluran kemih (ISK) apabila terdapat bakteriuria patogen $> 10^5$ CFU per ml urine, leukosituria > 10 per

lapang pandang besar, serta manifestasi klinik. Istilah SUA adalah ISK bawah yang berhubungan dengan mikroorganisme anaerobik.

B. Klasifikasi ISK

ISK dapat diklasifikasikan menjadi beberapa jenis :

1. Berdasarkan ada tidaknya komplikasi :

a. ISK tanpa komplikasi/ sederhana

Merupakan jenis ISK yang sering ditemukan di masyarakat (Sukandar, 2006; Fauci *et al.*, 2008; Schmiemann *et al.*, 2010) terjadi pada pasien tanpa kelainan fisiologis/anatomis saluran kemih, sebagian besar dialami oleh wanita, terutama umur 18-40 tahun; pada pria dapat berasal dari prostatitis akut/epididimis.

b. ISK dengan komplikasi

Terjadi pada pasien dengan status imunitas yang rendah, kelainan obstruksi secara anatomik maupun fisiologik di saluran kemih. Tindakan instrumentasi, penyakit ginjal, adanya batu dan kateterisasi menginduksi terjadinya hidroureter dan dilatasi kandung kemih (Sukandar, 2006; Fauci *et al.*, 2008; Schmiemann *et al.*, 2010).

2. Berdasarkan anatomis :

Menurut Fauci *et al.* (2008) ISK akut berdasarkan anatomis dibagi menjadi dua kategori yaitu ISK bawah (uretritis dan sistitis) dan ISK atas (pielonefritis akut, prostatitis dan abses intrarenal serta abses perinefrik) sedangkan menurut Sukandar (2006), ISK dibagi menjadi ISK atas

(Pielonefritis dan Pielitis) dan ISK bawah (Sistitis, prostatitis, epididimitis, uretritis dan sindom uretra).

C. Epidemiologi ISK

Infeksi saluran kemih dapat mengenai baik pria maupun wanita dari semua umur. Prevalensi ISK berhubungan dengan faktor umur dan jenis kelamin (Sukandar, 2006). Wanita lebih sering terkena ISK dibanding pria dengan angka populasi umum sekitar 5-15% (Rosnety & Benny, 2007).

Pada populasi wanita, infeksi saluran kemih terjadi 1-3% pada usia sekolah dan meningkat secara signifikan pada usia remaja karena aktivitas seksual. Pada populasi pria, ISK akut simptomatik terjadi pada tahun pertama sejak kelahiran (berhubungan dengan adanya abnormalitas urologi); infeksi saluran kemih jarang terjadi pada pasien laki-laki dibawah usia 50 tahun. Perkembangan asimtomatik bakteriuria sejalan dengan ISK dan jarang ditemukan pada lelaki dibawah usia 50 tahun tetapi sering ditemukan pada wanita usia antara 20-50 tahun (Fauci *et al.*, 2008).

D. Mikroorganisme Penyebab ISK (Etiologi)

Dalam keadaan normal, traktus urinarius berada dalam keadaan steril (Musim, 2007; Levinson, 2008). Ada banyak mikroorganisme yang dapat menginfeksi saluran kemih, tetapi umumnya bakteri gram negatif. *Escherichia coli* (*E.coli*) menyebabkan hampir 80% kasus infeksi akut ISK (baik sistitis dan pielonefritis) (Rosnety & Benny, 2007; Fauci *et al.*, 2008; Levinson, 2008), diikuti dengan *Staphylococcus saprophyticus* sekitar 10-15%, *Proteus mirabilis* dan *Klebsiella* 2-5% kasus (Rosnety & Benny, 2007). Menurut Fauci *et al.* (2008)

Proteus sp dan *Klebsiella sp* dan kadang *Enterobacter sp*, menempati proporsi yang lebih sedikit pada ISK yang tidak terkomplikasi.

Kuman gram negatif lain seperti *Serratia* dan *Pseudomonas* merupakan penyebab ISK pada pasien yang dirawat di rumah sakit (Rosnety & Benny, 2007). Kokus gram positif berperan sedikit pada ISK. *Enterococcus* kadang menyebabkan sistitis akut tidak terkomplikasi pada wanita. *Staphylococcus epidermidis* adalah penyebab umum ISK yang berkaitan dengan kateter (Fauci *et al*, 2008).

E. Patogenesis ISK

Traktus urinarius adalah unit anatomis tunggal yang dipersatukan oleh sebuah saluran kontinu mulai dari uretra sampai ginjal. Pada mayoritas ISK, bakteri memperoleh akses sampai ke kandung kemih lewat uretra dan dapat naik ke atas menyebabkan infeksi parenkim ginjal. Introitus vagina dan uretra distal secara normal dikoloni oleh *Streptococcus sp*, *Lactobacillus*, dan *Staphylococcus sp* tetapi tidak oleh basilus gram negatif yang biasanya menyebabkan ISK (Fauci *et al.*, 2008).

Faktor predisposisi terjadinya kolonisasi periuretral oleh basilus gram negatif masih belum sepenuhnya dipahami, tetapi perubahan flora normal vagina oleh antibiotik, infeksi genital lainnya, atau kontrasepsi (khususnya *spermicide*) mempunyai peran penting. Hilangnya *Lactobacillus* yang memproduksi H_2O_2 dari flora normal dominan dari vagina memfasilitasi terjadinya kolonisasi oleh *E.coli*. Pada beberapa kasus, sejumlah kecil bakteri periuretra yang masuk ke kandung kemih difasilitasi oleh massase uretra selama hubungan seksual. Infeksi kandung

kemih tergantung dari patogenitas *strain* kuman penyebab dan mekanisme pertahanan tubuh penderita baik lokal maupun sistemik. Penelitian pada hewan dan manusia mengindikasikan bahwa *E.coli* kadang menginvasi epitel kandung kemih, membentuk koloni intraseluler (*biofilm*) yang mungkin persisten dan menjadi sumber infeksi ulang (Fauci *et al.*, 2008).

Bakteri dalam kandung kemih secara normal cepat dibersihkan, sebagian melalui *flushing* dan efek pengenceran dari proses miksi tetapi juga sebagai akibat dari antibakteri. Sekresi dari prostat mempunyai efek antibakterial. Sel epitel kandung kemih mensekresikan sitokin dan kemokin (terutama *Interleukin* (IL) 6 dan 8) yang berinteraksi dengan bakteri, menyebabkan lekosit *Polymorphonuclear/PMN* memasuki epitel kandung kemih dan urine segera setelah terjadi infeksi dan berperan dalam membersihkan bakteriuria. Peran antibodi yang diproduksi secara lokal masih belum jelas. Pielonefritis hematogen sering terjadi pada pasien debil yang mempunyai penyakit kronis atau mendapat terapi imunosupresi (Fauci *et al.*, 2008).

Faktor yang mempengaruhi patogenesis ISK

1. Jenis Kelamin dan Aktivitas Seksual

Uretra wanita mudah mengalami kolonisasi basilus gram negatif karena letaknya yang dekat dengan anus, ukurannya yang pendek, ujung akhirnya yang berada dibawah labia. Hubungan seksual menyebabkan bakteri masuk ke dalam kandung kemih. Penggunaan *spermicidal* dengan diafragma atau *cervical cap* atau kondom yang dilapisi *spermicide* akan merubah flora normal introitus dan

berhubungan dengan terjadinya peningkatan koloni *E.coli* di vagina dan risiko baik sistitis maupun pielonefritis akut.

Faktor predisposisi terjadinya bakteriuria pada laki-laki adalah obstruksi uretra yang berkaitan dengan prostat hipertrofi. Hubungan seksual melalui dubur berkaitan dengan peningkatan risiko terjadinya sistitis pada laki-laki. Pasien dengan HIV (*Human Immunodeficiency Viral*) dan jumlah sel T CD4 < 200/ μ L mempunyai peningkatan risiko terjadinya bakteriuria dan simptomatik ISK. Pasien yang belum disunat, juga berperan meningkatkan risiko terjadinya ISK baik pada neonatus maupun pada laki-laki muda (Fauci *et al.*, 2008).

2. Obstruksi

Adanya hambatan dari aliran urine seperti : tumor, striktur, batu atau prostat hipertrofi dapat mengakibatkan hidronefrosis dan peningkatan risiko ISK. Obstruksi saluran kemih yang ditumpangi dengan infeksi secara cepat dapat menyebabkan destruksi jaringan ginjal (Fauci *et al.*, 2008).

3. Faktor Virulensi Bakterial

Tidak semua strain *E. coli* dapat menginfeksi saluran kemih. Diantara semua strain *E. coli* yang menyebabkan ISK simptomatis pada pasien non kateterisasi mempunyai serogroup spesifik K, O, dan H. Klon uropatogen ini mempunyai akumulasi gen virulensi yang berhubungan dengan kromosom bakterial dalam "*pathogenicity islands*". Menempelnya bakteri pada sel uroepitelial merupakan langkah awal yang menentukan dalam inisiasi suatu infeksi. Untuk kedua spesies baik *E. coli* maupun *Proteus sp*, fimbria memediasi penempelan bakteri pada reseptor yang spesifik yang terdapat pada sel epitel, lalu

terjadi sekresi dari IL-6 dan IL-8 dan menginduksi apoptosis dan deskuamasi sel epitelial. Strain *E. coli* juga memproduksi sitotoksin, hemolisin dan aerobactin (sebuah *siderophore* untuk *scavenger* besi) sehingga mereka tahan terhadap aksi bakterisid dari serum manusia. Diantara semua strain *E. coli* yang menyebabkan pielonefritis akut yang kemudian menyebabkan sistitis akut adalah strain uropatogen yang mempunyai *pathogenicity islands* (Fauci *et al.*, 2008).

4. Faktor Genetika

Faktor genetik manusia berperan dalam terjadinya ISK. Riwayat orang tua yang pernah menderita ISK lebih sering ditemukan pada wanita yang mengalami rekuren ISK dibanding kontrol. Jumlah dan tipe reseptor pada sel uroepitelial tempat bakteri akan menempel, tergantung pada faktor genetik. Beberapa dari struktur ini merupakan komponen dari antigen penggolongan darah dan hadir baik pada eritrosit maupun sel uroepitelial. Sebagai contoh, fimbria P memediasi penempelan *E. coli* pada eritrosit *P-positive* dan ditemukan bahwa hampir semua strain ini menyebabkan pielonefritis akut tidak komplikasi. Sebaliknya, pada pasien dengan golongan darah *P-negative*, yaitu tidak terdapat reseptor ini, risiko terjadinya pielonefritis menurun. Mutasi pada gen inang yang terintegrasi terhadap respon imun (seperti *Toll-like receptor*, *interferon gamma receptor*) mungkin juga mempengaruhi kerentanan terhadap ISK (Fauci *et al.*, 2008).

5. Faktor Hormonal

Pengaruh progesteron selama kehamilan dan pemakaian kontrasepsi menyebabkan hidroureter dan hidropelvis (Sukandar, 2006).

F. Diagnosis ISK

Diagnosis ISK dibuat berdasarkan anamnesis adanya gejala atau tanda ISK, yaitu: nyeri suprapubik, disuria, frekuensi, urgensi, dan stranguria untuk ISK bagian bawah sedangkan demam, kram, nyeri punggung, muntah, skoliosis, dan penurunan berat badan untuk ISK bagian atas; leukosituria $> 10/LPB$ dan bakteriuria patogen $> 10^5$ CFU/mL (Sukandar, 2006). Urine *mid-stream* merupakan pilihan terbaik (Frida *et al.*, 2007; Musim, 2007) dapat dilakukan untuk tes bakteriologi (Frida *et al.*, 2007).

Sensitivitas untuk skrining adanya bakteriuria dapat ditingkatkan dengan mengumpulkan urine pertama pagi hari karena urine lebih pekat dan mengandung lebih banyak bakteri dan produk pemecahan bakteri dibandingkan urine yang dikeluarkan selanjutnya (Musim, 2007). Cara memperoleh urine *mid-stream* yaitu genetalia eksterna dicuci terlebih dahulu dengan larutan antiseptik khusus. Aliran urine pertama dibuang, lalu diambil aliran urine tengah atau *mid-stream* urine yang ditampung dalam wadah steril. Aliran urine akhir juga dibuang (Frida *et al.*, 2007).

Metode pemeriksaan urine untuk diagnosis ISK

1. Metode *Flow Cytometry*

Dalam dekade terakhir, *flow cytometry* menjadi metode standar untuk skrining partikel menggunakan sampel urine. Cairan melewati tembakan LASER monokromatis. Informasi ukuran dan struktur internal partikel yang dilabel fluoresensi diperoleh dari pengukuran *scattered* cahaya tersebut dan intensitas sinyal fluoresensi. Semua operasi mulai dari aspirasi sampai pengenceran,

commit to user

pewarnaan dan pengukuran sampel diolah secara otomatis sehingga faktor kesalahan manusia dapat dihindari (Ito, 2007; Okada *et al.*, 2007; Terajima *et al.*, 2009; Van der Zwet *et al.*, 2010). Alat terbaru menggunakan metode gabungan antara *flow cytometry* dan impedansi, diklaim dapat mendeteksi secara spesifik serta menghitung bakteri dalam urine menggunakan pewarna yang spesifik. Lebih lagi, bakteri dianalisis menggunakan *channel* yang berbeda dari sedimen urine lainnya (Van der Zwet *et al.*, 2010).

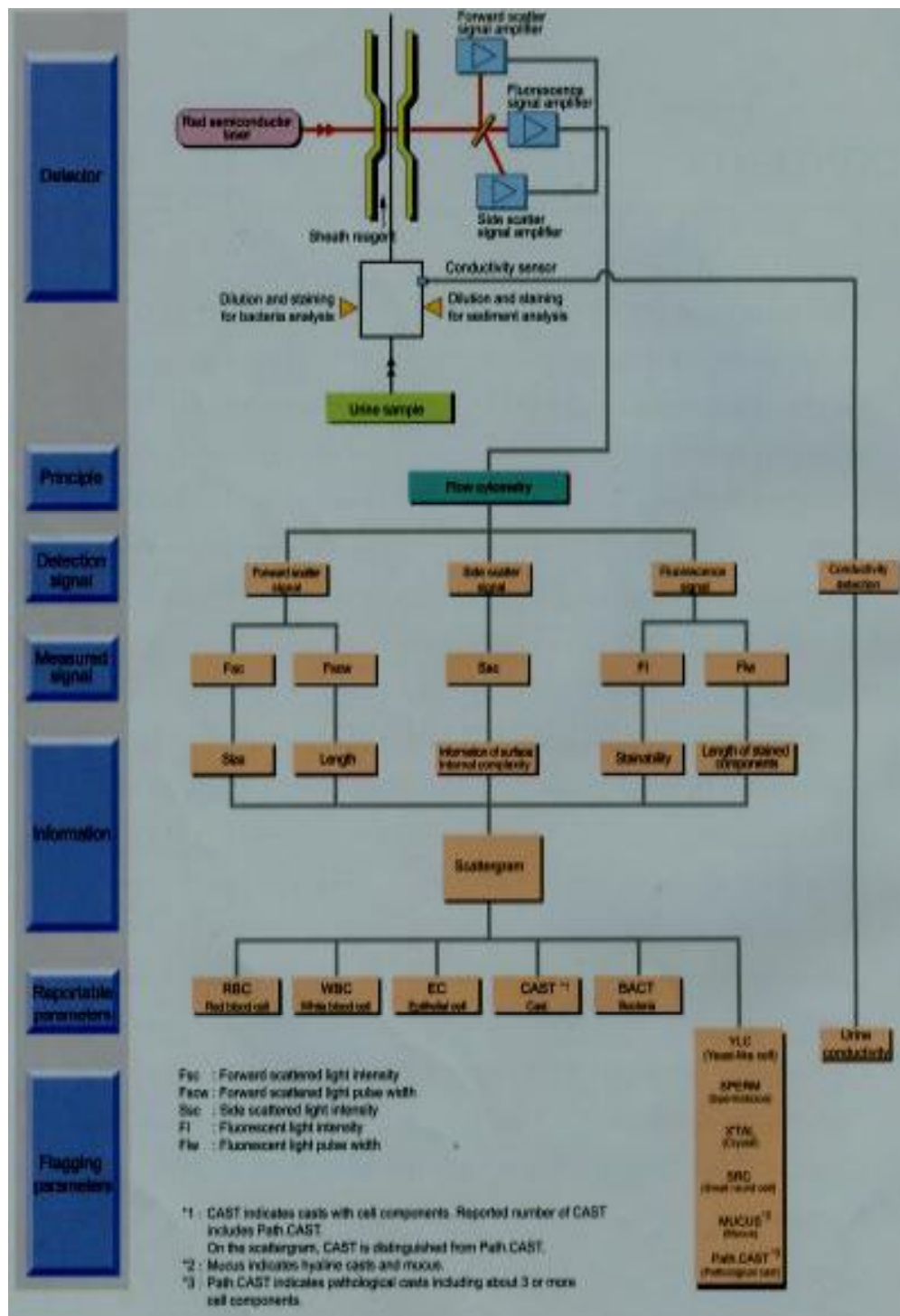
Sampel urine secara otomatis dicampur dengan *diluent* dan solusi pewarna dengan perbandingan yang spesifik (Okada *et al.*, 2007; Manoni *et al.*, 2009) diaspirasi (0,8 mL pada mode manual; 1,2 mL pada mode otomatis) (Manoni *et al.*, 2009) dan diwarnai dalam 2 *channel* berbeda oleh pewarna yang spesifik *fluorescence polymethine dye* dengan cara mengikat membran sel, membran inti dan mitokondria, serta asam nukleat (Van der Zwet *et al.*, 2010), satu untuk bakteri, sedangkan yang lain untuk lekosit, jamur dan partikel urine lainnya (Manoni *et al.*, 2009; Van der Zwet *et al.*, 2010).

Sampel kemudian dialirkan ke *flow cell* menggunakan tehnik aliran *sheath* untuk memastikan bahwa hanya sebuah obyek saja yang melewati *flow cell* dan *scattered light* dan *fluoresence* dari objek tersebut membentuk elemen yang dapat dideteksi oleh detektor cahaya. *Scattered light* dideteksi pada dua posisi berbeda (*Forward Scattered Light* (FSC) dan *Side Scattered Light* (SSC) oleh *photo diode* dan diubah menjadi sinyal elektrik (Okada *et al.*, 2007). *Forward scattered* menyediakan informasi pada ukuran, *side scattered* memberikan informasi pada permukaan dan kompleksitas internal, yaitu intensitas fluoresensi memberikan

informasi asam nukleat dari setiap partikel. Mengkombinasikan informasi ini dapat mencapai sampai 65000 partikel (Manoni *et al.*, 2009; Van der Zwet *et al.*, 2010).

Demikian juga *fluorescence* diubah menjadi sinyal elektrik. Analisis proses bentuk gelombang dilaksanakan pada sinyal elektrik ini oleh sebuah sirkuit pemroses sinyal, dan parameter karakteristik seperti *pulse-height* dan *pulse-width* dari tiap elemen yang terbentuk, disimpan secara internal. Diagram *scattered* dua dimensi dari kombinasi parameter-parameter ini secara otomatis dibuat. Akhirnya *scattergram* secara otomatis dianalisis untuk mengklasifikasi dan menghitung partikel yang berbeda dari urine (Okada *et al.*, 2007) seperti yang terdapat pada gambar 1.

Adanya debris yang tinggi dengan tanda *BACT* * pada alat, menandakan adanya jumlah partikel debris yang tinggi di dalam *channel* bakteri. Hal ini akan menyebabkan positif palsu pada nilai bakteri. Adanya *flag* “*Carryover*” dengan tanda *BACT* * berarti penghitungan jumlah bakteri pada sampel berikutnya dapat salah karena adanya *carryover* dari sampel saat ini dengan konsentrasi yang tinggi. Hal ini dapat dihindarkan dengan mengaktifkan *anti-carry-over* untuk membilas aliran *flow cell* secara otomatis (Ito, 2007).



Gambar 1. Metode Urine Flow Cytometry (Sumber : Ito, 2007).

commit to user

Kontrol Kualitas Material

Terdapat dua level konsentrasi bahan kontrol untuk UF-1000i yaitu UF II *Control Low* dan UF II *Control High*. Bahan kontrol harus disimpan di lemari es (2-8°C) tetapi analisis dilakukan pada suhu kamar (15-25°C) (Ito, 2007).

2. Metode Konvensional

a. Pemeriksaan Makroskopis

Murni (2005) mendapatkan bahwa pemeriksaan kejernihan urine mempunyai sensitivitas 78%, spesifisitas 84,5%, PPV 77,1%, dan NPV 85,2% untuk mendiagnosis ISK. Urine yang akan dinilai kejernihannya dimasukkan ke dalam *red top blood tube*, dilihat dibawah lampu dan dibelakangnya (1 cm) diberi kertas putih yang diberi tulisan warna hitam (huruf ukuran 12). Dibandingkan dengan kontrol menggunakan air putih. Apabila tulisan dapat dibaca sama antara kontrol dan urine, dikatakan jernih.

b. Pemeriksaan Dipstick

Pemeriksaan *dipstick* yang sering digunakan untuk diagnosis ISK adalah pemeriksaan nitrit dan leukosit esterase menggunakan carik celup pada sampel urine yang belum disentrifugasi, lalu hasil dianalisis menggunakan alat dengan metode *Reflectance Photometer* (McPherson *et al.*, 2007).

c. Pemeriksaan Mikroskopis

Pemeriksaan konvensional untuk mendiagnosis ISK yang saat ini menjadi rujukan adalah pemeriksaan mikroskopis menggunakan urine yang

telah disentrifugasi dengan kecepatan 400 RCF selama 5 menit, lalu dianalisis jumlah lekosit, bakteri, dll (Lopa *et al.*, 2007).

3. Kultur Urine

Kultur urine merupakan *gold standard* untuk konfirmasi ISK (Musim, 2007; Schmiemann *et al.*, 2010). Hasil kultur urine dan pemeriksaan sensitivitas kuman dapat digunakan sebagai pedoman bagi klinisi untuk memilih antibiotik yang cocok. Semua sampel urine untuk kultur harus diproses secepat mungkin (Musim, 2007) (dalam waktu 1 jam setelah penampungan) (Levinson, 2008). Bila kultur urine tidak dapat segera dikerjakan, maka urine dapat disimpan di lemari pendingin pada suhu 4°C, tidak lebih dari 18 jam (Levinson, 2008) sedangkan menurut Musik (2007) dapat sampai maksimal 24 jam. Sesudah 24 jam, hasil kultur menjadi tidak reliabel. Hasil kultur biasanya baru bisa diperoleh dalam waktu 48 jam.

Teknik dalam menentukan kultur secara kuantitatif menggunakan teknik *Spread-Plate* yaitu sejumlah volume urine dipindahkan pada pusat dari lempeng agar dan disebar diatas permukaan dengan ose steril. Setelah inkubasi, beberapa sel yang disebarkan berkembang menjadi koloni yang terisolasi. Sebuah koloni adalah sejumlah besar sel bakteri pada media padat, yang dapat dilihat dengan mata telanjang sebagai kesatuan yang terpisah. Dalam prosedur ini, diasumsikan sebuah koloni berasal dari satu sel dan merepresentasikan klon dari sebuah kultur yang murni (Prescott, 2002).

Media agar darah adalah media pertumbuhan bakteri yang dapat digunakan untuk membedakan bakteri patogen berdasarkan efek eksotoksin

bakteri hemolitik pada sel darah merah (Anonim, 2011). Agar MacConkey (media selektif) digunakan untuk mendeteksi *coliform* dan patogen enterik berdasarkan kemampuannya dalam memfermentasi laktosa. Koloni bakteri yang memfermentasi laktosa akan berwarna merah sampai merah muda. Koloni bakteri yang tidak memfermentasi laktosa akan tampak tidak berwarna atau transparan (Prescott, 2002; Anonim, 2006; Wasetiawan, 2010).

Faktor Lingkungan yang Berdampak Pada Pertumbuhan Mikroorganisme

Pertumbuhan mikroorganisme secara besar dipengaruhi oleh faktor kimia dan fisik alamiah dari lingkungan sekitar mereka. Kondisi alamiah yang berpengaruh antara lain: suhu dan pH. Faktor lingkungan yang sama untuk memaksimalkan pertumbuhan mikroba dapat pula dimanipulasi untuk menghambat atau memperlambat pertumbuhan mikroorganisme yang tidak diinginkan (Prescott, 2002).

a. Suhu/Temperatur :

Setiap spesies mikroba membutuhkan tingkat temperatur pertumbuhan yang ditentukan oleh sensitivitas panas dari enzim, membran, ribosom tertentu dan komponen lainnya dari kuman tersebut sehingga pertumbuhan mikroba mempunyai sebuah ketergantungan karakteristik temperatur yang wajar dengan perbedaan temperatur kardinal- minimum, maksimum dan optimum (Prescott, 2002).

Temperatur minimum pertumbuhan adalah temperatur terendah yang menyebabkan pertumbuhan dapat terjadi; temperatur maksimal pertumbuhan adalah temperatur tertinggi yang menyebabkan pertumbuhan masih dapat terjadi;

dan temperatur optimal pertumbuhan adalah temperatur yang menyebabkan rerata reproduksi sel paling cepat terjadi. Temperatur optimal untuk pertumbuhan mikroorganisme berkorelasi dengan temperatur habitat normal dari mikroorganisme, sebagai contoh, temperatur optimal untuk pertumbuhan dari bakteri patogen terhadap manusia hampir sama dengan temperatur darah manusia (35-37°C) (Prescott, 2002).

b. Derajat Keasaman/pH :

pH (*acidity*; $\log 1/(H^+)$) berdampak terhadap pertumbuhan dari bakteri. pH berdampak terhadap aktifitas dari enzim- terutama yang terlibat dalam biosintesis dan pertumbuhan kuman. Setiap spesies mikroba mempunyai sebuah *range* pertumbuhan pH yang definitif/pasti dan sebuah pertumbuhan pH yang optimal. *Acidophile* mempunyai pertumbuhan optimal antara pH 0,0 dan 5,5; *neutrophile* antara 5, dan 8,0; dan *alkalophile* 8,5 sampai 11,5 (Prescott, 2002).

Secara umum, kelompok mikroba yang berbeda mempunyai karakteristik pH yang optimal. Mayoritas bakteri dan protozoa adalah *neutrophile*. Beberapa bakteri menghasilkan asam metabolit yang dapat menurunkan pH dan menghambat pertumbuhan mereka. Untuk mencegah ini, *buffer* (zat penyeimbang pH) ditambahkan kedalam kultur media untuk menetralisasi asam tersebut, sebagai contoh, peptone pada media kompleks bertindak sebagai *buffer*. Garam phosphate sering ditambahkan sebagai buffer secara kimiawi pada media tertentu (Prescott, 2002).

Kontrol Kualitas (Pemantapan Mutu)

1. Penampilan Fisik

Jika media disimpan untuk jangka waktu lama dalam kondisi tidak layak atau persiapan yang tidak sempurna, akan terjadi beberapa hal yaitu

- a. Timbul kekeruhan atau presipitasi menunjukkan bahwa beberapa unsur keluar dari cairannya.
- b. Warna lebih gelap dari yang normal mengindikasikan pemasakan media yang terlalu lama, pH yang salah atau kesalahan pencampuran bahan-bahan.
- c. Warnanya lebih terang daripada normal mengindikasikan adanya kesalahan pencampuran bahan-bahan atau kesalahan pH.
- d. Penyimpanan media yang terlalu lama setelah dituang kedalam cawan petri menyebabkan dehidrasi dan tidak layak digunakan. Dehidrasi media dapat dihindari dengan membuat media sesuai kebutuhan, atau menyimpannya dalam plastik yang tertutup rapat (Kismardhani, 2010).

2. Sterilitas

Media harus steril ketika akan diinokulasi. Tiap *batch* media harus dilakukan uji sterilitas. Sisihkan 1-5% dari *batch* dan letakkan didalam inkubator dengan suhu 35-37°C selama 48 jam. Jika tumbuh kontaminan dalam media, harus dibuat media yang baru. Wadah yang digunakan untuk uji sterilitas harus dibuang karena terjadinya dehidrasi setelah proses inkubasi 48 jam dalam inkubator (Kismardhani, 2010).

3. Pertumbuhan

Kemampuan media untuk mendukung pertumbuhan organisme dilihat dari inokulasi media dengan isolat *stock culture*. Kesalahan pemantapan mutu yang sering terjadi adalah penggunaan inokulum yang padat. Untuk kebanyakan media, inokulasi dengan *stock culture* yang terlalu padat akan menyesatkan. Dalam spesimen, organisme mungkin lebih “*fastidious*” atau dalam jumlah sangat sedikit, sehingga media tidak bisa mendukung pertumbuhannya. Untuk melakukan tes digunakan suspensi inokulum yang diencerkan (Kismardhani, 2010).

4. Media Selektif

Media selektif tidak hanya digunakan untuk mendukung pertumbuhan organisme tapi juga untuk menghambat pertumbuhan organisme lain, sebaiknya inokulasikan media dengan kedua kelompok organisme. Untuk melihat efek penghambatan gunakan inokulum yang padat, jika media dapat menghambat pertumbuhan inokulum yang padat berarti akan dapat menghambat pertumbuhan organisme dalam spesimen yang hanya sedikit (Kismardhani, 2010).

G. Penentuan Jumlah Bakteri dan Interpretasi Hasil Biakan Urine Kuantitatif

Metode yang telah digunakan secara luas dan sering digunakan untuk menentukan jumlah bakteri adalah metode *count plate*. Metode standart *count plate* adalah pengukuran secara tidak langsung kepadatan sel, menyingkap informasi yang berkaitan dengan bakteri yang hidup. Metode standart *plate count* terdiri atas sebuah sampel yang diencerkan dengan saline steril sampai bakteri terencerkan cukup untuk dihitung secara akurat yaitu lempeng akhir serial harus

commit to user

antara 25 dan 250 koloni. Kurang dari 25 koloni tidak dapat diterima untuk alasan statistik, dan lebih dari 250 koloni pada lempeng, menyebabkan koloni terlalu dekat satu dengan lainnya untuk dapat dibedakan sebagai CFU.

Adanya organisme multipel (≥ 3 jenis koloni) dari hasil kultur menunjukkan adanya kontaminasi. Batasan penghitungan angka kuman yang signifikan sangat tergantung pada metode pengumpulan urine (Musim, 2007).

Nilai minimum bakteriuria yang menyebabkan ISK belum didefinisikan baik pada literatur ilmiah maupun standarisasi dari laboratorium mikrobiologi. Banyak laboratorium mendefinisikan 10^5 CFU/mL sebagai batas. Batas ini menyebabkan kehilangan banyak infeksi yang relevan lainnya. *European Association of Urology* (EAU) merekomendasikan diagnosis ISK sebesar 10^3 CFU/mL, tergantung tipe bakteri yang dideteksi (Schmiemann *et al.*, 2010).

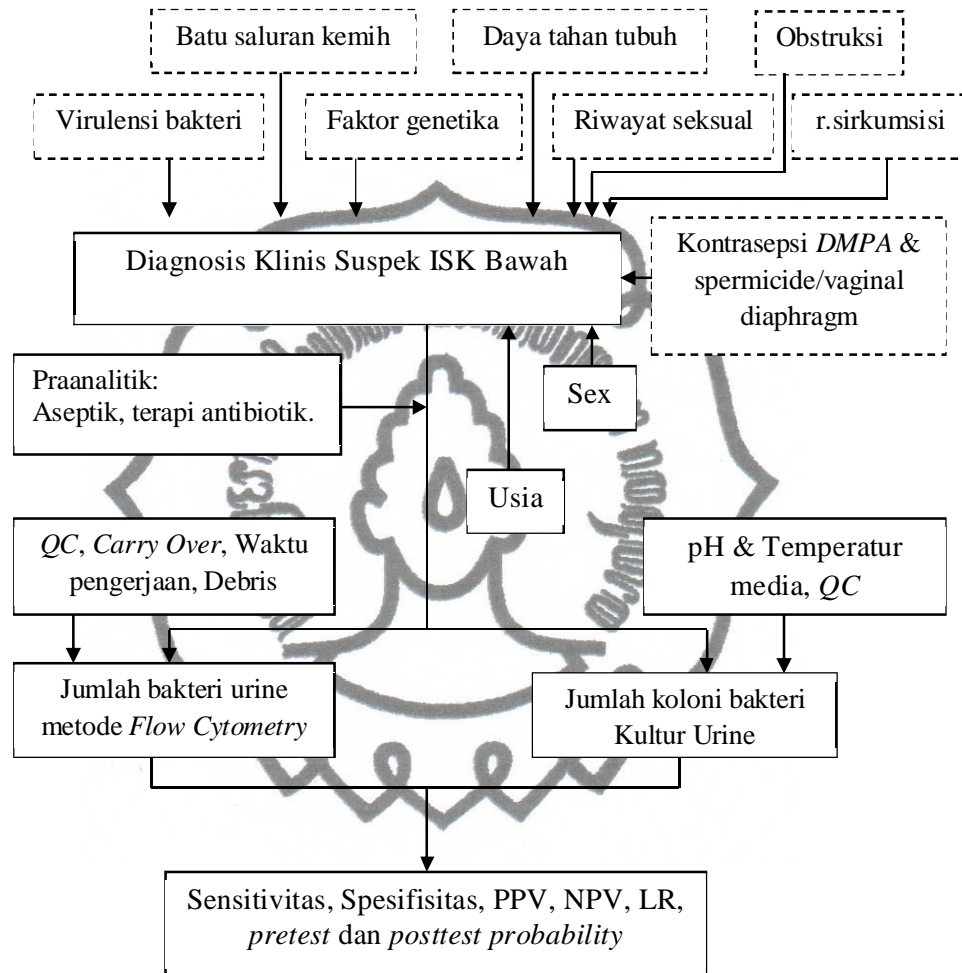
Sebuah *systematic review* yang dilakukan oleh Schmiemann *et al.* (2010) didapatkan penggunaan *cut off* untuk kultur urine bervariasi antar peneliti seperti yang tercantum pada tabel 1.

Tabel 1. Penggunaan *cut-off* yang bervariasi untuk penentuan diagnosis ISK berdasarkan kultur urine oleh berbagai peneliti (Sumber : Schmiemann *et al.*, 2010).

Sumber	Bacterial Count CFU/mL	Prevalensi %	n	Tes	Sens %	Spec %	PPV %	NPV %	LR+	LR-	Komentar
McIsaac (15)	>10 ²	63	331	Ni	36	89	85	45	3.4	0.7	10% dengan discharge
				Le	84	45	72	63	1.5	0.35	
Grude 2005 (e11)	>10 ⁴	76	184	Ni	57	78	94	23	2.6	0.5	
				Le	94	9	86	20	1.0	0.6	
Winkens (24)	> 10 ⁵	62	268	Ni	42	95	93	50	8.4	0.6	17% lelaki
Verest 2000 (e12)	> 10 ⁵	58	292	Le	88	37	63	71	1.4	0.3	
				Ni	53	95	93	59	10.6	0.5	
				Ni + Le neg				81			
Deville (e13)				Ni	53	88			4.4		Metaanalisis dari sub grup "General Practice", tidak ada perbedaan sex
				Le	87	36			1.3		
				Ni + Le pos	90	65			2.5		
Heckerling 2007 (e9)	> 10 ⁵	26	212	Ni					1.5		Dengan definisi diagnosis > 10 ² bakteri, prevalensi meningkat menjadi 55%
				Le					1.5		
Semeniuk 1999 (e14)	> 10 ⁴	19	479	Ni	43	97	75	88	14		Kriteria inklusi tidak jelas
				Le	84	59	19	97	2		
				Ni + Le pos	84	98	84	98	42		
Little (8)	> 10 ³	62.5	427	Blood	93	34	70	73	1.4	0.22	Dieksklusi jika terdapat vaginal discharge
				Le	89	52	75	72	2.58	0.33	
				Ni + Le pos	26	97	93	44	8.0	0.77	
Hummers-Pradier (20)	> 10 ²	77	445	Ni	39	88	92	29	3.3	0.7	ISK yang mengalami komplikasi dieksklusi
				Le	72	46	83	31	1.3	0.6	
				Ni + Le pos	35	88	91	27	2.9	0.7	

Studi diagnosis ISK; kriteria inklusi: pelayanan kesehatan primer; alasan untuk konsultasi: wanita dengan gejala ketika berkemih; dibandingkan dengan kultur urine sebagai *gold standard*; sens, sensitivitas; spec, spesifisitas; PPV, *positive predictive value*; NPV, *negative predictive value*; LR, *likelihood ratio*; Le, lekosit esterase; Ni, nitrite.

H. Kerangka Teori



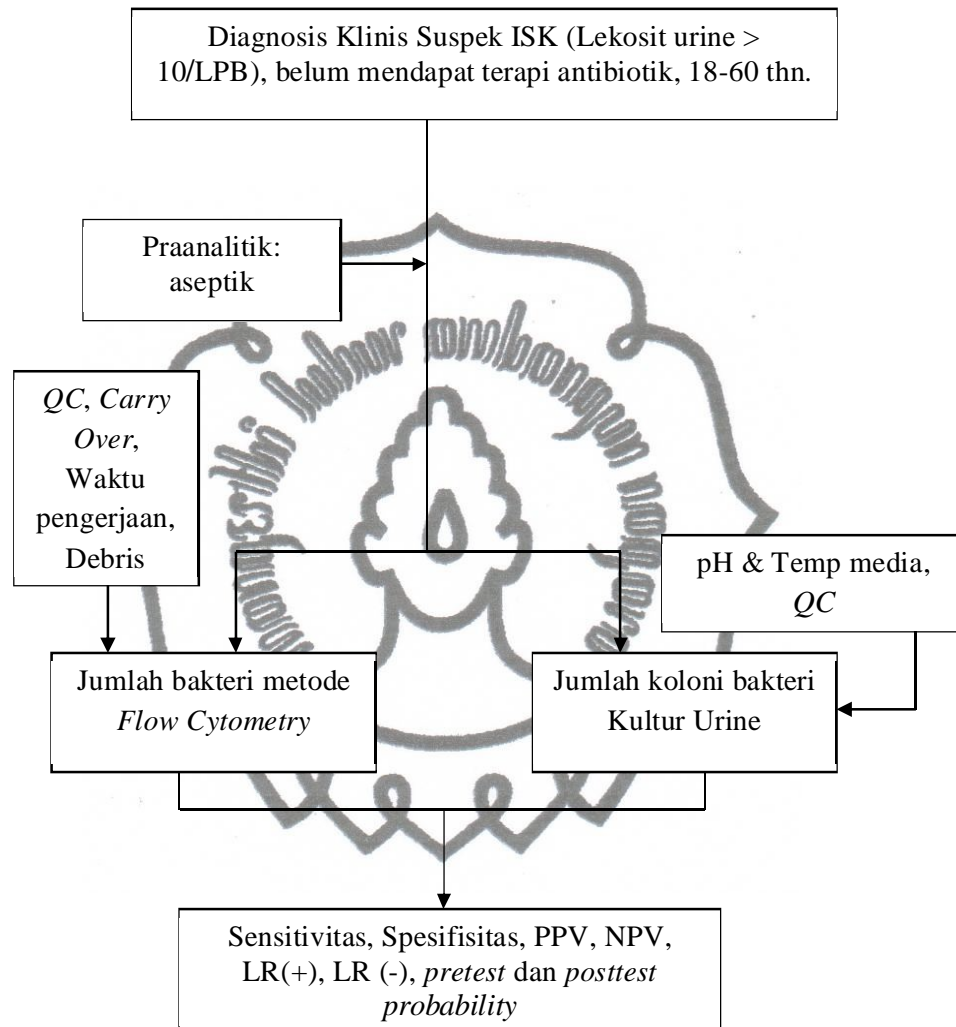
Gambar 2. Kerangka Teori

Keterangan :

: Faktor yang dianalisis

: Faktor yang tidak dianalisis

I. Kerangka Konsep



Gambar 3. Kerangka Konsep

J. Hipotesis

Jumlah bakteri urine berdasarkan metode *flow cytometry* mempunyai validitas sensitivitas sebesar 90% dalam menyaring ISK dan spesifisitas sebesar 80% dalam mendiagnosis ISK.

commit to user

BAB III. METODE DAN CARA PENELITIAN

A. Rancang Penelitian

Penelitian dilakukan dengan menggunakan desain *cross sectional* (potong lintang), dengan menggunakan kultur urine sebagai *gold standard*. Pengumpulan data dilakukan secara *consecutive sampling*.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Spesimen didapatkan dari Poliklinik Rawat Jalan Penyakit Dalam. Sampel dianalisis dan diteliti di Instalasi Laboratorium Patologi Klinik RSUD dr. Moewardi Surakarta. Waktu penelitian mulai bulan Maret – Mei 2011 atau sampai jumlah sampel tercukupi.

C. Subyek Penelitian

Populasi target adalah semua penderita dengan kecurigaan ISK. Populasi terjangkau adalah penderita suspek ISK yang berusia 18-60 tahun dari poliklinik dan rawat inap penyakit dalam RSUD dr. Moewardi Surakarta.

Sampel penelitian adalah populasi terjangkau yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dibawah ini :

1. Kriteria inklusi meliputi:
 - a. Penderita suspek ISK dari Poli dan rawat inap IPD yang belum mendapat terapi antibiotik.
 - b. Usia 18-60 tahun
 - c. Lekosit sedimen urine > 10/LPB.
 - d. Menyetujui dan menandatangani surat persetujuan mengikuti penelitian.

2. Kriteria eksklusi meliputi:

- a. Infeksi saluran kemih yang disebabkan karena jamur (bila didapatkan jamur pada pemeriksaan sedimen urine) dan virus (melalui anamnesis adanya nyeri yang hebat dan ulkus pada organ kelamin wanita/pria).
- b. *Sexual Transmitted Diseases* (STD) (bila didapatkan duh pada uretra anterior dan kuman diplococcus pada pengecatan Gram negatif).
- c. Memakai kateter.
- d. Kontaminasi.
- e. Adanya *flag* pada kolom bakteri di alat (*Debris High*).

Subyek secara prospektif dimasukkan ke dalam penelitian selama jangka waktu berlangsungnya penelitian (*consecutive sampling*).

D. Besar Sampel

Besar sampel untuk penelitian uji diagnostik (Lemeshow *et al.*, 1997; Puspongoro *et al.*, 2008) dapat dihitung menggunakan rumus berikut:

$$n = \frac{Z_{\alpha}^2 P (1-P)}{d^2}$$

Keterangan :

n = besar sampel yang diperlukan

α = (1-*confidence interval*) = 0,05 untuk *confidence interval* 95%

Z_{α} = *critical value* untuk α (*two-tailed*)

= *critical value* untuk α 0,05 (*two-tailed*), yaitu sebesar 1,96.

d = tingkat ketepatan absolut yang diinginkan yaitu sebesar 5%.

P = perkiraan sensitivitas/spesifisitas uji diagnostik yang diteliti (dari kepustakaan)

commit to user

Perkiraan sensitivitas UF-1000i yaitu sebesar 99% (Manoni *et al.*, 2009)

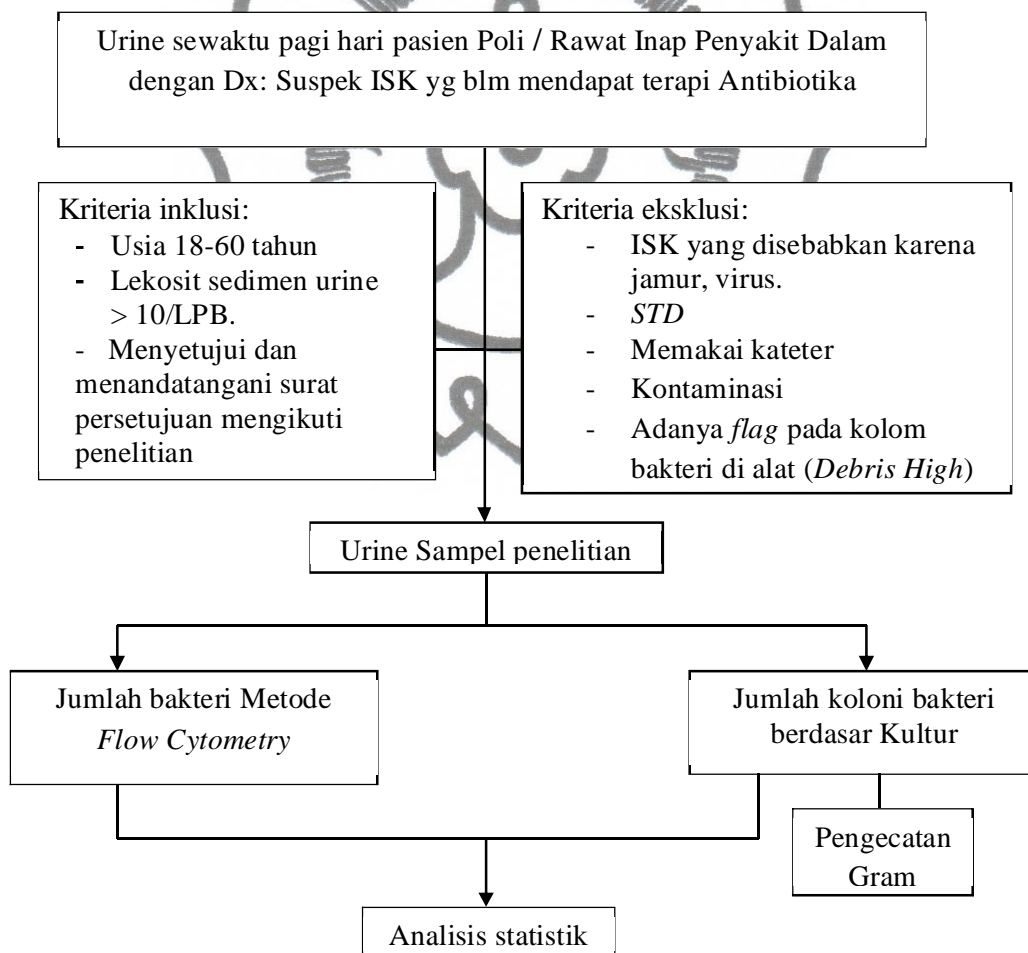
$$n = (1,96)^2 (0,99) (0,01) / (0,05)^2 = 15$$

Perkiraan spesifisitas UF-1000i yaitu sebesar 95% (Wang *et al.*, 2010)

$$n = (1,96)^2 (0,95) (0,05) / (0,05)^2 = 73$$

Berdasarkan data diatas, maka jumlah seluruh sampel yang dibutuhkan adalah 88 pasien.

E. Skema Rancang Penelitian



Gambar 4. Skema rancang penelitian

F. Prosedur Penelitian

Dalam penelitian ini selalu dilakukan konsultasi dan kerjasama dengan konsulen atau residen di Poliklinik Penyakit Dalam dalam rangka mendapatkan sampel suspek ISK bawah. Subyek penelitian yang datang berobat di Poliklinik Penyakit Dalam RSUD Dr Moewardi (RSDM) Surakarta yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi, dengan suspek ISK bawah yang belum mendapat terapi antibiotik, urine sewaktu pagi hari ditampung secara *mid-stream* dengan sebelumnya diberi instruksi cara pengambilan secara *mid-stream* dalam sebuah wadah yang berulir dan telah dilengkapi data identitas pasien. Volume minimum urine yang ditampung adalah 15 cc.

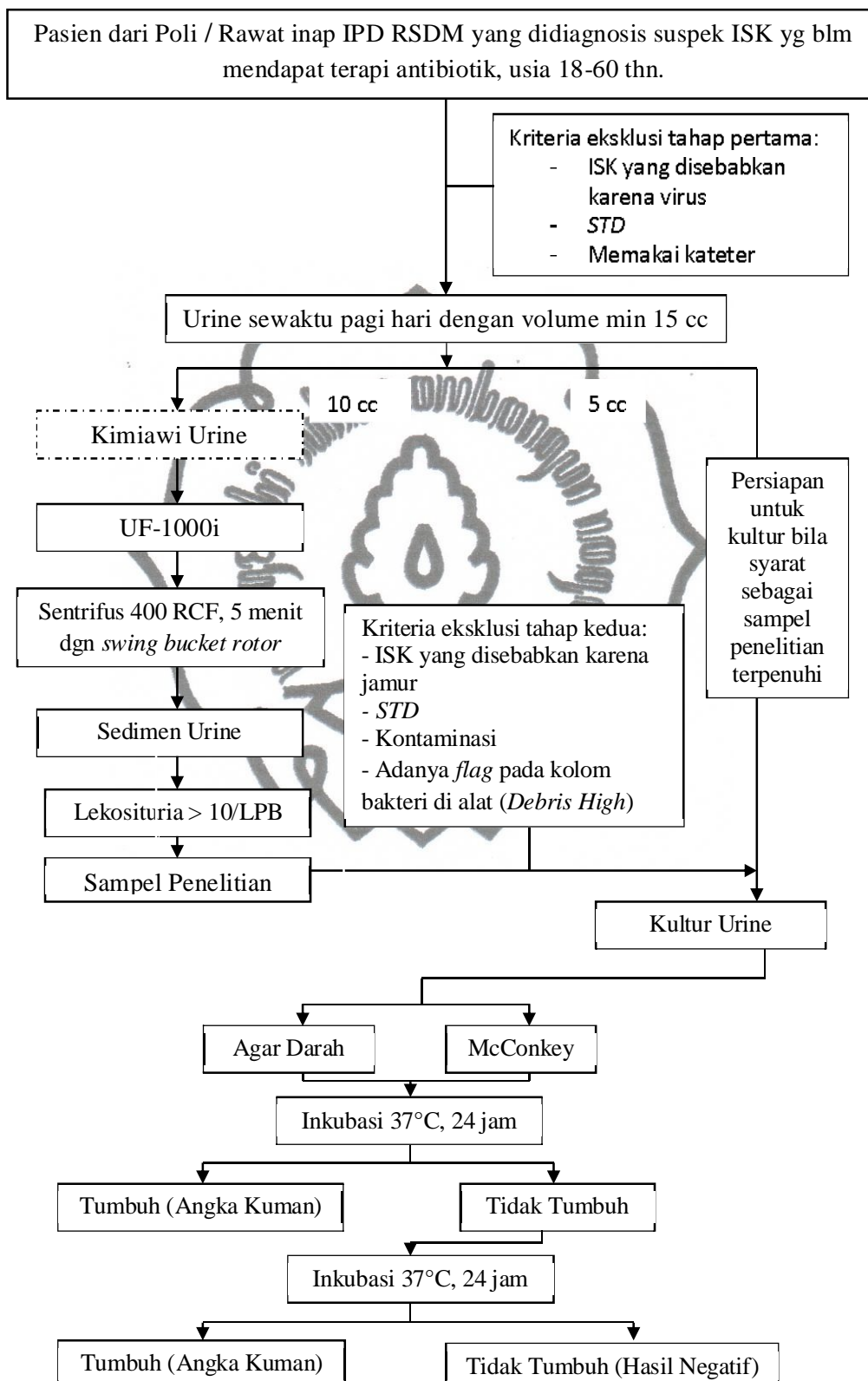
Urine tersebut kemudian dipisahkan menjadi 2 bagian yaitu :

1. Urine dari wadah dituang kedalam tabung reaksi (10cc), digunakan untuk pemeriksaan jumlah bakteri menggunakan alat metode *flow cytometry* (Hasil 1) dilanjutkan dengan sentrifugasi 400 RCF selama 5 menit, lalu didekantasi, diberi pewarna *Sternheimer Malbin*, lalu sedimen urine dihitung rerata jumlah lekosit urine dalam 10 lapang pandang besar (pembesaran mikroskop 400x) dan dimasukkan sebagai sampel penelitian jika terdapat lekosit sedimen urine > 10/LPB.
2. Urine yang memenuhi syarat sampel penelitian dalam wadah dilakukan pemeriksaan kultur urine. Kultur urine menggunakan teknik *loop* kalibrasi yaitu menggunakan kalibrasi plastik untuk mentransfer 1 μ L urine ke dalam media agar darah dan agar Mac Conkey. Adapun caranya sebagai berikut: kocok urine secara merata, ambil urine 1 μ L menggunakan *disposable loop*

commit to user

kalibrasi, lalu deposit masing-masing 1 μL urine ke media agar darah dan agar Mac Conkey biarkan mengalir dari atas ke bawah, lalu lakukan goresan (*streaking*) secara merata dengan ose tersebut pada agar darah dan agar Mac Conkey. Setelah itu diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Keesokan harinya, dicatat ragam dan jenis koloni lalu dihitung jumlah koloni bakteri antara agar darah dan MacConkey (dikalikan 1000 untuk satuan CFU/mL) (Hasil 2). Jika tidak tumbuh, ditunggu 24 jam lagi, lalu keesokan harinya dihitung jumlah koloni bakteri. Jika tidak tumbuh, dicatat sebagai hasil kultur negatif. Jika tumbuh, dihitung angka kuman.

Data-data yang telah diperoleh dari hasil pengukuran tersebut selanjutnya dianalisis dengan perhitungan statistik dan dimasukkan dalam tabel hasil penelitian.



Gambar 5. Prosedur Penelitian

G. Identifikasi Variabel Penelitian

Variabel bebas adalah jumlah bakteri urine metode *flow cytometry*. Variabel tergantung yang diteliti adalah jumlah koloni bakteri urine secara kultur. Variabel lain yang mungkin mempengaruhi hasil penelitian (*Confounding*) meliputi tindakan aseptik, terapi antibiotik, QC alat *flow cytometry*, *carry over*, waktu pengerjaan, debris, pH dan temperatur media, QC kultur.

H. Definisi Operasional Variabel dan Pengukuran

1. Jumlah bakteri urine metode *flow cytometry* adalah pengukuran jumlah bakteri urine menggunakan metoda *flow cytometry* dengan satuan / μ L yang kemudian dikonversi menjadi /mL. Skala pengukuran rasio.
2. Jumlah koloni bakteri berdasar kultur urine adalah pengukuran rerata jumlah koloni bakteri kultur urine pada media agar darah dan MacConkey dengan satuan CFU/mL. Skala pengukuran rasio.
3. Suspek infeksi saluran kemih bagian bawah berdasarkan kriteria Sukandar, (2006) adalah seorang pasien dengan gejala klinis berupa nyeri supra pubis, disuria, frekuensi, urgensi. Kriteria diagnosis infeksi saluran kemih yang digunakan pada penelitian ini menggunakan kriteria Sukandar (2006) yaitu adanya bakteriuria patogen $> 10^5$ CFU/mL, leukosituria > 10 /LPB; serta adanya manifestasi klinik.
4. Urine sewaktu pagi hari adalah urine yang ditampung pada pagi hari saat penderita datang ke Laboratorium Patologi Klinik.
5. Leukosituria > 10 /LPB adalah penghitungan rerata jumlah leukosit sedimen urine dalam 10 LPB (pembesaran mikroskop 400x) dengan hasil > 10 .

6. *Carry over* adalah pengaruh pada alat *flow cytometry* yang dapat menyebabkan positif palsu setelah pemeriksaan sampel yang mengandung komposisi tertentu (eritrosit, jamur, bakteri) yang tinggi. Dicegah dengan mengaktifkan *anti carry over* pada alat.
7. Waktu pengerjaan adalah waktu mulai dari pengumpulan urine *mid-stream* sampai dilakukannya penghitungan jumlah bakteri urine secara *flow cytometry* dan pelaksanaan kultur urine adalah kurang dari 2 jam.
8. Debris adalah kotoran yang dapat dideteksi oleh alat *flow cytometry* dengan munculnya tanda *flag* pada alat.
9. Kontaminasi adalah adanya organisme multipel (≥ 3 jenis koloni) dari hasil kultur.
10. Urine *mid-stream* adalah urine yang ditampung menggunakan tehnik porsi tengah. Prosedur pengumpulan sampel urine *mid-stream* berdasarkan NCCLS (1995) adalah sebagai berikut :

Laki-laki :

- 1) Pasien mencuci tangan dengan sabun
- 2) Pasien yang belum disunat, preputium ditarik sehingga tampak meatus uretra eksternus.
- 3) Dengan sebuah pembersih yang steril, bersihkan gland penis, mulai dari uretra diteruskan melingkar menjauhi uretra.
- 4) Saat pasien mulai miksi, buang 1/3 pancaran urine pertama, tampung 1/3 pancaran tengah ke dalam wadah urine tanpa mengkontaminasi wadah selanjutnya buang 1/3 pancaran urine terakhir.

- 5) Jika pasien tidak dapat melakukan prosedural tersebut, dapat dibantu oleh seorang asisten.

Perempuan :

- 1) Pasien mencuci tangan dengan sabun.
- 2) Dengan sebuah pembersih yang steril, bersihkan meatus eksternus dan daerah sekitarnya.
- 3) Saat pasien mulai miksi, buang 1/3 pancaran urine pertama, tampung 1/3 pancaran tengah ke dalam wadah urine tanpa mengkontaminasi wadah selanjutnya buang 1/3 pancaran urine terakhir.
- 4) Jika pasien tidak dapat melakukan prosedural tersebut, dapat dibantu oleh seorang asisten.

I. Kontrol Kualitas Internal

Pemeriksaan urine menggunakan metode *flow cytometry* didahului dengan uji presisi dan akurasi analitik alat sehingga mutu hasil pemeriksaan dapat dipertanggungjawabkan. Uji presisi pemeriksaan meliputi uji presisi sehari (*within day*) dan hari ke hari (*day to day*). Uji presisi sehari dengan cara pemeriksaan kontrol urine yang dilakukan pemeriksaan sepuluh kali secara berurutan pada hari yang sama. Uji presisi hari ke hari yaitu dengan pemeriksaan kontrol urine diulang sepuluh kali pada hari yang berbeda. Presisi diukur dengan rerata, simpangan baku (SB) dan koefisien variasi (KV). Rumus $SD = \sqrt{[\sum(x_1-x)^2 / n-1]}$, sedangkan rumus $KV (\%) = [(SD/rerata) \times 100\%]$, $n =$ jumlah sampel. Semakin kecil nilai KV (%), semakin teliti metode tersebut dan sebaliknya. Akurasi adalah kedekatan hasil pemeriksaan dengan nilai yang sesungguhnya yaitu nilai kontrol

atau rujukan atau rentang yang ditentukan. Akurasi dapat dinilai dari hasil pemeriksaan bahan kontrol dan dihitung sebagai nilai biasnya (d%). Rumus d (%) = $[(\text{rerata} - \text{NA})/\text{NA}]$, NA = nilai aktual atau sebenarnya dari bahan kontrol (Wijono *et al.*, 2004).

J. Analisis Statistik

Hasil jumlah bakteri urine berdasarkan metode *flow cytometry* dianalisis menggunakan kurva ROC (dengan program komputer) lalu dicari sensitivitas terbaik (untuk skrining ISK) dan spesifisitas terbaik (untuk diagnosis ISK) dan didapatkan nilai *cut-off* untuk skrining maupun untuk diagnosis ISK. Setelah nilai *cut-off* yang terbaik didapatkan, dibuat tabel 2x2 (*cut-off* jumlah bakteri urine metode *flow cytometry* dengan angka kuman berdasarkan kultur ($> 10^5$ CFU/mL)) untuk mendapatkan hasil uji diagnostik (Sensitivitas, spesifisitas, NPV, PPV, RL (+), RL (-) dan akurasi). Analisis statistik dalam penelitian ini diolah menggunakan program computer, nilai *p* bermakna bila $< 0,05$ dan interval kepercayaan 95%.

K. Pertimbangan Etik

Persetujuan tindakan medik diperoleh dengan terlebih dahulu menerangkan secara singkat latar belakang, tujuan, manfaat penelitian, serta tehnik pengumpulan urine *mid-stream* secara aseptik kepada pasien. Pasien menandatangani surat persetujuan mengikuti penelitian yang telah disediakan.

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Validitas Uji Analitik

Uji penampilan analitik dilakukan terlebih dahulu sebelum melakukan pemeriksaan sampel penelitian. Uji analitik meliputi uji presisi/ketelitian dan uji akurasi/ketepatan.

1. Uji Presisi/Ketelitian

Uji presisi melihat konsistensi hasil pemeriksaan yaitu kedekatan hasil beberapa pengukuran pada bahan uji yang sama. Uji presisi meliputi uji presisi sehari (*within day*) yaitu dengan cara pemeriksaan 1 sampel urine yang dilakukan 10 kali secara berurutan pada hari yang sama. Uji presisi hari ke hari (*day to day*) yaitu dengan pemeriksaan kontrol *Low* dan *High* UF1000i diulang 10 kali pada hari yang berbeda. Presisi diukur dengan rerata, simpangan baku (SB) dan koefisien variasi (KV). Rumus $SB = \sqrt{[\sum(x_1-x)^2 / n-1]}$, sedangkan rumus KV (%) = $[(SD/rerata) \times 100\%]$, n = jumlah sampel. Uji presisi dilakukan pada parameter pemeriksaan jumlah bakteri berdasarkan metode *flow cytometry*. Hasil uji presisi parameter pemeriksaan dapat dilihat pada tabel 2, tabel 3, dan tabel 4 berikut.

Tabel 2. Hasil Uji presisi sehari Jumlah Bakteri UF-1000i (/mL)

No.	Parameter Pemeriksaan	Rerata	SB	KV (%)
1	Jumlah Bakteri Urine UF-1000i (/mL)	691000	25144	3,63

Koefisien variasi yang didapatkan dari hasil uji presisi sehari jumlah bakteri urine UF-1000i (/mL) 3,63%. Uji presisi hari ke hari didapatkan KV pemeriksaan jumlah bakteri urine UF-1000i (/mL) pada kontrol *High* 0,48%

commit to user

sedangkan pada kontrol *Low* sebesar 5,26%. Dapat disimpulkan bahwa hasil uji presisi sehari dan hari ke hari parameter jumlah bakteri urine UF-1000i (/mL) adalah baik. Semakin kecil nilai KV (%), semakin teliti metode tersebut (Wijono *et al.*, 2004).

Tabel 3. Hasil Uji presisi hari ke hari Jumlah Bakteri UF-1000i (/mL).
Kontrol *High*.

No.	Parameter Pemeriksaan	Rerata	SB	KV (%)
1	Jumlah Bakteri Urine UF-1000i (/mL).	760000	36514	0,48

Tabel 4. Hasil Uji presisi hari ke hari Jumlah Bakteri UF-1000i (/mL).
Kontrol *Low*.

No.	Parameter Pemeriksaan	Rerata	SB	KV (%)
1	Jumlah Bakteri UF-1000i (/mL).	189000	9944	5,26

2. Uji Akurasi/Ketepatan

Akurasi adalah kedekatan hasil pemeriksaan dengan nilai yang sesungguhnya yaitu nilai kontrol/rujukan/rentang yang ditentukan. Akurasi dinilai dari hasil pemeriksaan bahan kontrol dan dihitung sebagai nilai biasnya (d%). Nilai d% dapat positif atau negatif, nilai positif menunjukkan nilai yang lebih tinggi dari seharusnya dan nilai negatif menunjukkan nilai yang lebih rendah dari seharusnya. Rumus $d (%) = [(rerata - NA)/NA]$, NA = nilai aktual atau sebenarnya dari bahan kontrol (Wijono *et al.*, 2004). Hasil uji akurasi jumlah bakteri urine UF-1000i pada kontrol *Low* dan *High* didapatkan simpulan masuk dalam rentang kontrol, dengan *range* nilai bias (d%) sebesar 0,0009% pada kontrol *High* dan 0,01% pada kontrol *Low* (tabel 5 dan 6).

Tabel 5. Hasil Uji Akurasi Jumlah Bakteri Urine UF1000i (/mL). Kontrol *High*.

No.	Kadar parameter pemeriksaan (rujukan) [Rerata (Rentang 2SD)]	Hasil pengukuran kadar parameter pemeriksaan (Rerata)	Simpulan	d (%)
1	760700 (690500-830900)	760000	Masuk dalam rentang	0,0009

Tabel 6. Hasil Uji Akurasi Jumlah Bakteri Urine UF1000i (/mL). Kontrol *Low*.

No.	Kadar parameter pemeriksaan (rujukan) [Rerata (Rentang 2SD)]	Hasil pengukuran kadar parameter pemeriksaan (Rerata)	Simpulan	d (%)
1	187100 (170360-203840)	189000	Masuk dalam rentang	0,01

B. Karakteristik Subyek Penelitian

Pada penelitian ini dilakukan eksklusi bila pada sampel ditemukan adanya jamur (berdasarkan adanya jamur pada pemeriksaan sedimen urine); virus (berdasarkan anamnesis adanya nyeri yang hebat dan ulkus pada organ kelamin wanita/pria); *Sexual Transmitted Disease* (STD) (bila didapatkan duh pada uretra anterior dan kuman diplococcus pada pengecatan Gram negatif); adanya kontaminasi (berdasarkan hasil kultur dengan ditemukannya ≥ 3 jenis koloni kuman); dengan tujuan untuk menyingkirkan ISK yang tidak disebabkan oleh bakteri. Pasien yang memakai kateter juga dilakukan eksklusi karena dapat menyebabkan nilai bakteri urine yang tinggi palsu.

Selama kurun waktu 3 bulan (Maret s/d Mei 2011) diperoleh 100 spesimen urine yang memenuhi kriteria inklusi tetapi hanya 96 sampel urine yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi penelitian. Hal ini disebabkan karena

terdapat 4 sampel urine yang setelah dikultur, didapatkan kuman diplococcus gram negatif sehingga sampel ini dieksklusi.

Karakteristik dasar subyek penelitian (tabel 7) dari 96 pasien didapatkan 33 pria (34,4%) dan 63 perempuan (65,6%). Tidak terdapat perbedaan jumlah bakteri UF-1000i antara pria dan perempuan dalam mendiagnosis ISK ($p = 0,757$).

Tabel 7. Karakteristik dasar subyek penelitian

Karakteristik Subyek Penelitian	Jumlah	%
Jenis Kelamin		
Pria	33	34,4
Perempuan	63	65,6

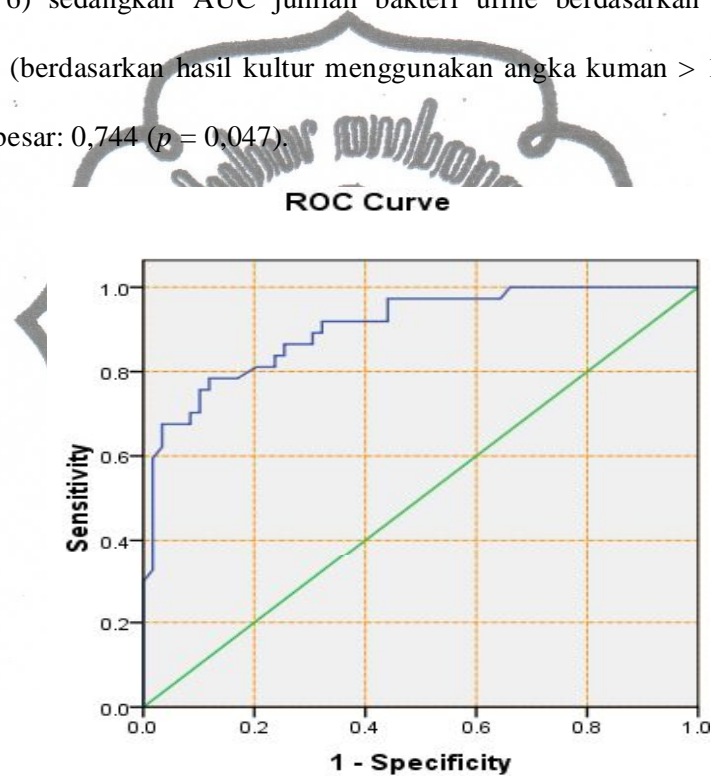
Berdasarkan hasil kultur yang tumbuh (51 sampel), didapatkan semua kuman adalah batang gram negatif. Kultur dengan angka kuman 10^5 didapatkan sebesar 31 sampel, kultur dengan angka kuman 10^6 sebesar 1 sampel dan kultur dengan angka kuman 10^7 sebesar 5 sampel sehingga jumlah sampel dengan angka kuman $\geq 10^5$ CFU/mL sebesar 37 sampel sedangkan jumlah sampel dengan angka kuman $\geq 10^6$ CFU/mL hanya sebesar 6 sampel. Frekuensi hasil kultur berbagai angka kuman tercantum dalam tabel 8.

Tabel 8. Frekuensi hasil kultur berbagai angka kuman

Angka Kuman Kultur	Frekuensi
0	45
10^3	4
10^4	10
10^5	31
10^6	1
10^7	5

C. Penentuan *Cut-Off* Jumlah Bakteri Urine UF 1000i Untuk Mendiagnosis ISK

Berdasarkan analisis kurva ROC didapatkan *area under the curve* (AUC) jumlah bakteri urine berdasarkan metode *flow cytometry* (berdasarkan hasil kultur menggunakan angka kuman $\geq 10^5$ CFU/mL) adalah sebesar 0,905 ($p < 0,001$) (Gambar 6) sedangkan AUC jumlah bakteri urine berdasarkan metode *flow cytometry* (berdasarkan hasil kultur menggunakan angka kuman $> 10^5$ CFU/mL) adalah sebesar: 0,744 ($p = 0,047$).



Gambar 6. Kurva ROC Jumlah Bakteri Urine berdasarkan metode *flow cytometry* dengan angka kuman $\geq 10^5$ CFU/mL.

Sensitivitas dan spesifisitas jumlah bakteri urine berdasarkan metode *Flow Cytometry* pada berbagai nilai *cut-off* dengan angka kuman $\geq 10^5$ CFU/mL tercantum dalam Tabel 9.

Tabel 9. Berbagai nilai *cut-off* jumlah bakteri urine berdasarkan metode *flow cytometry* dengan angka kuman $\geq 10^5$ CFU/mL (n=37).

No	Sensitivitas (%)	Spesifisitas (%)	PPV (%)	NPV (%)	<i>Cut-Off</i> Jmlh Bakteri	AUC	<i>p</i>
1	86,5	74,6	68,1	89,8	745.000	0,905	$P < 0,001$
2	81,1	79,7	71,4	87,0	1.250.000	0,905	$P < 0,001$
3	75,7	89,8	82,4	85,5	2.150.000	0,905	$P < 0,001$

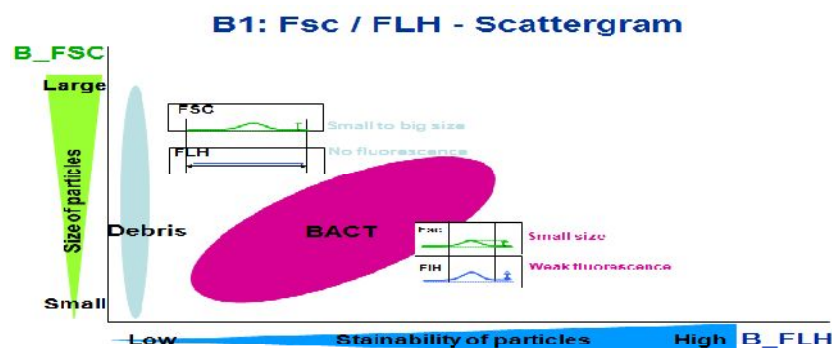
Dengan menggunakan angka kuman $\geq 10^5$ CFU/mL, diperoleh *cut-off* terbaik jumlah bakteri urine berdasarkan metode *flow cytometry* adalah 2150/ μ L dan dengan menetapkan *cut-off* tersebut, memberikan hasil validitas sensitivitas 76% untuk menyaring ISK dan spesifisitas 90% untuk mendiagnosis ISK, PPV 82,4%, NPV 85,5%, LR positif 7,6 ; LR negatif 0,26; akurasi 84%, *pre test Odds* 0,61, *post test Odds* 4,636 dan *post test probability* sebesar 82%.

Dengan menggunakan angka kuman $> 10^5$ CFU/mL, diperoleh *cut-off* terbaik jumlah bakteri urine berdasarkan metode *flow cytometry* adalah 4000/ μ L dan dengan menetapkan *cut-off* tersebut, memberikan hasil validitas sensitivitas 66,7% untuk menyaring ISK dan spesifisitas 76,7% untuk mendiagnosis ISK, PPV 16%, NPV 97,2%.

Oleh karena bila menggunakan angka kuman $> 10^5$ CFU/mL, didapatkan AUC yang lebih rendah dan signifikansi yang kurang bermakna (dikarenakan besar sampel yang didapat hanya 6 sampel) dibanding bila menggunakan angka kuman $\geq 10^5$ CFU/mL, maka pada penelitian ini ditetapkan *cut-off* terbaik jumlah bakteri urine berdasarkan metode *flow cytometry* adalah 2150/ μ L.

Hasil *cut-off* ini lebih tinggi dibanding dengan penelitian lainnya (Manoni, *et al.*, 2009), dapat disebabkan karena wadah penampung urine yang digunakan adalah wadah urine sesuai dengan prosedur pemeriksaan urine rutin.

Dalam menilai jumlah bakteri urine berdasarkan metode *flow cytometry*, *scattergram* pada *chamber* bakteri harus dicermati dengan baik, apakah terdapat *overlapping* antara debris (bahan organik seperti eritrosit, lekosit atau silinder yang mengalami fragmentasi) dan bakteri, karena hal ini dapat mengakibatkan ketidakakuratan jumlah bakteri. Hal ini dikarenakan *scattergram* debris dan bakteri agak berdekatan (Gambar 8) sehingga bila pada urine ditemukan banyak debris dengan kompleksitas yang tinggi, maka alat berdasarkan metode *flow cytometry* ini dapat salah mengelompokkan dan dapat menyebabkan nilai bakteri menjadi positif palsu sehingga pada penelitian ini jumlah debris yang *high* yang ditandai dengan adanya *flagging* pada parameter bakteri, dieksklusi untuk mendapatkan jumlah bakteri yang lebih akurat. Hal ini bertentangan dengan pendapat Van der Zwet *et al.* (2010) yang mengatakan bahwa alat ini mampu membedakan debris dan bakteri sehingga dapat mempertinggi sensitivitas dan spesifisitas.



Gambar 7. *Scattergram* pada *chamber* bakteri (Anonim, 2007).

commit to user

Alat berdasarkan metode *flow cytometry* dapat menghitung bakteri yang hidup dan mati sedangkan kultur menunjukkan hanya bakteri yang hidup. Jumlah bakteri berdasarkan metode *flow cytometry* dapat menyebabkan positif palsu begitu pula bakteri yang *dicoated* antibody sedangkan bakteri yang diberi antibiotik yang sesuai (*sensitive*) akan menyebabkan bakteri tersebut mati sehingga dalam kultur tidak akan tumbuh, tetapi tetap terdeteksi menggunakan alat berdasarkan metode *flow cytometry* dan bakteri yang diberi antibiotik yang tidak sesuai (*resisten*) akan menyebabkan bakteri tersebut tetap hidup dan akan memberikan hasil positif pada kultur.

Penelitian ini menunjukkan bahwa jumlah bakteri urine berdasarkan metode *flow cytometry* dengan *cut-off* sebesar 2.150/ μ L dapat dipakai sebagai alternatif cara untuk mendiagnosis infeksi saluran kemih yang lebih cepat, praktis, murah dan mudah sehingga terapi empiris dapat lebih cepat diberikan dan juga untuk *follow up* manfaat pemberian antibiotik serta membantu klinisi dalam proses *clinical decision making* karena mempunyai validitas yang tinggi.

D. Interpretasi Hasil Uji Diagnostik

Dengan menggunakan angka kuman $\geq 10^5$ CFU/mL, diperoleh *cut-off* terbaik jumlah bakteri urine berdasarkan metode *flow cytometry* adalah 2150/ μ L dan dengan menetapkan *cut-off* tersebut, memberikan hasil validitas sensitivitas 76% untuk menyaring ISK dan spesifisitas 90% untuk mendiagnosis ISK, PPV 82,4%, NPV 85,5%, LR positif 7,6 ; LR negatif 0,26; akurasi 84%, pre test probability sebesar 38,5%, pre test Odds 0,61, post test Odds 4,636 dan post test probability sebesar 82%.

Sensitivitas sebesar 76% berarti bahwa kemampuan (jumlah bakteri urine berdasarkan metode *flow cytometry* dengan nilai $\geq 2150/\mu\text{L}$ dan lekosit sedimen urine $> 10/\text{LPB}$) dalam mendiagnosis infeksi bakteri saluran kemih pada pasien yang menderita ISK yang dibuktikan dengan tumbuhnya bakteri $\geq 10^5$ CFU/mL pada biakan kultur adalah sebesar 76%.

Spesifisitas sebesar 90% berarti bahwa dengan menggunakan (jumlah bakteri urine berdasarkan metode *flow cytometry* dengan nilai $< 2150/\mu\text{L}$ dan lekosit sedimen urine $> 10/\text{LPB}$), penyakit infeksi bakteri saluran kemih dapat disingkirkan pada 90% pasien non ISK.

PPV sebesar 82,4% berarti bahwa probabilitas orang dengan jumlah bakteri urine berdasarkan metode *flow cytometry* dengan nilai $\geq 2150/\mu\text{L}$, benar-benar sakit sebesar 82,4%.

NPV sebesar 85,5% berarti bahwa probabilitas orang dengan jumlah bakteri urine berdasarkan metode *flow cytometry* dengan nilai $< 2150/\mu\text{L}$, benar-benar tidak sakit sebesar 85,5%.

LR positif sebesar 7,6 berarti bahwa perbandingan antara kecenderungan seseorang yang menderita infeksi bakteri saluran kemih akan mendapat nilai bakteri urine berdasarkan metode *flow cytometry* dengan nilai $\geq 2150/\mu\text{L}$ adalah sebesar 7,6 x lebih besar dibanding dengan kecenderungan orang yang tidak menderita infeksi bakteri saluran kemih akan mendapat nilai bakteri urine berdasarkan metode *flow cytometry* dengan nilai $\geq 2150/\mu\text{L}$. Berdasarkan EBM (*Evidence Based Medicine*), LR positif sebesar 7,6 mencerminkan hasil yang baik.

LR negatif sebesar 0,26 berarti bahwa perbandingan antara kecenderungan seseorang yang menderita infeksi bakteri saluran kemih akan mendapat nilai bakteri urine berdasarkan metode *flow cytometry* dengan nilai $< 2150/\mu\text{L}$ adalah sebesar 0,26 x dibanding dengan kecenderungan orang yang tidak menderita infeksi bakteri saluran kemih akan mendapat nilai bakteri urine berdasarkan metode *flow cytometry* dengan nilai $< 2150/\mu\text{L}$.

Akurasi sebesar 84% berarti terdapat orang yang benar-benar sakit dan orang yang benar-benar tidak sakit dari total keseluruhan orang yang diperiksa sebesar 84%.

Post test probability sebesar 0,82 berarti bahwa bila orang mendapatkan nilai bakteri urine berdasarkan metode *flow cytometry* dengan nilai $\geq 2150/\mu\text{L}$ dan leukosit urine $> 10/\text{LPB}$, maka seorang klinisi dapat langsung memberikan terapi tanpa perlu adanya suatu pemeriksaan penunjang lainnya untuk menyokong diagnosis infeksi bakteri saluran kemih (Hananto, 2002).

E. Evaluasi Hasil Penelitian berdasarkan EBM (*Evidence Based Medicine*)

Menurut EBM, suatu uji diagnostik dikatakan valid bila dilakukan perbandingan yang *independent* dan *blind* dengan *gold standard*; uji diagnosis dievaluasi pada spektrum pasien yang tepat dan *gold standard* diaplikasikan terlepas dari hasil uji diagnosis (Hananto, 2002). Pada penelitian ini, uji diagnosis (nilai *cut-off* jumlah bakteri urine berdasarkan metode *flow cytometry*) diterapkan pada setiap pasien yang sama dengan pasien yang akan dilakukan pemeriksaan *gold standard* dan dinilai secara *independent*, artinya masing-masing dinilai tersendiri; peneliti *blind* dalam mengkonfirmasi hasil uji diagnosis, tanpa

mengetahui hasil tes dari *gold standard* tersebut. Uji diagnosis pada penelitian ini diterapkan pada semua pasien dengan diagnosis klinis suspek ISK yang berusia 18-60 tahun yang belum diterapi dengan antibiotika serta ditemukan adanya leukosit urine $> 10/\text{LPB}$, sehingga dapat dikatakan bahwa uji diagnostik ini diterapkan pada semua pasien dengan berbagai gejala ISK dan *gold standard* yang dipakai (kultur urine) diaplikasikan terlepas dari hasil uji diagnosis sehingga secara EBM, penelitian ini memiliki validitas yang tinggi.

Uji diagnosis ini juga menghasilkan perubahan yang besar dari *pre test probability* sebesar 38,5% menjadi *post test probability* sebesar 82% (terjadi peningkatan sebesar 43,5%). Persentase peningkatan ini menggambarkan besarnya kemungkinan pasien dengan jumlah bakteri urine berdasarkan metode *flow cytometry* $\geq 2150/\mu\text{L}$ dan leukosit urine $> 10/\text{LPB}$ mempunyai suatu kelainan target (ISK). Hal ini mencerminkan bahwa penelitian ini adalah penting.

Uji diagnostik ini menghasilkan nilai LR yang tinggi (sebesar 7,6) sehingga *post test probability* juga menjadi tinggi (sebesar 0,82) sehingga seorang klinisi dapat memutuskan untuk langsung memberikan terapi yang tepat tanpa perlu adanya suatu pemeriksaan penunjang lainnya untuk menyokong diagnosis infeksi bakteri saluran kemih. Hal ini berarti bahwa uji diagnosis yang valid dan penting ini dapat diterapkan pada pasien.

F. Validitas Penelitian berdasarkan Uji Statistik dan EBM

Pada penelitian ini, dilakukan perbandingan yang *independen* dan *blind* dengan *gold standard*; uji diagnosis dievaluasi pada spektrum pasien yang tepat dan *gold standard* diaplikasikan terlepas dari hasil uji diagnosis serta hasil

penelitian ini memiliki nilai AUC sebesar 90,5% sehingga penelitian ini memiliki validitas yang tinggi baik secara statistik maupun EBM, penting dan dapat diterapkan.



BAB V. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa jumlah leukosit urine > 10/LPB disertai adanya jumlah bakteri urine berdasarkan metode *flow cytometry* dengan *cut-off* sebesar 2.150/ μ L mempunyai validitas yang tinggi untuk mendiagnosis ISK.

B. Saran

Bakteri urine berdasarkan metode *flow cytometry* dengan *cut-off* 2.150/ μ L disertai adanya jumlah leukosit urine > 10/LPB dapat dipakai untuk menegakkan diagnosis infeksi bakteri saluran kemih karena mempunyai validitas yang tinggi untuk mendiagnosis ISK.

Perlu penelitian lebih lanjut menggunakan *Tabel Cumitech 2A* (Lampiran 5) yang bertujuan untuk memberi nilai lebih dalam klasifikasi ISK dan untuk menunjukkan adanya strain uropatogen dapat dilakukan uji aglutinasi antigen serogroup spesifik K, O dan H bila pada kultur tumbuh kuman *E. Coli*.

RINGKASAN

Infeksi Saluran Kemih (ISK) merupakan salah satu penyakit infeksi yang sering ditemukan di praktek umum (Sukandar, 2006; Okada *et al.*, 2007; Schmiemann *et al.*, 2010; Sukandar, 2010) dan merupakan penyakit infeksi kedua terbanyak setelah Infeksi Saluran Pernafasan Akut (ISPA) (Manoni *et al.*, 2009).

Infeksi saluran kemih menimbulkan nyeri dan ketidaknyamanan (Okada *et al.*, 2007), sering mengalami rekurensi dan dapat menyebabkan morbiditas akut maupun sekuele jangka panjang berupa sikatriks pada ginjal yang akhirnya dapat menyebabkan hipertensi dan insufisiensi maupun gagal ginjal (Musim, 2007),

Fasilitas untuk menegakkan atau menyingkirkan diagnosis ISK masih terbatas, urinalisis mempunyai keterbatasan dalam mendiagnosis ISK (Musim, 2007), kultur urine sebagai *gold standard* membutuhkan tenaga terlatih, butuh waktu lama dan biaya mahal (Musim, 2007; Van der Zwet *et al.*, 2010).

Jumlah minimum bakteriuria yang menyebabkan ISK belum didefinisikan dalam literatur ilmiah maupun standarisasi dari laboratorium mikrobiologi.

Urine metode *flow cytometry* dapat menghitung bakteri secara spesifik, otomatis, hasil dapat segera tersedia, tidak memerlukan tenaga khusus, tidak ada variasi antar teknisi dan lebih murah. (Terajima *et al.*, 2009; Van der Zwet *et al.*, 2010).

Menurut Van der Zwet *et al.* (2010) alat dengan metode *flow cytometry* mempunyai beberapa keuntungan dalam mendiagnosis ISK karena :

1. Penggunaan pewarna yang spesifik dan kemampuan *flow cytometry* dalam mendeteksi partikel yang lebih kecil dalam *scattergram*, menghasilkan sensitivitas yang tinggi.
2. Adanya *chamber* khusus bakteri pada alat ini mampu membedakan debris dan bakteri sehingga mempertinggi sensitivitas dan spesifisitas.
3. Nilai dari WBC dan bakteri yang digabungkan akan meningkatkan NPV (*Negative Predictive Value*) hampir 100%.
4. Durasi dalam proses diagnostik dapat diturunkan secara signifikan dari kultur yang membutuhkan waktu paling cepat 1 hari menjadi hanya beberapa jam, bahkan untuk sejumlah besar spesimen, 80-100 sampel dapat dianalisis per jam.
5. Hasil test negatif dari alat ini dapat menyingkirkan keperluan *follow up* dengan kultur.
6. Jika proses logistik optimal, para klinisi dapat memperoleh hasil hanya dalam beberapa jam saja, atau paling lambat diterima dalam hari yang sama.
7. Karena alat ini dapat menyingkirkan ISK, para klinisi dapat memutuskan kapan untuk memulai terapi antibiotik.

Penelitian dilakukan dengan menggunakan desain *cross sectional* (potong lintang), dengan menggunakan kultur urine sebagai *gold standard*. Pengumpulan data dilakukan secara *consecutive sampling*.

Spesimen didapatkan dari poliklinik dan rawat inap penyakit dalam. Sampel dianalisis dan diteliti di Instalasi Laboratorium Patologi Klinik RSUD dr.

Moewardi Surakarta. Sampel penelitian yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi didapatkan sejumlah 96 sampel urine.

Kriteria inklusi meliputi penderita suspek ISK dari poliklinik dan rawat inap penyakit dalam yang belum mendapat terapi antibiotik, berusia 18-60 tahun, leukosit sedimen urine $>10/LPB$, menyetujui dan menandatangani surat persetujuan mengikuti penelitian. Kriteria eksklusi meliputi infeksi saluran kemih yang disebabkan karena jamur (bila didapatkan jamur pada pemeriksaan sedimen urine) dan virus (melalui anamnesis adanya nyeri yang hebat dan ulkus pada organ kelamin wanita/pria), *Sexual Transmitted Diseases (STD)* (bila didapatkan duh pada uretra anterior dan kuman diplococcus pada pengecatan Gram negatif), memakai kateter, kontaminasi, adanya *flag* pada kolom bakteri di alat (*Debris High*).

Pemeriksaan laboratorium didahului uji ketelitian (presisi) dan ketepatan (akurasi) analitik sehingga mutu hasil pemeriksaan dapat dipertanggungjawabkan. Hasil jumlah bakteri urine berdasarkan metode *flow cytometry* dianalisis menggunakan kurva ROC (dengan program komputer) lalu dicari sensitivitas terbaik (untuk *skrining* ISK) dan spesifisitas terbaik (untuk diagnosis ISK) dan didapatkan nilai *cut-off* terbaik untuk diagnosis ISK. Analisis statistik dalam penelitian ini diolah menggunakan program komputer dan nilai *p* bermakna bila $< 0,05$ dan interval kepercayaan 95%.

Berdasarkan analisis kurva ROC didapatkan *area under the curve (AUC)* jumlah bakteri urine berdasarkan metode *flow cytometry* sebesar 0,905 dan dengan menetapkan *cut-off* 2.150/ μL , memberikan hasil validitas sensitivitas 76%

untuk menyaring ISK dan spesifisitas 90% untuk mendiagnosis ISK, PPV 82,4%, NPV 85,5%, LR positif 7,6 dan LR negatif 0,26. Koefisien Variasi hasil uji presisi sehari 3,63%, presisi hari ke hari pada kontrol tinggi 0,48%, pada kontrol rendah 5,26% dan nilai bias hasil uji akurasi pada kontrol tinggi 0,0009% sedangkan pada kontrol rendah 0,01%.

Bakteri urine berdasarkan metode *flow cytometry* dengan *cut-off* 2.150/ μ L dapat dipakai untuk menegakkan diagnosis infeksi bakteri saluran kemih karena mempunyai validitas yang tinggi untuk mendiagnosis ISK.

