

## Uji Sensitivitas Bakteri *Klebsiella* spp. yang Diisolasi dari Anjing Kintamani Diare Terhadap Antibiotika

(*BACTERIAL SENSITIVITY TEST KLEBSIELLA SPP. ISOLATED FROM KINTAMANI DOG DIARRHEA AGAINST ANTIBIOTICS*)

Anak Agung Gede Agung Ananta Kusuma<sup>1\*</sup>, I Gusti Ketut Suarjana<sup>2</sup>,  
Ketut Tono Pasek Gelgel<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Pendidikan Sarjana Kedokteran, Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan,  
Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar Bali, Indonesia;

<sup>2</sup>Laboratorium Bakteri dan Mikologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan,  
Universitas Udayana, Jl. PB. Sudirman, Denpasar Bali, Indonesia.

\*Email: [nantangung13@gmail.com](mailto:nantangung13@gmail.com)

### Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pola kepekaan bakteri *Klebsiella* spp. yang diisolasi dari anjing kintamani diare. Sampel penelitian ini adalah 4 isolat *Klebsiella* spp. yang diisolasi dari anjing kintamani diare. Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode difusi cakram Kirby-Bauer secara duplo dengan menggunakan antibiotika *Kanamisin*, *Sulfamethoxazole-trimethoprim*, *Streptomisin*. Data yang diperoleh dinyatakan secara deskriptif kualitatif dengan mengukur zona hambat antibiotika yang terbentuk. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat *Klebsiella* spp. 75% intermediet dan 25% sensitif terhadap *Kanamisin*, seluruh sampel sensitif terhadap *Sulfamethoxazole-trimethoprim* dan 75% sampel intermediet dan 25% sensitif terhadap *Streptomisin*.

Kata kunci: Anjing kintamani; diare; *Klebsiella* spp.; uji sensitivitas

### Abstract

This study aims to determine the pattern of sensitivity of bacteria *Klebsiella* spp. isolated from kintamani dogs with diarrhea. The sample of this study were 4 isolates of *Klebsiella* spp. isolated from kintamani dogs with diarrhea. The method used in this study is the Kirby-Bauer disc diffusion method in duplicate using the antibiotics *Kanamycin*, *Sulfamethoxazole-trimethoprim*, and *Streptomycin*. The data obtained were expressed descriptively qualitatively by measuring the antibiotic inhibition zone formed. The results showed that isolates of *Klebsiella* spp. 75% intermediate (3 isolates) and 25% (1 isolate) sensitive to *Kanamycin*, all samples sensitive to *Sulfamethoxazole-trimethoprim* and 75% (3 isolates) sample intermediate and 25% (1 isolate) sensitive to *Streptomycin*.

Keywords: Diarrhea; kintamani dog; *Klebsiella* spp.; sensitivity test

### PENDAHULUAN

Anjing Kintamani merupakan kelompok anjing lokal jenis pegunungan yang hidup di sekitar Desa Sukawana, Kecamatan Kintamani, Kabupaten Bangli, Bali. Anjing ini mempunyai sifat pemberani serta memiliki penampilan yang sangat cantik dan indah (Puja, 2007). Anjing Kintamani belum tentu terbebas dari penyakit walaupun telah dipelihara dengan baik. Salah satu penyakit yang umum menyerang anjing ini ialah penyakit

yang disebabkan oleh bakteri diare (Evayana *et al.*, 2017; Pilla and Suchodolski, 2019). Diare merupakan suatu gejala penyakit berupa peningkatan pada frekuensi defekasi, konsistensi feses encer yang disebabkan oleh pergerakan dari peristaltik usus meningkat (Dewandaru *et al.*, 2019). Diare terjadi akibat infeksi bakteri salah satu penyebabnya adalah *Enterobacteriaceae* meliputi *Campylobacter* spp, *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp dan *Salmonella* spp

(Marks and Kather, 2003; Marks *et al.*, 2011).

*Klebsiella* spp. adalah bakteri nonmotil, fakultatif anaerob, Gram-negatif, berbentuk batang dengan kapsul berbasis polisakarida yang menonjol (Shi *et al.*, 2020). *Klebsiella* spp. menginfeksi saluran pencernaan dengan menghasilkan enterotoksin. Toksin mengaktifkan *guanylate cyclase* dari sel epitel usus secara abnormal yang menyebabkan hipersekresi cairan ke dalam lumen sehingga terjadi diare (Samanta and Bandyopadhyay, 2020). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Werner *et al.* (2020) menunjukkan hasil ditemukan bakteri *Klebsiella* spp. pada 1 anjing ras yang mengalami diare kronis. Serta penelitian Sharif *et al.* (2017) yang berhasil mengisolasi bakteri *Klebsiella* spp. dari 9 ekor anjing yang mengalami diare. Terapi diare pada anjing bisa dilakukan dengan terapi simptomatis dan kausalis. Salah satu cara terapi kausalis dilakukan dengan menggunakan antibiotika. Golongan antibiotika yang banyak digunakan untuk penanganan diare diantaranya penisilin, sefalosporin, nitroimidazoles, timethoprim-sulfonamida, dan aminoglikosida (Gómez-Beltrán *et al.*, 2021; German *et al.*, 2010; Anholt *et al.*, 2014).

Penelitian yang dilakukan oleh Sharif *et al.* (2017) menunjukkan hasil resisten dari isolat bakteri *Klebsiella* spp. dari anjing sehat dan diare terhadap golongan beta laktam (Sharif *et al.*, 2017). Tingginya kasus resistensi pada golongan antibiotik beta laktam sehingga diperlukan pemilihan antibiotik dari golongan lain. *Kanamisin* merupakan antibiotika golongan aminoglikosida yang termasuk dalam antibiotika berspektrum luas dan sensitif terhadap bakteri dari keluarga *Enterobacteriaceae* (Widyasari *et al.*, 2013; Krause *et al.*, 2016). Kombinasi sinergi antibiotika *Sulfamethoxazole-trimethoprim* bekerja dengan baik terhadap bakteri gram positif dan negatif (Etebu and Ariekpar, 2016). *Streptomisin* merupakan

golongan aminoglikosida berspektrum luas yang bersifat bakterisidal (Mustika *et al.*, 2015).

Sampai saat ini belum banyak diteliti pengujian antibiotika golongan berbeda selain beta-laktam terhadap bakteri *Klebsiella* spp. yang berasal dari anjing diare. Oleh karena itu, fokus dari penelitian ini adalah untuk menguji sensitivitas bakteri *Klebsiella* spp. asal anjing kintamani diare terhadap antibiotika *Kanamisin*, *Sulfamethoxazole-trimethoprim* dan *Streptomisin*.

## METODE PENELITIAN

### Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini adalah isolat *Klebsiella* spp. yang diisolasi dari anjing kintamani diare yang telah diidentifikasi pada TSIA dan IMViC oleh Deddy Dharmana sebanyak 4 isolat.

### Metode Difusi Cakram

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode difusi cakram secara duplo menurut Kirby-Bauer dengan cara membuat inokulum bakteri yang kekeruhannya disesuaikan dengan standar *Mc Farland* 0,5 BaSO<sub>4</sub> (Koneman *et al.*, 2017). Pembuatan standar *Mc Farland* 0,5 dilakukan dengan 9,95 mL larutan asam sulfat 1% dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 0,05 ml larutan barium klorida 1%. Tabung reaksi berisi campuran kedua larutan selanjutnya dikocok hingga larutan tercampur merata. Larutan *Mc Farland* 0,5 setara dengan 1 x 10<sup>8</sup> sel/ mL (Munirah *et al.*, 2018).

### Pembuatan Suspensi Bakteri *Klebsiella* spp.

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan mengambil koloni *Klebsiella* spp. yang telah disubkultur pada EMBA dengan menggunakan ose steril. Koloni bakteri tersebut selanjutnya disuspensikan ke dalam 5 mL NaCl 0,9% pada tabung reaksi. Suspensi dikocok hingga homogen dan membentuk kekeruhan yang sama dengan larutan standar *Mc Farland* 0,5 yang sudah dibuat sebelumnya (Munirah *et*

*al.*, 2018). Selanjutnya suspensi bakteri ditanam dengan cotton swab steril pada media Mueller-Hinton agar dan kemudian ditempelkan ketiga disk antibiotika yaitu *Kanamisin*, *Sulfamethoxazole-trimethoprim* dan *Streptomisin*.

### Analisis Data

Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan analisis deskriptif dan disesuaikan dengan tabel standar diameter killing zone (mm) dari masing-masing antibiotika. Pola kepekaan dari masing-masing antibiotika yakni resistensi, intermediet, dan sensitivitas pada antibiotika yang diuji disajikan dalam bentuk tabel persentase.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil

#### Uji Sensitivitas isolat bakteri *Klebsiella* spp. terhadap *kanamisin*, *sulfamethoxazole-trimethoprim* dan *streptomisin*.

Uji sensitivitas isolat bakteri *Klebsiella* spp. asal anjing kintamani diare terhadap antibiotika *Kanamisin*, *Sulfamethoxazole-trimethoprim* dan *Streptomisin* dapat dilihat pada tabel 2. Berdasarkan hasil pada tabel 2, terdapat 3 isolat (75%) intermediet dan 1 isolat (25%) sensitif terhadap antibiotika *Kanamisin*, sedangkan pada pengujian sensitivitas terhadap antibiotika *Sulfamethoxazole-trimethoprim* menunjukkan hasil 100% sensitif pada semua isolat dan terdapat 3 isolat (75%) intermediet dan 1 isolat (25%) sensitif terhadap antibiotika *Streptomisin*.

### Pembahasan

*Kanamisin* merupakan antibiotik golongan aminoglikosida yang termasuk kedalam antibiotik spektrum luas yang mana mampu berikatan dengan bakteri Gram positif maupun bakteri Gram negatif (Widyasari *et al.*, 2013). *Kanamisin* bekerja dengan cara mengikat secara ireversibel pada subunit 30S ribosom bakteri sehingga sub-unit 70 S tidak terbentuk yang menyebabkan inhibisi sintesis protein (Zhang *et al.*, 2019;

Hansur *et al.*, 2019). Pengujian sensitivitas isolat *Klebsiella* spp. terhadap *kanamisin* menunjukkan hasil 75% intermediet dan 25% sensitif. Hasil intermediet sebanyak 75 % (3 isolat) menunjukkan bahwa bakteri *Klebsiella* spp. mulai mengerah ke resisten karena penurunan sensitivitasnya terhadap antibiotika *kanamisin*. Hal tersebut berbeda dengan penelitian yang dilakukan Nazara *et al.* (2022) menunjukkan hasil sensitif pada semua isolat bakteri *Klebsiella* spp. asal babi penderita *Porcine Respiratory Disease Complex* (PRDC) terhadap antibiotika *kanamisin*. Penelitian lain yang dilakukan oleh Hossain *et al.* (2019) melaporkan hasil sebanyak 16 bakteri *Klebsiella* spp. asal kura-kura menunjukkan hasil 20 intermediet dan 80% sensitif terhadap antibiotika *kanamisin*.

Seluruh isolat bakteri *Klebsiella* spp. menunjukkan hasil 100% sensitif (4 isolat) terhadap antibiotika *sulfamethoxazole-trimethoprim*. Hal ini menandakan bahwa antibiotika *sulfamethoxazole-trimethoprim* masih efektif digunakan untuk terapi infeksi terhadap bakteri *Klebsiella* spp. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Nazara *et al.* (2022) menunjukkan hasil sensitif pada semua isolat bakteri *Klebsiella* spp. yang diisolasi dari babi penderita penderita *Porcine Respiratory Disease Complex* (PRDC) terhadap antibiotika *sulfamethoxazole-trimethoprim*. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Majewski *et al.* 2021 melaporkan bahwa sebanyak 62 dari 84 sampel bakteri *Klebsiella* spp. yang diisolasi dari organ ayam (hati, paru-paru, jantung dan limpa) sensitif terhadap antibiotika *sulfamethoxazole-trimethoprim*. Penelitian lain yang dilakukan oleh Abebe (2020) menunjukkan sebanyak 19 dari 19 isolat *Klebsiella oxytoca* dan 4 dari 5 isolat *Klebsiella pneumoniae* sensitif terhadap antibiotika *sulfamethoxazole-trimethoprim*.

*Sulfamethoxazole trimethoprim* merupakan antibiotika golongan

sulfoamida yang bersifat bakteriostatik yang dapat menghambat bakteri Gram-positif dan Gram-negatif seperti *Nocardia* spp., *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Enterobacter* spp., *Chlamydia trachomatis* dan beberapa Protozoa (Upmanyu and Malviya, 2020; Etebu and Ariekpar, 2016). Santosa (2016) menyebutkan bahwa kombinasi sulfametoksazol dan trimetoprim bersifat menghambat sintesis asam nukleat bakteri. Target kerja pada inti sel bakteri akan lebih cepat membunuh bakteri dibandingkan jika antibiotika hanya bekerja pada dinding atau membran sel bakteri, karena inti sel yang berisi asam nukleat (DNA dan RNA) adalah pusat informasi dan kegiatan yang mengatur keseluruhan kerja dan organisasi sel bakteri.

Hasil uji sensitivitas bakteri *Klebsiella* spp. terhadap antibiotika *streptomisin* menunjukkan hasil 75% intermediet dan 25% sensitif. Sama halnya dengan hasil yang ditunjukkan pada pengujian terhadap *kanamisin*, Hasil intermediet sebanyak 75 % (3 isolat) menunjukkan bahwa bakteri *Klebsiella* spp. mulai mengerah ke resisten karena penurunan sensitivitasnya terhadap antibiotika *streptomisin*. Purba *et al.* (2022) juga menjelaskan bahwa kepekaan suatu galur mikroba terhadap aminoglikosid mudah berubah, biasanya menurun setelah terjadi kontak terhadap golongan aminoglikosid.

*Streptomisin* merupakan antibiotika golongan aminoglikosida bersifat bakterisida dan mengganggu sintesis peptida/protein ribosom dengan cara mengikat sisi 16S rRNA yang terletak pada komponen 30S yang lebih kecil dari ribosom bakteri, menghambat fungsinya dan menghentikan sintesis protein lebih lanjut melalui penghambatan pembentukan ikatan peptida (Grosset and Singer, 2013). Antibiotika *streptomisin* telah terbukti aktif secara *in vitro* terhadap mikroorganisme Gram-negatif dan beberapa Gram-positif (Grosset and Singer, 2013). Hal tersebut didukung

dengan penelitian yang dilakukan oleh Hossain *et al.* (2019) melaporkan hasil sebanyak 16 bakteri *Klebsiella* spp. asal kura-kura menunjukkan hasil 50% sensitif dan 50% intermediet terhadap antibiotika *streptomisin*. Penelitian lain yang dilakukan oleh Duse *et al.* (2021) melaporkan sebanyak 22 isolat bakteri *Klebsiella* spp. asal sapi perah penderita mastitis tidak resisten terhadap antibiotika *streptomisin*.

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

Berdasarkan hasil peneltian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa bakteri *Klebsiella* spp. sensitif terhadap *Sulfamethoxazole-Trimethoprim* dan menunjukkan hasil intermediet serta resisten terhadap antibiotika *Kanamisin* dan *Streptomisin*.

### Saran

Bagi peneliti selanjutnya diharapkan lebih banyak menggunakan sampel isolate bakteri *Klebsiella* spp. asal anjing kintamani diare dan juga pengujian sensitivitas antibiotika bisa menggunakan BD Phoenix™ M50 Instrument karena alat tersebut dalam sekali kerja uji sensitivitas mampu menggunakan lebih dari 6 antibiotika.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana yang telah memfasilitasi penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abebe GM. 2020. Detection of biofilm formation and antibiotic resistance in *klebsiella oxytoca* and *klebsiella pneumoniae* from animal origin foods. *Int. J. Microbiol. Biotechnol.* 5(3): 120-130.
- Anholt RM, Berezowski J, Ribble CS, Russell ML, Stephen C. 2014. Using informatics and the electronic medical record to describe antimicrobial use in

- the clinical management of diarrhea cases at 12 companion animal practices. *PLoS One*. 9(7): e103190.
- Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). 2020. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 30th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute
- Dewandaru RA, Indarjulianto S, Yanuartono, Nururrozi A, Purnamaningsih A, Hayati R. 2019. Diare disebabkan infeksi escherichia coli pada anjing. *J. Trop. Anim. Vet. Sci.* 9(2): 38-43.
- Duse A, Persson-Waller K, Pedersen K. 2021. Microbial aetiology, antibiotic susceptibility and pathogen specific risk factors for udder pathogens from clinical mastitis in dairy cows. *Animals*. 11(7): 1-17.
- Etebu E, Arikekpar I. 2016. Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives. *Int. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. Res.* 4: 90-101.
- Evayana M, Dwinata IM, Puja IK. 2017. Prevalensi infeksi cacing toxocara canis pada anjing kintamani di Desa Sukawana, Kecamatan Kintamani, Kabupaten Bangli, Bali. *Indon. Med. Vet.* 6(2): 115-123.
- German AJ, Halladay LJ, Noble PJM. (2010). First-choice therapy for dogs presenting with diarrhoea in clinical practice. *Vet. Rec.* 167(21): 810–814.
- Gómez-Beltrán DA, Schaeffer DJ, Ferguson DC, Monsalve LK, Villar D. 2021. Antimicrobial prescribing practices in dogs and cats by colombian veterinarians in the city of medellin. *Vet. Sci.* 8(5): 1-11.
- Grosset JH, Singer T. (2013). Streptomycin. *Brenner's Encyclopedia of Genetics*. 5: 568–569.
- Hansur L, Ugi D, Hamball H. 2019. Uji kepekaan bakteri asam laktat kandidat probiotik terhadap antibiotik kanamisin, oleandomisin, dan polimiksin B. *eJKI*. 7(1): 61-65.
- Hossain S, De Silva BCJ, Dahanayake PS, Heo G. 2019. Phylogenetic relationships, virulence and antimicrobial resistance properties of *Klebsiella* spp. isolated from pet turtles in Korea. *Let. Appl. Microbiol.* 70: 71-78.
- Koneman EW, Procop GW, Church DL, Hall GS, Janda WM, Woods GL. 2017. Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Krause KM, Serio AW, Kane TR, Connolly LE. (2016). Aminoglycosides: an overview. *Cold Spring Harbor Perspectives in Med.* 6(6): 1-18.
- Majewski M, Józefiak A, Kimsa-Furdzik M, Dziubdziela L, Hudak-Nowak M, Wilczyński J, Anusz K. 2021. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. conventionally sampled from factory-farmed chickens clinical submissions. *Ann. Agric. Environ. Med.* 28(2): 271–276.
- Marks SL, Kather EJ. 2003. Bacterial-associated diarrhea in the dog: a critical appraisal. *Small Anim. Pract.* 33(5): 1029–1060.
- Marks SL, Rankin SC, Byrne BA, Wesse, JS. 2011. Enteropathogenic bacteria in dogs and cats: diagnosis, epidemiology, treatment, and control. *J. Vet. Intern. Med.* 25(6):1195–1209.
- Munirah, Rasidah E, Melani N, Zakiah, Nasir M. 2018. Uji aktivitas antibakteri etanol daun ketapang (*terminalia catappa* l.) warna hijau dan warna merah serta kombinasinya. *Indon. J. Pharm. Nat. Prod.* 1(2): 8-13.
- Mustika OC, Pinatih KJP, Suardana IW. 2015. Uji kepekaan *Escherichia coli* O157:H7 feses sapi di Kecamatan Kuta Selatan Badung Bali terhadap antibiotik. *Indon. Med. Vet.* 4(4): 342-350.
- Nazara AL, Suarjana IGK, Tono KPG. 2022. Bakteri *klebsiella* sp. asal babi penderita *porcine respiratory disease complex* resistan terhadap ampicillin

- dan peka *sulfamethoxazole-trimethoprim* dan kanamycin. *Indon. Med. Vet.* 11(1): 66-75.
- Pilla R, Suchodolski JS. 2019. The role of the canine gut microbiome and metabolome in health and gastrointestinal disease. *Front. Vet. Sci.* 6(498): 1-12.
- Puja IK. 2007. Anjing kintamani maskot fauna Kabupaten Bangli. Penerbit Universitas Udayana Bali.
- Purba DA, Tono KPG, Suarjana IGK. 2022. Uji kepekaan streptococcus spp. yang diisolasi dari penyakit saluran pernapasan kompleks babi terhadap kanamycin, streptomycin dan doxyxycine. *Bul. Vet. Udayana.* 14(3): 202-209.
- Samanta I, Bandyopadhyay S. 2020. *Klebsiella*. Antimicrobial Resistance in Agriculture. Elsevier Pp. 153–169.
- Santosa PE. 2016. Efektivitas berbagai preparat antibiotika terhadap kasus omphalitis pada ayam broiler. *J. Ilmiah Pet. Terpadu.* 4(4): 319 – 322.
- Sharif NM, Sreedevi B, Chaitanya RK, Sreenivasulu D. 2017. Beta-lactamase antimicrobial resistance in *Klebsiella* and *Enterobacter* species isolated from healthy and diarrheic dogs in Andhra Pradesh, India. *Vet. World.* 10(8): 950-954.
- Shi Y, Yang H, Chu M, Niu X, Huo X, Gao Y, Zeng J, Zhang T, Li YG, Outi K, Lou K, Li X, Dang, Li C. 2020. *Klebsiella*. *Beneficial Microbes in Agro-Ecol.* Pp. 233–257.
- Upmanyu N, Malviya VN. (2020). Antibiotics: mechanisms of action and modern challenges. *Microorganisms for Sustainable Environment and Health.* Pp. 367–382.
- Widiasari AM, Misyetti TH, Ambar, Nuraeni. 2013. Karakteristik fisikokimia kit kering kanamycin. *J. Sains Teknol. Nuklir Indon.* 43(2): 117-126.
- Zhang X, Wang J, Wu Q, Li L, Wang Y, Yang H. (2019). Determination of kanamycin by high performance liquid chromatography. *Molecules.* 24(10): 1902.

Tabel 1. Standar diameter killing zone antibiotika CLSI (2020).

Antibiotika	Sensitif	Intermediet	Resisten
<i>Kanamisin</i>	≥ 18 mm	14-17 mm	≤ 13 mm
<i>Sulfamethoxazole-trimethoprim</i>	≥ 16 mm	11–15 mm	≤ 10 mm
<i>Streptomisin</i>	≥ 15 mm	12–14 mm	≤ 11 mm

Tabel 2. Hasil Uji Sensitivitas Isolat *Klebsiella* spp. Terhadap Berbagai Jenis Antibiotika

Kode Isolat	Diameter Zona Hambat (mm)		
	<i>Kanamisin</i>	<i>Sulfamethoxazole-trimethoprim</i>	<i>Streptomisin</i>
<i>Klebsiella</i> spp. 1	17,5 (I)	24,5 (S)	13,5 (I)
<i>Klebsiella</i> spp. 2	23,5 (S)	28 (S)	20 (S)
<i>Klebsiella</i> spp. 3	15,5 (I)	24,5 (S)	12,5 (I)
<i>Klebsiella</i> spp. 4	17,5 (I)	26 (S)	14,5 (I)

Keterangan: S (Sensitif) dan I (Intermediate)