



Uji Teknik Difusi Menggunakan Kertas Saring Media Tampung Antibiotik dengan *Escherichia Coli* Sebagai Bakteri Uji

Ari Khusuma✉, Yuriska Safitri, Annisa Yuniarni, Kurnia Rizki

Jurusan Analis Kesehatan, Poltekkes Kemenkes Mataram, Indonesia

✉ khusumaari@gmail.com, Tlp: +81273148122

Genesis Naskah:

Diterima 1 Juli 2019; Disetujui 8 Agustus 2019; Di Publikasi 9 Agustus 2019

Abstrak

Uji sensitivitas antibiotik merupakan tes yang digunakan untuk menguji kepekaan suatu bakteri terhadap suatu antibiotik. Uji sensitivitas bertujuan untuk mengetahui efektifitas dari suatu antibiotik. Uji sensitivitas dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu: difusi cakram (*diffusion test*), pengenceran atau dilusi (*dilusi test*), antimicrobial gradient dan *short automated instrumen system*. Uji sensitivitas dengan metode difusi agar plate dapat dilakukan dengan cara Kirby Bauer dengan teknik *disc diffusion* (cakram disk) atau teknik sumuran. Rancangan penelitian ini adalah penelitian *eksperiment* dengan melihat uji difusi menggunakan kertas saring sebagai media tampung antibiotik dengan menggunakan *E.coli* sebagai bakteri uji. Data yang diperlukan adalah diameter zona hambat yang terbentuk pada media MHA saat melakukan uji sensitivitas metode difusi sumuran dan teknik kertas saring sebagai media tampung antibiotik. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa rerata diameter zona hambat antibiotik ciprofloxacin terhadap bakteri *E.coli* dengan menggunakan metode difusi teknik sumuran adalah 62 mm menunjukkan hasil sensitif, rerata diameter zona hambat yang terbentuk dengan menggunakan inovasi uji difusi menggunakan kertas saring sebagai media tampung antibiotik ciprofloxacin adalah 39 mm menunjukkan hasil sensitif. Rerata diameter zona hambat yang terbentuk pada inovasi uji difusi menggunakan kertas saring sebagai media tampung antibiotik lebih kecil dibandingkan dengan rerata diameter zona hambat menggunakan metode difusi teknik sumuran. Rata-rata diameter zona hambat antibiotik dengan menggunakan kertas saring sebagai media tampung adalah 39 mm. Perbedaan diameter zona hambat menggunakan teknik sumuran dengan teknik kertas saring sebagai media tampung antibiotik adalah 62 mm dan 39 mm.

Kata Kunci : Uji Teknik Difusi; Kertas Saring; *Escherichia Coli*; Bakteri Uji

Diffusion Techniques Test Using Medium Antibiotic Film Paper With *Escherichia Coli* As Bacteria Test

Abstract

The antibiotic sensitivity test is a used to test the sensitivity of a bacterium to an antibiotic. The sensitivity test aims to determine the effectiveness of an antibiotic. Sensitivity tests can do in several ways, namely: diffusion test), dilution or dilution (dilution test), antimicrobial gradient, and short automated instrument system. Sensitivity test with diffusion method so that the plate can be done by Kirby Bauer method with disc diffusion (disc disk) technique or sump technique. The design of this study was experimental research by looking at the diffusion test using filter paper as an antibiotic storage medium using *E. coli* as a test bacterium. The data needed is the diameter of the inhibitory zone formed on the MHA media when conducting sensitivity tests of the good diffusion method and filter paper technique as an antibiotic storage medium. The results of this study indicate that the average diameters of the ciprofloxacin antibiotic inhibitory zone against *E. coli* bacteria using the well diffusion technique is 62 mm showing sensitive results, the average diameter of the inhibitory zone formed by using diffusion test innovations using filter paper as ciprofloxacin antibiotic storage medium is 39 mm shows sensitive results. The average diameter of the inhibitory zone formed on the innovation of the diffusion test using

filter paper as an antibiotic storage medium is smaller than the average diameter of the inhibition zone using the good diffusion technique. The average diameter of the antibiotic inhibitory zone using filter paper as a storage medium is 39 mm. The difference in diameter of the inhibition zone using a good technique with filter paper technique as a medium for antibiotic storage was 62 mm and 39 mm.

Keywords: Diffusion Techniques; Test; Film Paper; Escherichia Coli; Bakteria Test

Pendahuluan

Uji sensitivitas antibiotik merupakan tes yang digunakan untuk menguji kepekaan suatu bakteri terhadap suatu antibiotik. Uji sensitivitas bertujuan untuk mengetahui efektifitas dari suatu antibiotik (Wahyutomo, 2009). Hasil sensitivitas suatu bakteri terhadap antibiotik ditentukan oleh diameter zona hambat yang terbentuk, semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk maka pertumbuhannya semakin terhambat sehingga dibutuhkan standar acuan untuk menentukan apakah bakteri tersebut resisten atau sensitive terhadap suatu antibiotik. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi diameter zona hambat diantaranya adalah waktu peresapan bakteri dalam media agar, konsentrasi antibiotik (Soemarno, 2000).

Uji sensitivitas bakteri terhadap suatu antibiotik dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu: difusi cakram (*diffusion test*), pengenceran atau dilusi (*dilusi test*), *antimicrobial gradient dan short automated instrumen system*. Uji sensitivitas dengan cara difusi merupakan cara yang paling banyak digunakan karena teknis pemeriksaan lebih mudah dilakukan.

Uji sensitivitas dengan metode difusi agar plate dapat dilakukan dengan cara *Kirby Bauer* dengan teknik *disc diffusion* (cakram disk) atau bisa juga menggunakan teknik sumuran. Teknik kerja dari metode *Kirby Bauer* cukup sederhana dimana teknik *disc diffusion* akan lebih mudah dikerjakan dibandingkan dengan teknik sumuran, akan tetapi uji sensitivitas menggunakan teknik *disc diffusion* memiliki harga disk antibiotik yang relatif mahal sehingga tidak selalu tersedia ketika dibutuhkan untuk praktikum, sehingga teknik sumuran menjadi lebih efisien untuk digunakan.

Uji sensitivitas dengan teknik sumuran dilakukan dengan cara membuat suatu lubang atau sumuran pada

media agar plate sehingga antibiotik dapat dimasukkan, akan tetapi pada saat pembuatan sumuran memiliki beberapa kesulitan seperti terdapatnya sisa-sisa agar pada suatu media yang digunakan untuk membuat sumuran, selain itu juga besar kemungkinan media agar retak atau pecah disekitar lokasi sumuran sehingga dapat mengganggu proses peresapan antibiotik kedalam media yang akan mempengaruhi terbentuknya diameter zona bening saat melakukan uji sensitivitas, sehingga diperlukan teknik yang cukup baik untuk mendapatkan sumuran utuh yang tidak mengganggu kerja dari uji sensitifitas antibiotik terhadap suatu bakteri.

Metode

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian *eksperiment* yaitu penelitian yang bertujuan untuk mengetahui suatu gejala atau pengaruh yang timbul sebagai akibat dari adanya perlakuan tertentu (Notoatmodjo, 2010). Dalam penelitian ini ingin diketahui hasil inovasi uji difusi menggunakan kertas saring sebagai media tampung antibiotik dengan menggunakan *E.coli* sebagai bakteri uji.

Unit eksperimen dalam penelitian ini adalah sisa bolongan kertas saring yang disterilkan menggunakan metode tyndalisasi lalu ditempelkan pada permukaan media MHA (*Muller Hinton Agar*) dan diteteskan dengan antibiotik.

Data yang di kumpulkan berupa: diameter zona hambat yang terbentuk pada media MHA saat melakukan uji sensitivitas metode difusi sumuran. Diameter zona hambat yang terbentuk pada media MHA saat melakukan uji sensitivitas dengan teknik kertas saring sebagai media tampung antibiotik.

Data dari hasil hitung diameter zona hambat pada masing-masing perlakuan yaitu uji difusi

menggunakan teknik sumuran dengan uji difusi menggunakan inovasi kertas saring sebagai media tampung diukur dengan analisis statistik *independent sample* T-test dengan tingkat kepercayaan 95% (0,05).

Hasil Penelitian dan Pembahasan

Uji sensitivitas antibiotik merupakan tes yang digunakan untuk menguji kepekaan suatu bakteri terhadap antibiotik. Uji kepekaan/sensitivitas bertujuan untuk mengetahui daya kerja/efektivitas dari suatu antibiotik dalam membunuh bakteri

(Wahyutomo,2009). Penelitian tentang inovasi uji difusi teknik sumuran menggunakan kertas saring sebagai media tampung antibiotik e.coli sebagai bakteri uji telah dilakukan di laboratorium mikrobiologi poltekkes kemenkes. Penelitian ini dilakukan dengan melakukan pengulangan atau replikasi sebanyak 16 kali pada setiap perlakuan. Kertas saring yang digunakan adalah kertas saring WHATMAN Kelas 2 dengan menggunakan 14 tumpukan sehingga kertas saring yang telah dibuat dapat menampung antibiotik sebanyak 75 µl.

Tabel 1 Data replikasi dan diameter zona hambat antibiotik ciprofloxacin terhadap bakteri *E.coli*

Replikasi	Perlakuan	
	T1	T2
1	62	41
2	65	39
3	63	29
4	62	40
5	60	41
6	63	41
7	62	40
8	62	39
9	64	30
10	60	41
11	62	40
12	64	40
13	64	37
14	61	40
15	60	39
16	63	39
Total diameter zona hambat (mm)	997	616
Rata-rata diameter zona hambat (mm)	62	39

Uji normalitas dalam penelitian ini menggunakan uji *Shapiro-wilk* pada tingkat kepercayaan 95% (α 0,05). Tabel hasil uji *Shapiro-wilk* menunjukkan data diameter zona hambat pada hasil uji sensitivitas teknik sumuran adalah $0,236 > 0,05$ dan diameter zona hambat pada hasil uji sensitivitas teknik kertas saring adalah $0,000 <$

$0,005$. Salah salah satu dari hasil uji shapiro-wilk tersebut tidak signifikan sehingga diartikan data tersebut tidak berdistribusi normal.

Hasil uji *Levene - Test* menunjukkan data hasil uji sensitivitas antibiotik ciprofloxacin terhadap bakteri E.coli menggunakan teknik sumuran dan teknik kertas saring sebagai media tampung antibiotik adalah $0,095 > 0,05$ yang menunjukan

bahwa data tersebut homogen. Dari hasil uji normalitas dan homogenitas menunjukkan salah satu dari data tersebut tidak normal sehingga dilanjutkan dengan menggunakan uji *mann-whitney test*.

Dari nilai uji Mann-whitney nilai statistik uji Z yang kecil yaitu -4.856 dan nilai sig.(2-tailed) adalah $0,000 < 0,005$. Sehingga hasil uji yang didapatkan adalah signifikan secara statistik, dengan demikian uji sensitivitas menggunakan kertas saring sebagai media tampung dapat digunakan.

Tabel tersebut menunjukkan bahwa rerata diameter zona hambat antibiotik ciprofloxacin terhadap bakteri *E.coli* dengan menggunakan metode difusi teknik sumuran adalah 62 mm menunjukkan hasil sensitif, rerata diameter zona hambat yang terbentuk dengan menggunakan inovasi uji difusi menggunakan kertas saring sebagai media tampung antibiotik ciprofloxacin adalah 39 mm menunjukkan hasil sensitif.

Kedua teknik uji tersebut menunjukkan hasil sensitif namun memiliki angka rerata diameter zona hambat yang berbeda, dimana rerata diameter zona hambat yang terbentuk pada inovasi uji difusi menggunakan kertas saring sebagai media tampung antibiotik lebih kecil dibandingkan dengan rerata diameter zona hambat menggunakan metode difusi teknik sumuran. Perbedaan tersebut disebabkan karena tumpukan kertas saring yang terlalu banyak sehingga antibiotik yang terserap ke permukaan media MHA tidak maksimal, hal tersebut dapat mempengaruhi ukuran diameter zona hambat yang terbentuk. Selain jumlah tumpukan kertas saring, daya hambat suatu antimikroba dalam uji sensitivitas secara *in vitro* dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu: populasi bakteri, konsentrasi antimikroba, komposisi media kultur, waktu inkubasi dan temperatur (Greenwood et al, 2003).

Faktor faktor tersebut secara keseluruhan dapat dikontrol saat prosedur pengujian berlangsung. Konsentrasi mikroba dapat dikontrol dengan pemakaian inokulum standar dari suspensi bakteri yang secara kualitatif sama dengan kekeruhan warna larutan standar Mc Farland yaitu putih keruh (Febrika, 2012).

Kesimpulan

Rata-rata diameter zona hambat antibiotik dengan menggunakan kertas saring sebagai media tampung adalah 39 mm. Perbedaan diameter zona hambat menggunakan teknik sumuran dengan teknik kertas saring sebagai media tampung antibiotik adalah 62 mm dan 39 mm.

Daftar Pustaka

- Adila R, Nurmiati, Agustien A. 2013. Uji Antimikroba *Curcuma spp.* Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*.
- Asriadi, 2012. *Uji Sensitivitas Beberapa Antibiotik Terhadap Bakteri Penyebab Infeksi Saluran Pernafasan Atas (ISPA) di RSUD Syech Yusuf di Kab.Gowa*. [SKRIPSI], UIN Alauddin Makassar.
- Bari, S.B., Mahajan, B.M., dan Surana, S.J. 2008. Resistance to Antibiotic: A Challenge In Chemotherapy. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research 2008*.
- Brooks, G. F., Janet, S.B., Stephen, A.M. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran (Medical Microbiology)*. Penerjemah: Eddi Mudihardi, dkk. Jakarta: Salemba Medika.
- Djide, M.N., dan Sartini. 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Farmasi*. Makassar: Lembaga Penerbit UNHAS.
- Guillemot, Didier. Antibiotic use in humans and bacterial resistance. *Current Opinion in Microbiology*. 1999; 2:494–498.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., and Adelberg, E. A. 2000. *Mikrobiologi Kedokteran*, Buku 1 &

- Buku 2, Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran. Universitas Airlangga, Jakarta: Salemba Medika.
- Jawetz *et al.* 2001. *Mikrobiologi Kedokteran, Buku I, Edisi I*, Alih bahasa: Bagian Mikrobiologi. FKU Unair Jakarta: Salemba Medika.
- Juliantina FR. 2008. Manfaat sirih merah (*piper crocatum*) sebagai agen antibakterial terhadap bakteri gram positif dan gram negatif. JKKI – Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia.
- Lullmann H, Mohr K, Ziegler A, Bieger D. 2000. Color Atlas of Pharmacology. 2nd.ed. New York : Thieme.
- Marliana, Herci. (2008). Optimasi Perekasi (Schryver) Menjadi Kertas Indikator. Untuk Identifikasi Formalin Dalam Sampel Makanan [SKRIPSI], Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia, Depok
- Norajit K, Laohakunjit N, Kerdchoechuen O. 2007. Antibacterial Effect of Five Zingiberaceae Essential Oils. Molecules.
- Pratiwi, Silvia T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta : Erlangga PERMENKES RI, 2011, *Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik*, Jakarta: Kementrian Kesehatan RI.
- Sacher, R.A., McPherson, R.A. 2004. *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Setiabudy, R., Gunawan, S. G., Nafrialdi dan Elysabeth. 2009. *Antimikroba*. In: Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 5 th ed. Farmakologi dan Terapi. Jakarta: Balai Penerbit FK UI.
- Soemarno, 2000. *Teknik Dasar Pemeliharaan Mikroba*. Jakarta: Intan Prawira
- Staf Pengajar Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 2008. *Farmakologi dan Terapi Edisi 5*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.