

UJI KEPEKAAN ANTIBIOTIKA *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli* PADA MEDIA TAHU PENGANTI MUELLER HINTON AGAR

Sensitivity Test of Staphylococcus Aureus and Escherichia Coli in Tofu Media to Substitute Mueller Hinton's Agar

Nina Marlina^{1*}, Iis Kurniati^{1*}, Cecep Patria^{1*}, Asep Dermawan^{1*}, Yuliansyah Sundara Mulia^{1*}

^{1*}Teknologi Laboratorium Medik Poltekkes Bandung
E-mail: nina.marlina0606@gmail.com

ABSTRACT

Mueller Hinton Agar is recommended medium by WHO for testing the sensitivity of bacteria to antibiotics while Tofu Media can generally be used as a basal as well as nutrient agar. This study aims to determine the differences in the results of the sensitivity test of Staphylococcus aureus and Escherichia coli using Mueller Hinton Agar and Tofu Media. The susceptibility test research used Kirby-Bauer diffusion method, where each bacterium was tested against 5 types of antibiotics. Staphylococcus aureus was tested against Trimethoprim-sulfamethoxazole, Tetracycline, Clindamycin, Vancomycin, and Erythromycin while Escherichia coli was tested against Ampicillin, Tobramycin, Amoxiclav, Ciprofloxacin, and Nalidixic Acid. Bacterial suspension with a concentration according to the standard Mac Farland 0.5 was planted on Mueller Hinton Agar and Tofu Media, then an antibiotic-disc was placed. The zone of inhibition was seen as a clear zone around the antibiotic-disc. The results showed that the inhibition of antibiotics TE 30 g, MEM 10 g, and OX 5 g against S. aureus in tofu media was greater than that of MHA, while SXT 25 g and E 15 g were less inhibited. The inhibitory power of AMP 10 g and AML 25 g antibiotics against E. coli in tofu media was greater than that for MHA, for C 30 g was the same, while TOB 10 g and CIP 5 g were smaller. The conclusion of the study showed that Tofu media could be used as a substitute for MHA in the sensitivity test of S. aureus and E. coli.

Keywords: Tofu Media, Mueller Hinton Agar, Sensitivity test

ABSTRAK

Mueller Hinton Agar merupakan media yang direkomendasikan oleh World Health Organization (WHO) untuk uji kepekaan bakteri terhadap antibiotika sedangkan Media Tahu secara umum dapat digunakan sebagai basal seperti halnya agar nutrient untuk menyiapkan media kaya dengan penambahan suplemen tertentu misalnya darah. Keduanya merupakan media padat, non selektif dan mempunyai kemiripan susunan makanan. Penelitian ini bertujuan menentukan perbedaan hasil uji kepekaan Staphylococcus aureus dan Escherichia coli menggunakan Mueller Hinton Agar dan Media Tahu. Penelitian uji kepekaan menggunakan Mueller Hinton Agar dan Media Tahu dengan metode difusi Kirby-Bauer, dimana masing-masing bakteri diuji terhadap 5 jenis antibiotika. Staphylococcus aureus diuji terhadap Trimethoprim-sulfametoxazole, Tetracycline, Clindamycin, Vancomycin, dan Erythromycin sedangkan Escherichia coli diuji terhadap Ampicillin, Tobramycin, Amoxiclav, Ciprofloxacin, dan Nalidixic Acid. Suspensi bakteri dengan konsentrasi sesuai standard Mac Farland 0,5 ditanam pada Mueller Hinton Agar dan Media Tahu, lalu diletakkan disk-antibiotika. Zona hambatan

terlihat sebagai zona jernih di sekitar disk-antibiotika. Hasil penelitian memperlihatkan daya hambat antibiotika TE 30 µg, MEM 10 µg, dan OX 5 µg terhadap *S.aureus* dalam media tahu lebih besar dibandingkan MHA, sedangkan antibiotika SXT 25 µg dan E 15 µg daya hambatnya lebih kecil. Daya hambat antibiotika AMP 10 µg dan AML 25 µg terhadap *E.coli* dalam media tahu lebih besar dibandingkan MHA, untuk C 30 µg sama besar, sedangkan TOB 10 µg dan CIP 5 µg lebih kecil. Untuk. Kesimpulan penelitian menunjukkan bahwa media Tahu dapat digunakan sebagai pengganti MHA pada uji kepekaan *S.aureus* dan *E.coli*.

Kata kunci : Media Tahu, *Mueller Hinton Agar*, Uji Kepekaan

PENDAHULUAN

Bakteri adalah organisme golongan prokariotik yang dapat diklasifikasikan dengan berbagai cara. Sebagian besar bakteri diklasifikasikan sebagai gram positif dan gram negatif. Klasifikasi tersebut berdasar pada struktur dari dinding sel bakteri⁶.

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7 – 1,2 µm, tersusun dalam kelompok-kelompok seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak berspora dan tidak bergerak, tumbuh pada suhu optimum 37 derajat celcius, membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20 - 25° C)⁹.

Eschericia coli merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek, panjang sekitar 2 µm, diameter 0,7 µm, lebar 0,4 – 0,7 µm, bersifat fakultatif anaerob⁵.

Antibiotika berasal dari kata Yunani tua, yang merupakan gabungan dari kata *anti* (lawan) dan *bios* (hidup). Kalau diterjemahkan bebas menjadi "melawan sesuatu yang hidup". Antibiotika merupakan senyawa alami maupun sintetik yang mempunyai efek menekan atau menghentikan proses biokimiawi di dalam organisme, khususnya dalam proses infeksi oleh mikroba¹. Semenjak ditemukannya antibiotika pertama yaitu penemuan sulfonamide pada tahun 1935³, pemakaian antibiotika dalam klinik meningkat. Antibiotika yang digunakan untuk membasmi mikroba, khususnya penyebab infeksi pada manusia, harus memiliki sifat toksisitas selektif yang setinggi mungkin, artinya antibiotika tersebut haruslah bersifat

sangat toksik untuk mikroba, tetapi relatif tidak toksik untuk inang/hospes².

Ada beberapa cara untuk dapat mengelompokkan antibiotika. Misalnya klasifikasi antibiotika berdasarkan cara kerja antibiotika tersebut terhadap kuman, yakni antibiotika yang bersifat primer bakteriostatik dan antibiotika yang bersifat primer bakterisid³. Pembagian lain juga sering dikemukakan berdasarkan mekanisme atau tempat kerja antibiotika tersebut pada kuman, yaitu antibiotika yang menghambat sintesis dari dinding sel, antibiotika yang bekerja langsung bekerja pada membran sel bakteri, meningkatkan permeabilitas dan mendorong kebocoran susunan intrasel, antibiotika yang mengganggu fungsi dari subunit ribosom 30S atau 50S yang akan menyebabkan penghambatan sintesis protein, antibiotika yang berikatan dengan subunit ribosom 30S dan merubah sintesis protein, antibiotika yang mempengaruhi metabolisme asam nukleat, antibiotika termasuk trimethoprim dan sulfonamide, yang menghalangi enzim esensial dari metabolisme folat⁴.

Antibiotika diberikan secara tepat sesuai diagnosa penyebab penyakit infeksinya. Untuk menentukan penyebab penyakitnya, maka secara ideal diperlukan diagnosa bakteriologi dan tes kepekaan bakteri terhadap antibiotika. Tes tersebut dalam laboratorium mikrobiologi disebut tes sensitifitas⁷.

Ketahanan antibiotika ialah kemampuan dari bakteri untuk menahan efek antibiotika. Ketahanan antibiotika

terjadi ketika bakteri dapat merubah diri sedemikian rupa hingga dapat mengurangi efektifitas dari suatu obat, bahan kimia ataupun zat lain yang sebelumnya dimaksudkan untuk menyembuhkan atau mencegah penyakit infeksi sehingga mengakibatkan bakteri tersebut tetap dapat bertahan hidup⁴. Bakteri dapat membentuk ketahanan khusus terhadap suatu jenis antibiotika tertentu, sehingga membahayakan orang yang terkena penyakit tersebut. Kesalahpahaman yang sering terjadi di masyarakat yaitu adanya anggapan bahwa yang resisten terhadap obat tertentu ialah tubuh seseorang, padahal sebenarnya bakteri yang ada di dalam tubuh itulah yang menjadi resisten terhadap pengobatan, bukan tubuhnya¹⁰.

Pada prinsipnya uji kepekaan terhadap antimikroba adalah penentuan terhadap bakteri penyebab penyakit yang kemungkinan menunjukkan ketahanan terhadap suatu antimikroba atau kemampuan suatu antimikroba untuk menghambat pertumbuhan bakteri yang tumbuh *in vitro*, sehingga dapat dipilih sebagai antimikroba yang berpotensi untuk pengobatan³.

Untuk mendapatkan hasil yang valid, uji kepekaan harus dilakukan dengan metode yang akurat dan presisi yang baik. Kriteria yang penting dalam metode uji kepekaan adalah hubungannya dengan respon pasien terhadap terapi antimikroba². World Health Organization (WHO) merekomendasikan penggunaan teknik difusi Kirby-Bauer yang telah diperkenalkan pada tahun 1976, metode tersebut sangat sesuai khususnya untuk golongan Enterobactriaceae, tetapi dapat pula digunakan untuk semua bakteri pathogen⁵.

Pengujian dilakukan di bawah kondisi standar, dimana kondisi standar berpedoman pada *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*. Standar yang harus dipenuhi yaitu konsentrasi inokulum bakteri, media perbenihan (*Muller Hinton*) dengan memperhatikan kondisi pH,

konsentrasi kation, suhu inkubasi, lama inkubasi dan konsentrasi antimikroba⁶.

Mueller Hinton Agar telah direkomendasikan oleh FDA dan WHO untuk uji antibakteri terutama bakteri aerob dan fakultatif anaerob untuk makanan dan materi klinis. Media agar ini juga telah terbukti memberikan hasil yang baik dan reproduibel (*reproducibility*). Media agar ini mengandung Sulfonamida, trimetoprim, dan inhibitor tetrasiklin yang rendah serta memberikan pertumbuhan pathogen yang memuaskan¹⁰. Beef Extract dan Asam Kasein Hydrolysate merupakan sumber nitrogen, vitamin, karbon dan asam amino. Kandungan patinya akan menyerap zat racun yang timbul selama pertumbuhan. Konsentrasi agarnya juga membuat proses difusi yang lebih baik dibanding media yang lain⁵.

Tahu adalah makanan dengan bahan dasar kacang kedelai, tahu merupakan makanan andalan untuk perbaikan gizi karena tahu mempunyai mutu protein nabati terbaik karena mempunyai komposisi asam amino paling lengkap dan diyakini memiliki daya cerna yang tinggi (85-98%). Media tahu dapat digunakan sebagai media pertumbuhan *S.aureus* dan *E.coli*⁸.

Media tahu secara umum dapat digunakan sebagai basal seperti halnya agar nutrient untuk menyiapkan media kaya dengan penambahan suplemen tertentu misalnya darah. Media ini juga bisa digunakan sebagai media mikrobiologi untuk penggunaan umum tanpa penambahan darah². Jika media mikrobiologi ini digunakan tanpa penambahan darah, pH harus diatur pada satuan 7,2-7,4 karena kebanyakan bakteri tumbuh pada suhu yang sedikit agak basa. Kandungan Beef extract dan peptone pada media tahu menghasilkan carbon, nitrogen, asam amino dan vitamin. Kandungan Natrium chloride membantu mempertahankan keseimbangan osmotik dari medium⁹.

METODE

Jenis Penelitian yang digunakan adalah eksperimen laboratorium dengan desain penelitian menggunakan 5 macam antibiotika dari 5 golongan yang berbeda.

Untuk mencari jumlah pengulangan dari perlakuan penelitian, dihitung menggunakan aturan replikasi.

Sehingga penelitian ini akan dilakukan pengulangan sebanyak 5x untuk masing masing antibiotika. Populasi Penelitian ini adalah media Media Tahu. Sampel yang digunakan penelitian adalah Media Tahu sebanyak 25 petri untuk 1 bakteri (5 macam antibiotika masing-masing diulang 5 kali).

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Bandung. Mulai bulan Desember 2019 sampai bulan Oktober 2020. data yang digunakan adalah data primer yang diperoleh dari hasil pengamatan uji kepekaan antibiotika menggunakan media tahu dan Mueller Hinton Agar terhadap *S.aureus* dan *E.coli*. Data yang diperoleh akan dianalisis dengan uji statistik Uji T menggunakan program komputer SPSS.

Alat yang digunakan yaitu cawan petri, inkubator, standar *Mc Farland* 0,5, penggaris, kapas Lidi Steril. Bahan-bahan yang digunakan yaitu *Mueller Hinton Agar*, Media Tahu, biakan murni *S.aureus* dan *E.coli*., dan cakram antibiotika, NaCl 0,9% steril.

Pertama-tama siapkan *Mueller Hinton Agar* dan *Media Tahu* pada cawan petri. Kemudian dibuat suspensi bakteri dengan kekeruhan sama dengan standar *McFarland* 0,5. Kemudian ditanam pada *Mueller Hinton agar* dan *Media Tahu* dengan cara di celupkan dahulu kapas lidi steril pada suspensi bakteri, kemudian diangkat kapas lidi tersebut di atas permukaan suspensi pada sisi tabung kapas lidi diputar dengan sedikit ditekan agar tidak berlebih.

Setelah itu digoreskan pada *Mueller Hinton Agar* dan *Media Tahu* dengan memutar agar sekitar 60 derajat 2 sampai 3 kali untuk memastikan seluruh permukaan agar tergores. Diputar pada pinggiran agar untuk mengambil kelebihan suspensi bakteri pada sekeliling cawan petri. Kemudian ditempatkan cakram antibiotika pada

permukaan agar yang telah ditanami bakteri dengan memperhatikan jarak penyimpanan cakram. Dapat dilakukan menggunakan pinset steril atau disk feeder. Kemudian diinkubasi 37°C selama 18-24 jam. Terakhir Dibaca hasil uji kepekaan dengan cara mengukur diameter zona hambat yang dibentuk baik pada *Mueller Hinton Agar* maupun *Media Tahu*.

HASIL

Hasil uji kepekaan *Staphylococcus aureus* terhadap antibiotika TE 30 µg, MEM 10 µg dan OX 5 µg pada media tahu sebagai alternatif pengganti MHA menunjukkan zona hambat yang lebih besar daripada kontrol MHA. Sedangkan, pada antibiotika SXT 25 µg dan E 15 µg pada media tahu sebagai alternatif pengganti MHA terdapat zona hambat yang lebih kecil dibandingkan pada kontrol MHA.

Hasil uji kepekaan *Escherichia coli* terhadap antibiotika AMP 10 µg dan AML 25 µg pada media tahu sebagai alternatif pengganti MHA menunjukkan zona hambat yang lebih besar daripada kontrol MHA. Untuk antibiotika C 30 µg pada media tahu sebagai alternatif pengganti MHA menunjukkan hasil zona hambat yang sama dengan kontrol MHA. Sedangkan, antibiotika TOB 10 µg dan CIP 5 µg pada media tahu sebagai alternatif pengganti MHA menunjukkan zona hambat yang lebih kecil dibandingkan dengan kontrol MHA.

Terlihat bahwa diameter zona hambat *S. aureus* pada medium tahu cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan yang diujikan pada MHA, sedangkan dari tabel 4.2 diameter zona hambat *E. coli* pada media tahu , tobramycin lebih kecil dibandingkan dengan yang diujikan pada MHA. Namun demikian secara keseluruhan perbedaan diameter zona hambat antara medium tahu dan MHA relatif kecil.

Dari hasil uji T diatas tampak bahwa kedua kelompok data relatif homogen ($p=0,803$) dan tidak ada perbedaan diameter zona hambat antara media tahu dengan MHA ($p=0,889$) baik pada *S. aureus* maupun pada *E. coli*. Sementara

itu antara *S. aureus* dan *E. coli* terdapat perbedaan diameter zona hambat secara signifikan.

PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan uji yang bersifat eksperimen yang bertujuan untuk mengetahui hasil uji kepekaan *S.aureus* dan *E.coli* terhadap antibiotika pada media Tahu sebagai alternatif pengganti MHA.

S.aureus merupakan bakteri uji Gram positif dan *E.coli* bakteri uji Gram negatif. Dibuat suspensi sesuai dengan McFarland 0,5 yang merupakan standar CLSI untuk uji kepekaan. MHA telah direkomendasikan oleh FDA dan WHO untuk uji antibakteri terutama bakteri aerob dan fakultatif anaerob untuk makanan dan materi klinis. Media agar ini juga telah terbukti memberikan hasil yang baik dan reproduksibel (*reproducibility*). Media agar ini mengandung Sulfonamida, trimetoprim, dan inhibitor tetrasiklin yang rendah serta memberikan pertumbuhan patogen yang memuaskan⁵.

Beef Extract dan Asam Kasein Hydrolysate merupakan sumber nitrogen, vitamin, karbon dan asam amino. Kandungan patinya akan menyerap zat racun yang timbul selama pertumbuhan. Konsentrasi agarnya juga membuat proses difusi yang lebih baik dibanding media yang lain.

Media tahu secara umum dapat digunakan sebagai basal seperti halnya agar nutrient untuk menyiapkan media kaya dengan penambahan suplemen tertentu. Media ini juga bisa digunakan sebagai media mikrobiologi untuk penggunaan umum tanpa penambahan darah seperti *Mueller Hinton Agar* (untuk uji kepekaan).

Pertumbuhan *S.aureus* dan *E.coli* pada media Tahu kurang subur dibandingkan kontrol pada media MHA. Koloninya berukuran kecil, akan tetapi jumlah koloni terlihat lebih banyak. Besarnya diameter koloni pada media tahu menyebabkan jumlah bakteri yang tumbuh pada media tahu menjadi berkurang karena zat nutrisi yang

dibutuhkan untuk pembelahan sel telah digunakan untuk peningkatan ukuran diameter koloni. Walaupun jumlah bakteri pada kontrol lebih banyak daripada jumlah bakteri pada media Tahu, ukuran diameter pada kontrol lebih besar daripada ukuran diameter pada media Tahu. Hal ini disebabkan oleh tingginya kandungan beberapa asam amino yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini didukung oleh pernyataan Dawes yang menyebutkan bahwa beberapa jenis asam amino dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* seperti metionin dan valin. Sedangkan asam amino yang dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* adalah alanin dan metionin⁸.

Pertumbuhan *S.aureus* dan *E.coli* pada media tahu tersebut akan mempengaruhi daya hambat terhadap antibiotika. Hal ini pula yang menyebabkan rata-rata zona hambat seperti pada tabel 4.1. koloni *S.aureus* TE 30 µg, MEM 10 µg dan OX 5 µg pada media tahu sebagai alternatif pengganti MHA menunjukkan zona hambat yang lebih besar daripada kontrol MHA. Sedangkan, pada antibiotika SXT 25 µg dan E 15 µg pada media tahu sebagai alternatif pengganti MHA terdapat zona hambat yang lebih kecil dibandingkan pada kontrol MHA. Pada tabel 4.2 hasil uji kepekaan *Escherichia coli* terhadap antibiotika AMP 10 µg dan AML 25 µg pada media tahu sebagai alternatif pengganti MHA menunjukkan zona hambat yang lebih besar daripada kontrol MHA. Untuk antibiotika C 30 µg pada media tahu sebagai alternatif pengganti MHA menunjukkan hasil zona hambat yang sama dengan kontrol MHA. Sedangkan, antibiotika TOB 10 µg dan CIP 5 µg pada media tahu sebagai alternatif pengganti MHA menunjukkan zona hambat yang lebih kecil dibandingkan dengan kontrol MHA.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil uji T yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa media tahu dapat digunakan untuk uji kepekaan *S.aureus* dan *E.coli* terhadap antibiotika (SXT 25 µg, TE 30 µg, MEM

10 µg, OX 5 µg, E 15 µg) dan (AMP 10 µg, TOB 10 µg, AML 25 µg, CIP 5 µg, C 30 µg).

DAFTAR RUJUKAN

1. Clinical and Laboratory Standards Institute (2019) *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. Pennsylvania
2. Kurniati, Iis (2017) *Penuntun dan Jurnal Praktikum Media & Reagensia*. Bandung: Sekolah Tinggi Analisis Bakti Asih.
3. Kusuma, Sri Agung Fitri Msi,Apt. (2019). Makalah Staphylococcus. Dalam *Pustaka Ilmiah Unpad* (Online). Tersedia <http://pustaka.unpad.ac.id>. Html (31 Januari 2021)
4. Kusuma, Sri Agung Fitri Msi,Apt. (2020). Makalah Escherichia coli. Dalam *Pustaka Ilmiah Unpad* (Online). Tersedia <http://pustaka.unpad.ac.id>. Html (31 Januari 2021)
5. Kusuma, Sri Agung Fitri Msi,Apt. (2019). Uji Biokimia. Dalam *Pustaka Ilmiah Unpad* (Online). Tersedia : <http://pustaka.unpad.ac.id>. Html (31 Januari 2021)
6. Notoatmojo, S. Prof.Dr (2010). *Metode Penelitian* (Ed Revisi1991). Jakarta: PT Rineka Cipta
7. STABA, (2010). Panduan Penyusunan & Penulisan Proposal dan Hasil Tugas Akhir (Ed pertama). Bandung : Sekolah Tinggi Analisis Bakti Asih.
8. Struthers, J. Keith & Westran, Roger P. (2019) *Clinical Bacteriology*. London : British Medical Association
9. Wahyutomo, Ridho, dr (2018). *Mekanisme Kerja Antibiotika*. (Online) tersedia : <http://drridhowahyutomo.blogspot.co.id/2011/11/mekanisme.kerja-antibiotika.html> (31 Januari 2021)
10. Wibowo, Marlia Singgih(2019). *Produksi Antibiotika* (Online). Tersedia : <https://fa.itb.ac.id/handoutkuliah>. Html (31 Januari 2016)