

ALTERNATIF PENGGUNAAN KERTAS SARING SEBAGAI PENGANTI KERTAS CAKRAM PADA UJI RESISTENSI BAKTERI *Aeromonas* sp. TERHADAP AMPISILIN DAN KLORAMFENIKOL

Eulis Reni Sundari ^{1*)}

¹Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Padjadjaran Jl. Raya Bandung Sumedang KM.21,
Jatinangor, Kabupaten Sumedang, Jawa Barat 45363

*) Email: eulis@unpad.ac.id

Abstrak

Saat ini terdapat banyak penelitian mengenai uji resistensi bakteri menggunakan metode *disc diffusion* (tes Kirby-Bauer). Prinsip pengujian dari metode difusi adalah menempatkan kertas cakram yang telah diberi perlakuan senyawa antibakteri dengan konsentrasi berbeda pada media yang telah diinokulasi organisme dan akan diuji secara merata. Hal ini menunjukkan kebutuhan kertas cakram meningkat sehingga perlu digunakan bahan lain sebagai alternatif pengganti kertas cakram agar mendapatkan hasil yang baik dan efektif. Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah mendapatkan alternatif penggunaan kertas saring sebagai pengganti kertas cakram dalam uji resistensi bakteri *Aeromonas* sp. terhadap ampisilin dan kloramfenikol. Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2021 di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Didapatkan hasil berupa penggunaan kertas saring sebagai alternatif pengganti kertas cakram efektif untuk dilakukan karena dapat menghasilkan hasil yang sama dengan penggunaan kertas cakram. Kertas saring no. 1, 41, 42 dan lembaran dapat digunakan sebagai alternatif pengganti kertas cakram dan jenis kertas saring yang terbaik adalah kertas saring no. 41.

Kata Kunci : *Aeromonas* sp. Ampisilin, Kertas Cakram, Kertas Saring, Kloramfenikol

Abstract

Currently, there are many studies about *disc diffusion* method (Kirby-Bauer test) for bacterial resistance testing. This test principle is to place a paper disc that has been treated with antibacterial compounds with a certain concentration on the media that has been planted with the organisms to be tested evenly. This shows that the need for disc paper is increasing. Therefore, it is necessary to use other materials instead of disc paper to get good and effective results. The aim of this study is to obtain an alternative to using filter paper instead of disc paper in *Aeromonas* sp. to ampicillin and chloramphenicol. This study was conducted in November 2021 at the Biotechnology Laboratory, Faculty of Fisheries and Marine Science. The results obtained in the form of using filter paper as an alternative to disc paper are effective because they can produce the same results as using disc paper. Filter paper no. 1, 41, 42, and can be used as an alternative to disc paper. The best type of filter paper is filter paper no. 41.

Keywords : *Aeromonas* sp. Ampicillin, Chloramphenicol, Disc Paper, Filter Paper

I. Pendahuluan

Saat ini terdapat banyak penelitian mengenai pengujian antibiotik dengan uji resistensi bakteri menggunakan metode *disc diffusion* (tes Kirby-Bauer). Prinsip pengujian metode difusi adalah kertas cakram yang diberi konsentrasi senyawa antibakteri tertentu ditempatkan pada media di mana organisme yang diuji tumbuh (Soleha, 2015). Pada metode ini diamati zona hambat diamati sebagai daerah bening disekeliling kertas cakram yang telah direndam dalam ekstrak yang digunakan (Kaseng *et al.*, 2016).

Penentuan aktivitas antibakteri dengan metode difusi dilakukan dengan mengukur diameter zona bening atau zona hambat yang terbentuk disekitar kertas cakram (Kaseng *et al.*, 2016). Semakin besar diameter zona hambat maka semakin rendah nilai konsentrasi hambat minimum senyawa tersebut. Sehingga kertas cakram merupakan bahan penting yang diperlukan karena kertas cakram berfungsi sebagai bahan yang menyerap ekstrak yang digunakan dan ditempatkan pada media pertumbuhan bakteri.

Salah satu uji resistensi bakteri yang dilakukan adalah uji resistensi bakteri *Aeromonas* sp. Bakteri ini dikenal sebagai penyebab *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) pada ikan air tawar (Angka *et al.*, 1982). Banyak upaya telah dilakukan untuk mengatasi permasalahan penyakit ikan air tawar tropis, antara lain membangun lingkungan yang optimal, vaksinasi, desinfeksi wadah, dan penggunaan antibiotik. Antibiotik seperti ampisilin dan kloramfenikol biasa digunakan untuk budidaya ikan di Indonesia.

Banyaknya penelitian yang dilakukan mengenai uji resistensi bakteri menunjukkan kebutuhan kertas cakram juga meningkat. Penggunaan bahan lain sebagai alternatif pengganti kertas cakram merupakan hal penting untuk menghasilkan penelitian yang efektif dengan hasil yang baik. Maka perlu dilakukan penelitian mengenai

alternatif penggunaan kertas saring sebagai pengganti kertas cakram pada uji resistensi ampisilin dan kloramfenikol terhadap bakteri *Aeromonas* sp. dan jenis kertas saring apa yang terbaik dan dapat diaplikasikan pada penelitian sebagai alternatif pengganti kertas cakram.

II. Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2021 di Laboratorium Bioteknologi Perikanan dan Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Unpad. Metode yang digunakan adalah metode eksploratif kemudian dianalisis secara deskriptif. Penelitian ini menggunakan 10 perlakuan kertas cakram yang direndam dalam antibiotik 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm dan 1000 ppm (PD). Perlakuan yang digunakan adalah sebagai berikut:

1. Kertas Cakram ukuran diameter pori-pori 9 μm (PD).
2. Kertas Saring Whatman No.1 ukuran diameter pori-pori 11 μm (1).
3. Kertas Saring Lembaran ukuran diameter pori-pori 45 μm (L).
4. Kertas Saring Whatman No.41 ukuran diameter pori-pori 20 μm (41).
5. Kertas Saring Whatman No.42 ukuran diameter pori-pori 2,5 μm (42).
6. Kertas Cakram ukuran diameter pori-pori 9 μm (PD).
7. Kertas Saring Whatman No.1 ukuran diameter pori-pori 11 μm (1).
8. Kertas Saring Lembaran ukuran diameter pori-pori 45 μm (L).
9. Kertas Saring Whatman No.41 ukuran diameter pori-pori 20 μm (41).
10. Kertas Saring Whatman No.42 ukuran diameter pori-pori 2,5 μm (42).

Tahapan dari penelitian ini yaitu:

a. Pembuatan Seri Konsentrasi Antibiotik Ampisilin Dan Kloramfenikol

Kloramfenikol dibuat stok konsentrasi 10%, kemudian dibuat seri konsentrasi 100, 250, 500, 750 dan 1000 ppm. Selanjutnya setiap konsentrasi diteteskan ke dalam cawan 20 μL dan diinkubasi terlebih dahulu pada suhu kamar selama 10 menit. Kemudian cawan ditempatkan pada media yang terdapat suspensi bakteri, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 36°C. Konsentrasi ampisilin dan kloramfenikol yang digunakan ini diharapkan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas* sp.

b. Uji Resistensi Bakteri *Aeromonas* sp.

Konsentrasi bakteri *Aeromonas* sp. yang digunakan diukur menggunakan spektrofotometer dengan nilai OD (*Optical Density*) sebesar 0,5. Bakteri kandidat imunostimulan diseleksi berdasarkan kemampuannya menghasilkan senyawa antibakteri. Seleksi bakteri yang mempunyai aktivitas antibakteri dilakukan dengan Metode Kirby Bauer (Fall, 2011). Resistensi isolat diuji terhadap antibiotik ampisilin dan kloramfenikol dengan perlakuan konsentrasi yang sudah dibuat. Uji resistensi dilakukan secara aseptis dengan memasukan satu ose biakan ke dalam 15 ml NaCl Fisiologis. Kemudian 100 μl suspensi bakteri dengan konsentrasi 10⁵-10⁶ cell/ml ditambahkan ke atas medium agar dalam cawan petri dan diratakan menggunakan *Cottonbud lab*. Kemudian kertas cakram yang telah diresapi antibiotik ditempatkan pada media kultur dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam.

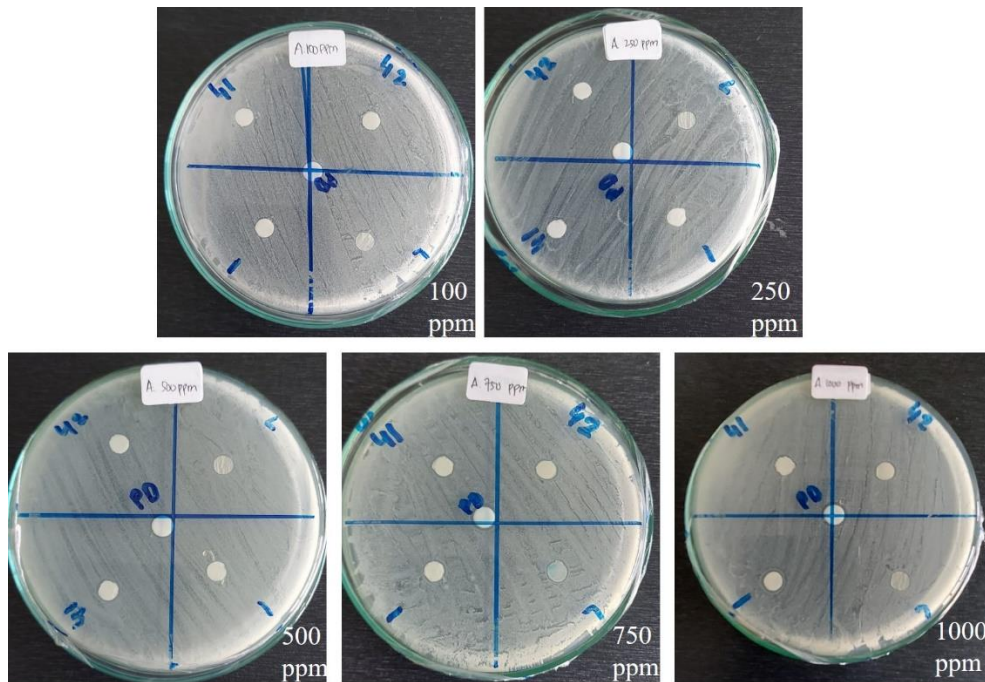
c. Pengukuran Diameter Daya Hambat pada Setiap Perlakuan

Setelah inkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam. Aktivitas antibakteri dinyatakan positif jika terbentuk zona hambat berupa zona bening di sekitar kertas cakram dan diukur diameternya dengan jangka sorong. Zona hambat diukur dengan tiga kali ulangan pengukuran, kemudian hasil pengukuran tersebut dibandingkan dengan standar zona hambat menurut CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*).

III. Hasil dan Pembahasan

Uji Resistensi Menggunakan Ampisilin

Uji resistensi dilakukan untuk mengetahui sensitivitas bakteri terhadap antibiotik. Hasil uji resistensi bakteri *Aeromonas* sp. berdasarkan standar kepekaan antibiotik menunjukkan resisten terhadap antibiotik ampisilin (Gambar 1). Bakteri resisten antibiotik adalah bakteri yang tidak dapat dikendalikan atau dibunuh dengan antibiotik. Hal ini dapat disebabkan oleh penggunaan antibiotik yang berkelanjutan pada dosis berapa pun, sehingga meningkatkan resistensi antibiotik (Walewangko, 2015).



Gambar 1. Hasil Uji Resistensi Bakteri *Aeromonas* sp. Terhadap Ampisilin

Salah satu antibiotik golongan penisilin yang digunakan untuk mengatasi infeksi pada bakteri adalah ampisilin. Karakteristik penisilin yaitu memiliki mekanisme kerja dengan cara mempengaruhi tahap transpeptidase atau ikatan silang atau tahap akhir sintesis dinding sel bakteri, sehingga kestabilan membran menurun secara osmotik. Hal ini menyebabkan lisis sel dapat terjadi dan disebut sebagai bakterisida (Mycek *et al.*, 2001).

Mekanisme lainnya adalah untuk mencegah ikatan silang peptidoglikan selama tahap akhir sintesis dinding sel. Hal ini dilakukan dengan cara menghambat protein pengikat penisilin. Protein ini merupakan enzim yang terdapat pada membran progenitor sel bakteri, menghambat aktivitas enzim transpeptidase, membuat dinding sel bakteri rapuh dan terdegradasi (Pratiwi, 2008).

Hasil uji *Aeromonas* sp. menunjukkan bakteri bersifat sensitif dengan hasil pengamatan terdapat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Resistensi Isolat Bakteri *Aeromonas* sp terhadap Ampisilin

Jenis Kertas	Diameter Zona Hambat pada Konsentrasi Ampisilin (mm)				
	100 ppm	250 ppm	500 ppm	750 ppm	1000 ppm
Saring					
PD	6,56	7,25	7,60	7,82	8,27
1	6,19	6,58	7,05	7,57	8,07
L	6,17	7,16	7,20	7,51	7,94
41	6,27	6,38	7,33	7,48	7,48
42	6,17	6,39	7,32	7,45	7,45

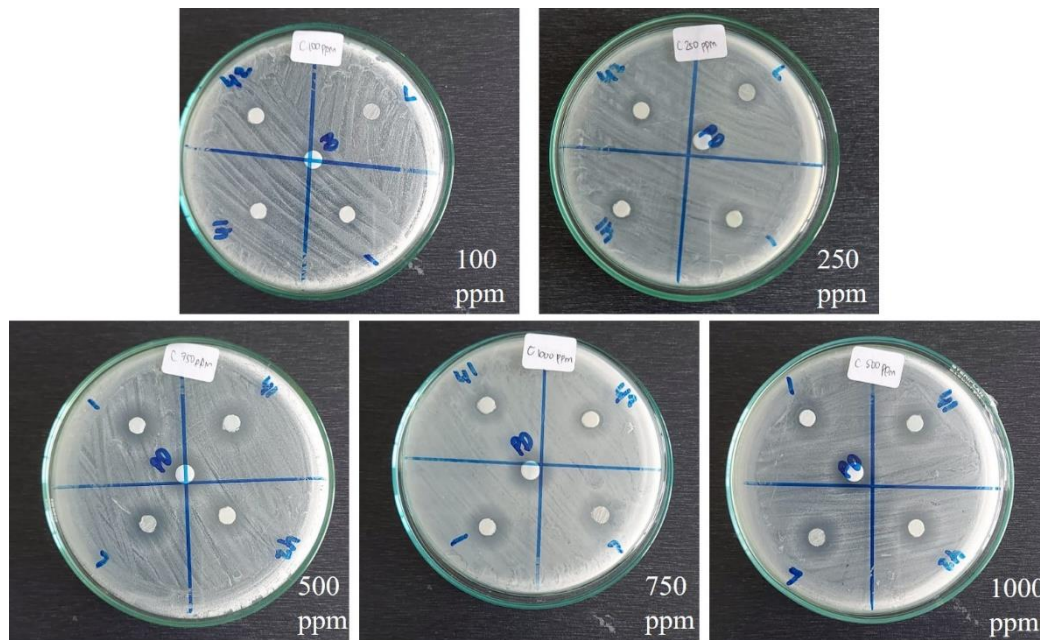
Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat bahwa diameter uji daya hambat beranekaragam dari 6 – 8 mm yang menunjukkan tergolong resisten terhadap ampisilin. Hal ini membuktikan bahwa penggunaan kertas saring sebagai pengganti kertas cakram dapat diaplikasikan dan menghasilkan hasil yang baik dan efektif karena menunjukkan hasil yang sama antara keduanya. Berdasarkan hasil analisis varians dengan uji F pada tingkat kepercayaan 95% diperoleh hasil bahwa $F_{hit} > F_{tabel}$ yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada masing-masing perlakuan. Sehingga dapat disimpulkan bahwa jenis kertas saring yang digunakan terhadap munculnya zona hambat pada lima variasi konsentrasi antibiotik ampisilin dapat dijadikan alternatif

pengganti kertas cakram dengan kertas saring 41 merupakan jenis kertas saring terbaik. Hal ini karena dilihat pada rata-rata kertas saring tertinggi pada kertas saring 41.

Sebagaimana telah dilakukan penelitian mengenai pemberian antibiotik untuk infeksi *Aeromonas sp.* efektif untuk dilakukan. Penelitian Costa dan Cyrino (2006) di Brazil menunjukkan bahwa *Aeromonas sp.* yang menyerang ikan nila resisten terhadap amoksisilin, ampisilin, linkomisin, novobiocin, oksasilin, penisilin, kombinasi trimetoprim dengan sulfametoksazole, dan rifampisin. Pernyataan ini sejalan dengan hasil diameter zona hambat tidak jauh berbeda antara setiap perlakuan jenis kertas saring dan konsentrasi antibiotik yang digunakan.

Uji Resistensi Menggunakan Kloramfenikol

Hasil pengujian resistensi *Aeromonas sp.* terdapat pada Gambar 2, di mana hasil diperoleh menggunakan kloramfenikol diameter zona hambat lebih besar dibandingkan diameter zona hambat ampisilin. Berdasarkan toksisitas selektif, kloramfenikol tergolong dalam bakteri yang hanya menghambat pertumbuhan mikroorganisme (bakteriostatik) dan tergolong dalam antibiotik berspektrum luas (*broad spectrum*) dibuktikan bahwa zona hambat terbentuk di sebagian besar bakteri *Aeromonas sp.* yang diujikan.



Gambar 2. Hasil Uji Resistensi Bakteri *Aeromonas sp.* Terhadap Kloramfenikol

Menurut Pratiwi (2008), antibiotik spektrum luas dapat menghambat atau membunuh bakteri dari golongan Gram-positif dan Gram-negatif. Antibiotik ini bekerja dengan menginduksi pengikatan dan transfer ke mRNA tanpa menginduksi ikatan peptida. Ketika kloramfenikol berikatan dengan ribosom, terjadi distorsi pada komponen ribosom, mencegah pembentukan ikatan peptida dan migrasi ribosom (Nurtami dan Auerkasri, 2002).

Tabel 2. Hasil Uji Resistensi Isolat Bakteri *Aeromonas sp* terhadap Kloramfenikol

Perlakuan	Diameter Zona Hambat Konsentrasi Kloramfenikol (mm)				
	100 ppm	250 ppm	500 ppm	750 ppm	1000 ppm
PD	8,24	13,54	13,90	14,11	14,72
1	8,15	13,50	13,82	14,28	14,56
L	8,06	13,07	13,12	14,18	14,02
41	8,14	13,14	13,44	13,42	14,25
42	8,13	13,08	13,43	13,72	13,82

Berdasarkan Tabel 2. dapat dilihat bahwa diameter uji daya hambat beranekaragam dari 8 – 14 mm yang menunjukkan tergolong resisten ataupun intermediet terhadap kloramfenikol. Berdasarkan standar kepekaan antibiotik pada konsentrasi kloramfenikol 100 ppm termasuk resisten dengan diameter zona hambat rata-rata 8 mm. Sedangkan pada konsentrasi kloramfenikol 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, dan 1000 ppm merupakan intermediet karena diameter yang dihasilkan antara 13 – 17 ppm. Hal ini membuktikan bahwa penggunaan kertas saring sebagai pengganti kertas cakram dapat diaplikasikan dan menghasilkan hasil yang baik dan efektif.

Selanjutnya berdasarkan hasil analisis varians dengan uji F pada tingkat kepercayaan 95, diketahui bahwa $F_{hit} > F_{tabel}$ menunjukkan perbedaan yang signifikan pada masing-masing perlakuan. Sehingga dapat disimpulkan bahwa jenis kertas saring yang digunakan terhadap munculnya zona hambat pada lima variasi konsentrasi antibiotik kloramfenikol dapat dijadikan alternatif pengganti kertas cakram dengan cakram 41 merupakan jenis kertas saring terbaik. Hal ini karena dilihat pada rata-rata kertas saring tertinggi pada kertas saring 41.

Pengobatan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas* sp. dibuat dengan berbagai antibiotik tertentu seperti oksitetrasiklin, kloramfenikol, erithromisin, kanamisin, dan rimfamisin (Sari *et al.*, 2017). Hal ini sejalan dengan hasil penelitian bahwa kloramfenikol dapat menimbulkan zona hambat. Semakin banyak penelitian yang dilakukan mengenai uji resisten bakteri ataupun penelitian lain yang menggunakan bahan kertas cakram maka diharapkan hasil ini dapat diaplikasikan untuk mempermudah penelitian selanjutnya. Adanya alternatif bahan yang digunakan akan mendukung dengan hasil penelitian yang lebih baik dan efisien.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa:

1. Penggunaan kertas saring sebagai alternatif pengganti kertas cakram efektif untuk dilakukan karena dapat menghasilkan hasil yang tidak berbeda dari penggunaan kertas cakram.
2. Kertas saring no. 1, 41, 42 dan lembaran dapat digunakan sebagai alternatif pengganti kertas cakram dan jenis kertas saring yang terbaik adalah kertas saring no. 41

Ucapan Terima Kasih

Tiada kata yang dapat terucap selain rasa syukur kehadiran Allah SWT, atas limpahan rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan tulisan ini dengan baik. Penulis menyadari masih banyak kendala dalam penulisan ini. Namun berkat ridho Allah SWT. dan dukungan dari berbagai pihak dapat diatasi. Tak lupa, terima kasih kepada pihak yang berkontribusi dalam karya tulis ini:

1. Ibu Dr. Yuniar Mulyani S.P., M. Si. Selaku Kepala Lab Bioteknologi FPIK UNPAD
2. Saudari Aisyah S. Pi yang telah membantu dalam penelitian ini
3. Keluarga yang telah memberikan dorongan dan dukungan

Daftar Pustaka

- Angka SL, Pramono SU, Pasmu FH, Alifuddin M. Isolasi dan identifikasi jasad renik penyebab epidemi penyakit bercak merah Ikan di Jawa Barat. *Buletin Perikanan*. I (1) (1982): 1-14.
- Costa A.B. dan Cyrino J.E.P. Antibiotic resistance of *Aeromonas hydrophila* isolated from *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) and *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). *Sci. Agric*. 63 (2006) : 281 - 284.
- Kaseng. Uji daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri Uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* ekstrak etanol daun mangrove *Rhizophora mucronata* dan efek antidiabetiknya pada mencit yang diinduksi aloksan. *Jurnal Bionature*. 17(1) (2016): 1-6
- Mycek, M. J, Harvey, R.A. dan Champe, P.C. *Farmakologi ulasan bergambar Edisi Kedua*. (2001). Jakarta, Widya Medika
- Nurtami dan Auerkasri E.I. Mekanisme Inhibisi Sintesis Protein dan Dasar Molekuler Resistensi Antibiotik. *Jurnal Kedokteran Gigi*. Universitas Indonesia 9(1) (2012): 25-28
- Pratiwi. *Mikrobiologi Farmasi*. (2018). Jakarta: Erlangga.
- Sari, E. T. P., Tri G., Ervina I. Pengendalian infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dengan ekstrak rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata*). *Jurnal Biologi Papua*. 9(2) (2017): 37-42.
- Soleha, T. U. Uji Kepekaan terhadap Antibiotik. *Jurnal Kesehatan Unila*, 5(9) (2015): 119 – 123.
- Walewangko, G. V.C. Uji resistensi bakteri escherichia coli yang di isolasi dari plak gigi menggunakan merkuri dan ampisilin. *Jurnal e-Biomedik* (2015) 3(1) (2015): 118-124.