

**UJI RESISTENSI BAKTERI *Staphylococcus aureus* dan  
*Escherichia coli* DARI ISOLAT SUSU SAPI SEGAR  
TERHADAP BEBERAPA ANTIBIOTIK**

**SKRIPSI**



**Oleh:**

**IKA DYAH AYU WASITANINGRUM  
K 100 050 036**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA  
SURAKARTA  
2009**

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang Masalah**

Bahan susu adalah zat cair berwarna putih dari sapi betina atau hewan menyusui lainnya yang dapat diminum atau digunakan sebagai bahan makanan sehat, tidak dikurangi komponennya dan tidak ditambah dengan bahan-bahan lainnya (Hadiwiyoto, 1994). Susu merupakan salah satu bahan makanan yang sangat tinggi mutunya karena terdapat zat gizi dalam perbandingan yang optimal seperti protein, kalsium dan asam amino (Anonim, 2009).

Susu sangat berguna untuk manusia, namun kenyataannya terdapat banyak bakteri patogen yang hidup di dalam susu. Bakteri yang sering terdapat dalam susu sapi meliputi *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Bacillus* serta *E. coli* (Volk dan Wheeler, 1993). Menurut Benson (2002), jumlah bakteri dalam air susu dapat digunakan sebagai indikator terhadap kualitas susu. Selain itu, jenis bakteri seperti *E. coli*, *Enterobacteriaceae* dan *Streptobacillus* telah lama dirumuskan sebagai mikroorganisme indikator mutu (Setyawan dan Yatri, 1987). Menurut Setyawan dan Yatri, 1987, bakteri *E. coli* sering ditemukan di dalam susu. Bakteri berasal dari kontaminasi petugas pemerah susu yang tidak membersihkan tangannya sebelum mulai pemerah susu (memegang ambing), kebersihan kandang sapi yang kurang, tempat pembuangan kotoran yang dekat dengan kandang dan juga jarak kandang sapi yang dekat dengan sumur. Untuk itu

bakteri *E. coli* dan bakteri *Staphylococcus aureus* dipilih untuk diuji dalam penelitian ini karena sering ditemukan di dalam susu.

Beberapa bakteri mempunyai kemampuan alami untuk kebal atau resisten terhadap obat, misalnya dengan antibiotik meskipun tidak berinteraksi secara langsung. Hal ini dapat terjadi karena bakteri mempunyai enzim yang dapat merusak obat (Brander *et al.*, 1991).

Antibiotik yang biasa diberikan pada sapi di antaranya yaitu oxytetrasiklin, ampicilin, penisilin (golongan antibiotik penisilin); penstrep (kombinasi golongan penisilin dan sefalosporin) dan antibiotik golongan sulfadiazin. Antibiotik tersebut diberikan secara langsung dengan disuntikkan pada sapi langsung, tidak dicampur pakan (jerami, dedak, konsentrat, ampas tahu, rerumputan) yang diberikan pada sapi. Antibiotik tersebut disuntikkan pada sapi saat sapi tersebut sakit atau diperkirakan sakit secara injeksi atau suntikan (Irawan, 2009). Antibiotik yang lain diberikan lewat mulut atau dicampur dengan pakan yang diberikan, misal sulfamethazine, chlor-tetracycline oinment atau oxytetracycline mastitis oinment dan penicilin oinment.

Resistensi antibiotik kemungkinan disebabkan karena seringnya antibiotik tersebut diberikan pada sapi atau sering digunakan (Anonim, 2009) yang ditunjukkan dengan adanya peningkatan pola kepekaan antibiotik dari tahun ke tahun, pola kepekaan *Staphylococcus aureus* terhadap antibiotik tetrasiklin 53.3 %, kloramfenikol 23.6 %, ampicilin 18.1 %, sefotaksim 6.6% dan gentamisin 4,2 %. Keadaan ini menunjukkan bahwa kuman-kuman tersebut sebagian besar telah resisten. Gambaran kepekaan kuman terhadap antibiotika golongan

aminoglikosida tahun 1989 dan 1990 yang dikirim dari klinik ke bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia menunjukkan bahwa pada tahun 1989 *Escherichia coli* lebih sensitif terhadap aminoglikosida. Data tahun 1990 menunjukkan resistensi kuman *Escherichia coli* tidak terlihat penurunan kepekaan terhadap gentamisin. Kepekaan kuman terhadap antibiotika di rumah sakit Kentucky USA dalam waktu 10 tahun (1990–2000) menunjukkan penurunan yang signifikan terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*. Penggunaan antibiotika di Indonesia yang cukup dominan adalah turunan tetrasiklin, penisilin, kloramfenikol, eritromisin dan streptomisin. Seperti juga di negara lain, pola penggunaan antibiotika tersebut telah mencapai tingkat yang berlebihan dan banyak diantaranya digunakan secara tidak tepat. Perkembangan resistensi kuman terhadap antibiotika sangat dipengaruhi oleh intensitas pemaparan antibiotika di suatu wilayah, tidak terkendalinya penggunaan antibiotika cenderung akan meningkatkan resistensi kuman yang semula sensitif (Refdanita dkk, 2001).

Adanya bakteri resisten terhadap antibiotik, mendorong dilakukannya penelitian untuk mengkaji resistensi bakteri dari susu sapi segar. Dipilih susu sapi segar sebagai objek kajian bakteri resisten, karena susu sapi sering dikonsumsi oleh manusia dan merupakan bahan makanan yang sangat penting untuk kebutuhan manusia yang mengandung zat yang sangat diperlukan oleh tubuh seperti protein, karbohidrat, lemak, vitamin, dan mineral.

## **B. Perumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang masalah tersebut, dapat dirumuskan permasalahannya, yaitu apakah bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang ada dalam susu sapi segar resisten terhadap antibiotik ?

## **C. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui resistensi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang ada dalam susu sapi segar terhadap antibiotik.

## **D. Tinjauan Pustaka**

### **1. Susu**

#### **a. Pengertian Air Susu**

Susu adalah hasil pemerahan dari sapi betina atau hewan menyusui lainnya yang dapat diminum atau digunakan sebagai bahan makanan sehat, tidak dikurangi komponennya dan tidak ditambah dengan bahan-bahan lainnya (Hadiwiyoto, 1994).

Susu merupakan sekresi normal kelenjar mammae ambing mamalia atau cairan yang diperoleh dari pemerahan ambing sapi sehat tanpa dikurangi atau ditambah sesuatu. Pengertian susu ditinjau dari segi kimia adalah suatu emulsi lemak di dalam larutan susu dari gula dan garam-garam mineral dengan protein dalam keadaan koloid (Nurliyani dkk, 2008).

Menurut Sediaoetama (1996) susu merupakan cairan yang dikeluarkan oleh kelenjar susu (mammary) dari binatang maupun buah dada ibu yang dikenal dengan ASI. Selain itu adapula susu hewan pengganti ASI (PASI) yang umumnya adalah air susu dari berbagai macam binatang ternak, misal dari sapi, unta, kerbau, domba dan kuda.

#### **b. Komposisi Air Susu**

Komposisi yang terkandung dalam air susu adalah :

##### 1) Protein

Protein terdiri dari kasein, laktoglobulin dan laktaalbumin. Kasein sendiri berupa protein yang jumlahnya banyak dibanding laktoglobulin dan laktaalbumin.

##### 2) Lemak susu

Lemak susu merupakan komponen susu yang penting, lemak memberikan energi paling besar dibanding energi yang diberikan oleh protein dan karbohidrat. Dalam susu lemak terdapat emulsi atau globula dan dalam satu gram lemak terdapat  $\pm 9$  kalori.

##### 3) Hidrat arang

Hidrat arang banyak terdapat dalam susu dalam bentuk laktosa (gula disakarida) yang mempunyai rasa manis seperenam rasa manis gula tebu.

4) Vitamin

Dalam susu terkandung vitamin yang larut lemak, seperti vitamin A, D, E, dan vitamin K. Selain itu juga mengandung vitamin yang larut air seperti vitamin B kompleks.

5) Garam mineral

Mineral yang terkandung dalam susu antara lain garam kalsium, pospat, kalium dan mineral yang jumlahnya paling banyak dalam susu adalah klorin.

6) Enzim

Enzim merupakan katalisator biologik yang mempercepat reaksi kimawi. Enzim yang terkandung dalam susu yaitu, enzim lipase, protease, peroksidase, laktase dan dehidrogenase.

7) Air

Air merupakan komponen yang paling banyak yang terdapat dalam susu, jumlahnya sekitar 64,89 %.

(Hadiwiyoto,1994)

## 2. Bakteri

Bakteri terdapat secara luas di lingkungan alam yang berhubungan dengan hewan, tumbuh-tumbuhan, udara, air dan tanah. Pada kenyataanya sangat sedikit sekali lingkungan yang bersih dari bakteri. Bakteri adalah mikroorganisme bersel tunggal tidak terlihat oleh mata, berukuran antara 0,5 – 10  $\mu\text{m}$  dan lebar 0,5 - 2,5  $\mu\text{m}$  tergantung pada jenisnya. Terdapat

beribu jenis bakteri, tapi hanya beberapa jenis bakteri yang ditemukan, di antaranya berbentuk bulat, batang, spiral, koma atau vibrios (Buckel dkk., 1987).

Bentuk dan ukuran bakteri ada beberapa macam, antara lain :

- a. Bentuk basil : lebar 0,3 - 1 $\mu$ m, panjang 1,5 – 4  $\mu$ m
- b. Bentuk coccus : ukuran tengahnya rata-rata 1  $\mu$ m
- c. Bentuk spiral : lebar 0,5 - 1  $\mu$ m, panjang 2- 5  $\mu$ m, kadang sampai 10  $\mu$ m
- d. Bentuk vibrio : lebar 0,5  $\mu$ m, panjang sampai 3  $\mu$ m
- e. Bentuk spirocheta : lebar 0,2 - 0,7  $\mu$ m, panjang 5 - 10  $\mu$ m

(Adam, 1995)

Sel bakteri terdiri dari membran, bahan inti (tidak memiliki inti sel yang tidak jelas) dan sitoplasma. Sel dibungkus oleh dinding sel, pada beberapa jenis bakteri dinding sel dikelilingi oleh kapsula atau lapisan lendir. Kapsul berisi campuran polisakarida dan polipeptida. Bakteri memperbanyak diri dengan cara pembelahan secara biner. Inti sel membelah atau terbagi menjadi dua bagian yang terpisah yang kemudian menghasilkan dua buah sel anakan dengan ukuran yang sama (Gaman dan Sherrington, 1994). Pertumbuhan bakteri dipengaruhi faktor lingkungan seperti, suhu atau temperatur, O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, pH, nutrient dan cahaya (Suendra dkk, 1991).

Bakteri memiliki flagella yang tumbuh dalam membran sel, berupa struktur yang menyerupai benang panjang, berbentuk seperti cambuk.

Flagella ini merupakan alat gerak bakteri yang bergerak dengan cara mendorong bakteri dalam cairan, misalnya air (Gaman dan Sherrington, 1994).

Bakteri yang sering terdapat dalam susu sapi meliputi *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Bacillus* serta *E. coli* (Volk dan Wheeler, 1993). Menurut Benson (2002), jumlah bakteri dalam air susu dapat digunakan sebagai indikator terhadap kualitas susu. Selain itu, jenis bakteri seperti *E. coli*, *Enterobacteriaceae* serta *Streptobacillus* telah lama dirumuskan sebagai mikroorganisme indikator mutu (Setyawan dan Yatri, 1987). Bakteri yang mewakili kategori atau kelompok Gram negatif dalam penelitian ini adalah *E. coli* sedangkan yang mewakili bakteri Gram positif adalah bakteri *Staphylococcus aureus*. Bakteri *E. coli* dan *Staphylococcus aureus* sering ditemukan di dalam susu, untuk itu kedua bakteri tersebut diuji dalam penelitian ini.

#### **a. *Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus* merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat biasanya tersusun dalam bentuk menggerombol yang tidak teratur seperti anggur. *Staphylococcus* bertambah dengan cepat pada beberapa tipe media dengan aktif melakukan metabolisme, melakukan fermentasi karbohidrat dan menghasilkan bermacam-macam pigmen dari warna putih hingga kuning gelap. *Staphylococcus* cepat menjadi resisten terhadap beberapa antimikroba (Jawetz, *et al.*, 2001).

Klasifikasi	<i>Staphylococcus aureus</i> :	
Kingdom	:	Protozoa
Divisio	:	Schyzomycetes
Class	:	Schyzomycetes
Ordo	:	Eubacterialos
Family	:	Micrococcaceae
Genus	:	Staphylococcus
Species	:	<i>Staphylococcus aureus</i> (Salle, 1961)

*Staphylococcus* tumbuh dengan baik pada berbagai media bakteriologi di bawah suasana aerobik atau mikroaerofilik. Tumbuh dengan cepat pada temperatur 20 - 35°C. Koloni pada media padat berbentuk bulat, lambat dan mengkilat (Jawetz, *et al.*, 2001).

*Staphylococcus aureus* mempunyai 4 karakteristik khusus, yaitu faktor virulensi yang menyebabkan penyakit berat pada *normal hast*, faktor differensiasi yang menyebabkan penyakit yang berbeda pada sisi atau tempat berbeda, faktor persisten bakteri pada lingkungan dan manusia yang membawa gejala karier, dan faktor resistensi terhadap berbagai antibiotik yang sebelumnya masih efektif (Spicer, 2000). *Staphylococcus aureus* menghasilkan katalase yang mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen (Jawetz, *et al.*, 2001).

***b. Escherichia coli***

Organisme ini tersebar luas di alam biasanya lazim terdapat dalam sel pencernaan manusia dan hewan. Dalam Merchant dan Parker (1961) disebutkan spesies *E. coli* tidak dapat mengurangi asam sitrat dan garam asam sitrat sebagai sumber karbon tunggal dan tidak menghasilkan pigmen, tetapi kadang-kadang menghasilkan pigmen berwarna kuning.

Klasifikasi *Escherichia coli* :

Divisio	:	Schizomycota
Kelas	:	Schizomycetec
Ordo	:	Eubacteriaceae
Genus	:	Escherichia
Species	:	<i>Escherichia coli</i> (Salle, 1961)

*E. coli* tersebar diseluruh dunia dan ditularkan bersama air atau makanan yang terkontaminasi oleh feses. *Escherichia coli* berbentuk batang, tebal 0,5µm; panjang antara 1,0 - 3,0 µm; bervariasi dari bentuk koloid sampai berbentuk seperti filamen yang panjang; tidak berbentuk spora; motil dan filamen perithin beberapa galur tidak memiliki flagella; bersifat Gram negatif (Merchant dan Parker, 1961).

*E. coli* bersifat aerob atau kualitatif anaerob, dapat tumbuh pada media buatan. Beberapa sifat *E. coli* antara lain pertumbuhan optimum pada suhu 37°C, dapat tumbuh pada suhu 15°C - 45°C,

tumbuh baik pada pH 7,0 tapi tumbuh juga pada pH yang lebih tinggi (Merchant dan Parker, 1961).

Koloni terlihat basah, mengkilat, tidak bening, bulat dan dengan tepi yang terlihat halus dan rata. Koloni muda terlihat granuler halus dan makin tua menjadi granuler kasar. *Escherichia coli* menghasilkan asam dan gas dari glukosa, laktosa, fruktosa, maltosa, arabinosa, xylosa, rhamnosa dan manitol; dapat atau tidak memfermentasi sukrosa, rafinosa, salisin, eskulin, dulsitol dan gliserol; bervariasi dalam memfermentasi sakrosa dan salisin, pektin dan adonitol jarang difermentasikan; dekstrin, pati dan glikogen dan inositol tidak pernah difermentasikan (Merchant dan Parker, 1961).

*Escherichia coli* menghasilkan katalase, tidak mencairkan gelatin, membentuk indol, mereduksi nitrat, mengoksidasi dan mengasamkan air susu tanpa peptonisasi, mengoksidasi kentang sehingga berwarna coklat gelap, tidak menghasilkan gas H<sub>2</sub>S (Merchant dan Parker, 1961).

### **3. Resistensi Bakteri**

Resistensi adalah suatu keadaan karena pengaruh obat antiinfeksi terhadap kuman berkurang khasiatnya atau kuman tersebut tidak sensitif oleh perlakuan obat anti infeksi. Resistensi merupakan kegagalan pengobatan dengan suatu antibiotika dengan dosis terapi (Gran, 1983).

Franklin dan Snow (1985) serta Brander *et al.*, (1991) mengatakan bahwa mekanisme resistensi bakteri terhadap antibiotik terjadi dengan cara penginaktifan obat, perubahan target atau sirkulasi enzim, berkurangnya akumulasi obat oleh adanya sel resisten, variasi jalur metabolisme.

Menurut Gran (1983) dan Brander *et al.*, (1991), ada 3 macam tipe resistensi, yaitu non genetik, genetik dan silang. Resistensi non genetik terdapat pada mikroba dalam keadaan inaktif atau istirahat, resistensi genetik merupakan mutasi spontan karena terjadinya tanpa dipengaruhi ada atau tidaknya antimikroba tersebut.

Penghancuran antibiotik secara enzimatik oleh enzim yang dihasilkan bakteri seperti  $\beta$ -laktamase.  $\beta$ -laktamase akan memecah cincin  $\beta$ -laktam dari penisilin dan derivatnya demikian juga aminoglukosa menjadi terasetilasi atau terfosforilasi oleh asetilase atau fosforilase. Dinding sel bakteri Gram negatif yang lebih kompleks membuat bakteri kurang sensitif terhadap antibiotik  $\beta$ -laktam. Reseptor tempat agen antimikroba bereaksi dapat berubah baik afinitas reseptor terhadap antimikroba maupun respon reseptor yang dapat menaikkan aktivitas sehingga dapat mengatasi obat tersebut. Berkurangnya akumulasi obat oleh adanya sel resisten terjadi dengan adanya penurunan permeabilitas membran sel terhadap antibiotik dan variasi jalur metabolisme tersebut oleh antimikroba. Obat yang dapat menghambat pertumbuhan antagonis kompetitif metabolisme normal, dapat menghasilkan metabolik yang berlebihan. Akibatnya obat tersebut tidak efektif lagi bagi bakteri (Setyabudy dan Gan, 1995).

Resistensi sel mikroba ialah suatu sifat tidak terganggunya kehidupan sel mikroba. Sifat ini merupakan suatu mekanisme alamiah untuk bertahan hidup (Setyabudy dan Gan, 1995).

Beberapa bakteri mempunyai kemampuan alami untuk kebal atau resisten terhadap efek pengobatan, misal dengan antibiotik, meskipun tidak berinteraksi secara langsung. Hal ini dapat terjadi karena bakteri mempunyai enzim yang dapat merusak obat (Brander *et al.*, 1991).

Bakteri yang resistensi tidak peka lagi terhadap antibiotik atau senyawa anti mikroba (Brander *et al.*, 1991). Resistensi sel mikroba atau sifat tidak tergantung kehidupan sel mikroba oleh anti mikroba. Sifat ini merupakan suatu mekanisme alamiah untuk bertahan hidup (Gran, 1983).

Sebab-sebab terjadinya resistensi dapat dibagi menjadi :

a. Non Genetik

Penggunaan antimikroba yang tidak sesuai aturan menyebabkan tidak seluruh mikroba dapat terbunuh. Beberapa mikroba yang masih bertahan hidup kemungkinan akan mengalami resistensi saat digunakan antimikroba yang sama. Proses ini dinamakan dengan seleksi (Jawetz *et al.*, 2001).

b. Genetik

Terjadinya resistensi kuman terhadap antibiotika umumnya terjadi karena perubahan genetik. Perubahan genetik bisa terjadi secara kromosomal maupun ekstra kromosomal, dan perubahan genetik tersebut dapat ditransfer atau dipindahkan dari satu spesies

kuman kepada spesies kuman lain melalui berbagai mekanisme (Anonim, 1994).

#### 1) Resistensi kromosomal

Resistensi kuman terhadap antibiotik yang mempunyai sebab genetik kromosomal terjadi misalnya karena terjadinya mutasi spontan pada lokus DNA yang mengontrol *susceptibility* terhadap obat tertentu (Anonim, 1994).

#### 2) Resistensi ekstrakromosomal

Bakteri mengandung unsur-unsur genetik ekstrakromosomal yang dinamakan plasmid (Sudarmono, 1993). Faktor R adalah kelompok plasmid yang membawa gen resistensi terhadap satu atau beberapa obat antimikrobia dan logam berat. Gen plasmid untuk resistensi antimikrobia mengontrol pembentukan enzim yang mampu merusak antimikrobia (Jawetz *et al.*, 2001).

#### 3) Resistensi silang

Suatu populasi kuman yang resisten terhadap suatu obat tertentu dapat pula resisten terhadap obat yang lain yang dapat mempunyai mekanisme kerja obat yang mirip satu sama lain. Hal ini misalnya terjadi pada obat-obatan yang komposisi kimianya hampir sama misalnya antara polimiksin B dengan kolistin, eritromisin dengan oleandomisin, meskipun demikian adakalanya terjadi pula resistensi silang pada dua obat yang berlainan struktur

kimianya sama sekali, misalnya eritromisin dengan linkomisin (Anonim, 1994).

Mekanisme resistensi bakteri terhadap antibiotik diantaranya melalui mekanisme mikroorganisme menghasilkan enzim dan merusak obat yang aktif, mikroorganisme merubah permeabilitasnya terhadap obat, mikroorganisme mengubah struktur target untuk obat, mikroorganisme mengembangkan jalur metabolisme baru menghindari jalur yang biasa dihambat oleh obat, dan mikroorganisme mengembangkan enzim baru yang masih dapat melakukan fungsi metaboliknya tapi sedikit dipengaruhi oleh obat (Jawetz, *et al.*, 2001).

Masalah resistensi bakteri terhadap antibiotik telah dapat dipecahkan dengan ditemukan antibiotik golongan baru, seperti golongan aminoglikosida, glikopeptida, dan makrolida, juga obat modifikasi kimiawi dari antibiotik yang telah ada. Namun, tak ada jaminan bahwa pengembangan antibiotik baru dapat mencegah kemampuan bakteri menjadi resisten.

#### **4. Antibiotik**

Antibiotik ialah suatu bahan kimia yang dikeluarkan oleh jasad renik atau hasil sintesis atau semisintesis yang mempunyai struktur yang sama dan zat ini dapat merintangikan atau memusnahkan jasad renik yang lainnya. Antibiotik dibagi menjadi dua golongan berdasar kegiatannya,

yaitu antibiotik yang memiliki kegiatan luas (*Broad Spectrum*), yaitu antibiotik yang dapat mematikan Gram positif dan bakteri Gram negatif. Antibiotik jenis ini diharapkan dapat mematikan sebagian besar bakteri, termasuk virus tertentu dan protozoa. Tetrasiklin dan derivatnya, kloramfenikol serta Ampisillin merupakan golongan *broad spectrum*.

Golongan kedua adalah antibiotik yang memiliki kegiatan sempit (*narrow spectrum*). Antibiotik golongan ini hanya aktif terhadap beberapa jenis bakteri. penicillin, streptomisin, neomisin, basitrasina. Polimisin B merupakan obat golongan *narrow spectrum* (Widjajanti, 1989).

Antibiotik pada mulanya berupa zat yang dibentuk oleh mikroorganisme yang dapat menghambat atau membunuh pertumbuhan mikroorganisme lain. Sejak ditemukan penisilin sampai saat ini sudah beribu antibiotik yang ditemukan dan hanya sebagian kecil yang dapat dipakai untuk terapeutik. Mekanisme kerja dari antibiotik ini antara lain menghambat biosintesis dalam dinding sel (misal penisilin), menaikkan permeabilitas membran sitoplasma (misal sefalosporin), mengganggu sintesis protein normal bakteri (tetrasiklin, aminoglikosida). Bakterisid merupakan antibiotika yang mempengaruhi pembentukan dinding sel atau permeabilitas membran, sedang bakteristatik adalah antibiotik yang bekerja pada sintesa protein (Mutschler, 1991).

Berdasarkan sifat toksisitas selektif, antibiotik dapat bersifat bakteristatik (menghambat pertumbuhan mikroba lain). Antimikroba

tertentu dapat meningkatkan aktivitasnya dari bakteriostatik ditingkatkan melebihi kadar hambat minimal (Gran, 1983).

Menurut Franklin dan Snow (1985), antibiotik dibagi menjadi 5 kelompok berdasar mekanisme kerjanya yaitu:

- 1) Mengganggu metabolisme sel bakteri
- 2) Menghambat sintesis dinding sel mikroba
- 3) Merusak keutuhan membran sel mikroba
- 4) Menghambat sintesis protein mikroba
- 5) Menghambat atau merusak sintesis asam nukleat sel mikroba.

Antibiotik digolongkan menjadi beberapa golongan. Penggolongan ini didasarkan pada mekanisme kerjanya dan masa kerja antibiotik. Antibiotik yang mempunyai masa kerja yang lama inilah yang mempunyai waktu paruh yang lebih lama (Mutschler, 1991). Beberapa golongan antibiotik tersebut antara lain :

#### **a. Ampisilin**

Ampisilin adalah antibiotik yang termasuk golongan penisilin. Penisilin merupakan salah satu bakterisid yang mekanisme kerjanya menghambat pembentukan dinding dan permeabilitas membran sel. Penggunaan penisilin tergantung pada berat ringannya penyakit dan preparat yang digunakan. Daerah kerjanya yaitu mencakup kokus Gram positif serta *Staphylococcus*, *Streptococcus* sedang basil Gram negatif yakni, basil *Clostridium*, basil anthrak (Mutschler, 1991).

Ampisilin merupakan penisilin semisintetik yang stabil terhadap asam atau amidase tetapi tidak tahan terhadap enzim  $\beta$ -laktamase (Goodman dan Gilman, 1965). Ampisilin mempunyai keaktifan melawan bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif dan merupakan antibiotika spektrum luas (Brander *et al.*, 1991). Ampisilin merupakan prototip golongan aminopenisilin berspektrum luas, tetapi aktivitasnya terhadap Gram positif kurang daripada penisilin G. Semua penisilin golongan ini dirusak oleh  $\beta$ -laktamase yang diproduksi kuman Gram positif maupun Gram negatif. Bakteri *E. coli* dan *Proteus mirabilis* merupakan kuman Gram negatif yang sensitif, tetapi dewasa ini telah dilaporkan adanya kuman yang resisten diantara kuman yang semula sangat sensitif tersebut. Umumnya *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Asinobakter*, dan *proteus indol* positif resisten terhadap ampisilin dan aminopenisilin lainnya (Istiantoro, 1995).

Ampisilin stabil terhadap asam karena itu dapat digunakan secara oral. Absorpsi relatif lambat, laju absorpsi sekitar 50%. Kadar darah maksimum dicapai setelah kira-kira dua jam. Waktu paruh plasma sekitar satu sampai dua jam, kurang lebih dua kali lebih lama daripada benzilpenisilin. Ampisilin terutama digunakan pada infeksi saluran nafas, saluran urin dan empedu, pada otitis media, pertusis dan septiliemia yang peka terhadap ampisilin (Mutschler, 1991).

## **b. Tetrasiklin**

Tetrasiklin mempunyai spektrum antibakteri yang luas, efektif terhadap kuman Gram positif maupun Gram negatif, mencakup spektrum penisilin, streptomisin dan kloramfenikol. Selain itu juga dapat menghambat pertumbuhan riketsia, amuba, mikroplasma dan klamidia. Tetrasiklin termasuk antibiotik yang terutama bersifat bakteriostatik. Mekanisme kerja dari tetrasiklin yaitu dengan cara menghambat sintesis protein ribosom sub unit 70s dan ribosom sub unit 80s. Efek tetrasiklin mempengaruhi tRNA-ribosom terlihat dengan terhambatnya ikatan aminosial-tRNA pada reseptor penerima pada ribosom. Tetrasiklin tidak langsung menghambat penyusunan peptida atau tahap translokasi, tetapi menghambat terminasi rantai peptida pada kodon terminasi. Mekanisme penembusan tetrasiklin untuk masuk kedalam sel bakteri, kemungkinan sama dengan cara menghambat sintesis protein ditambah modifikasi struktur guna penghambatan sintesis protein. Bakteri yang sensitif terhadap tetrasiklin antara lain ;  *$\beta$ -hemolitik Streptolocci, non hemolytic Streptolocci, Clostridia, Brucella* dan *Haemophylus*. Sedangkan untuk *Escherichia coli, pasteurella, Salmonella* dan *Corynebacterium* bersifat agak atau cukup sensitif terhadap tetrasiklin (Gran, 1983; Nicholas dan Mc Donald, 1988).

Tetrasiklin merupakan basa yang sukar larut dalam air, tetapi bentuk garam natrium atau garam HCl-nya mudah larut. Dalam

keadaan kering, bentuk basa dan garam HCl tetrasiklin bersifat relatif stabil. Dalam larutan, kebanyakan tetrasiklin sangat labil jadi berkurang potensinya (Setyabudy dan Gan, 1995).

Golongan tetrasiklin termasuk antibiotik yang terutama bersifat bakteriostatik dan bekerja dengan jalan menghambat sintesis protein kuman. Tetrasiklin memperlihatkan spektrum antibakteri luas meliputi kuman Gram positif dan Gram negatif, aerobik dan anerobik. Efektivitasnya tinggi terhadap infeksi batang Gram negatif seperti *Brucella*, *Franciella tulanensis*, *Pseudomonas mullei*, *Pseudomonas pseudo mullei*, *Compylobacter fetus*, *Haemophylusducreyi* dan *Calymmatobacterium granulomastis*, *Yersinia pestis*, *Pasteurellamullocida*, *Spirillum minor*, *Leptotricjia buccatis*, *Bordeteela pertusis*, *Acinetobacter dan fusobacterium*. Strain tertentu *H. Influenza* mungkin sensitif, tetapi *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus* Indol positif dan *Pseudomonas* umumnya resisten. Beberapa spesies kuman, terutama *Streptokokus tata lemolitikus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Str. Pneumoniae*, *N. Gonnorrhoeae*, *Bacteoides*, *Shigella* dan *Staphylococcus aureus* makin meningkat resistensinya terhadap tetrasiklin. Resistensi terhadap satu jenis tetrasiklin biasanya disertai resistensi terhadap semua tetrasiklin lainnya, kecuali minosiklin pada resistensi *Staphylococcus aureus* dan doksisisiklin pada resistensi *β. Fragilis* (Setyabudy dan Gan, 1995).

### c. Gentamisin

Gentamisin merupakan antibiotika golongan aminoglikosida. Mekanisme kerja gentamisin adalah dengan mengikat secara inersibel sub unit ribosom 30s dari kuman, yaitu dengan menghambat sintesis protein dan menyebabkan kesalahan translasi kode genetik. Gentamisin bersifat bakterisidal. Gentamisin efektif terhadap berbagai strain kuman Gram negatif termasuk *Spesies Brucella, alymmatobaterium, ompulobacter, Citrobacter, Escherichia, Enterobacter, Klebsiella, Proteus, Providencia, Pseudomonas, Serratia, Vibrio dan Yersinia* (Hardjasaputra, 2002). Terhadap mikroorganisme Gram positif, gentamisin juga efektif terutama terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Listeria monocytogenes* serta beberapa strain *Staphylococcus epidermis*, tetapi gentamisin tidak efektif terhadap *enterococcus* dan *streptococcus* (Hardjasaputra, 2002).

### d. Sefalosporin

Aktivitas antibiotik ini bersifat bakterisid dengan spektrum kerja luas terhadap banyak kuman Gram positif dan Gram negatif, termasuk *E. coli, Klebsiella* dan *Poteus*. Terhadap *Pseudomonas* dan *Bacterosides* hanya derivat-derivat baru yang berdaya, sedangkan *Streptococcus fecalis* adalah resisten terhadap semua sefalosporin. Mekanisme kerjanya berdasar perintangian sintesis dinding sel (Tjay dan Rahardja, 2002).

Berdasar khasiat antimikrobanya dan resistensinya terhadap  $\beta$ -laktamase dapat digolongkan dalam dua golongan. Golongan pertama aktif terhadap cocci Gram positif, tidak berdaya pada *Pseudomonas*. Resistensi terhadap  $\beta$ -laktamase bervariasi dan agak ringan. Golongan kedua, lebih aktif terhadap *E. coli*, *Klebsiella* dan *Proteus mirabilis*. Juga berdaya pada gonococci termasuk yang resisten untuk amoksisillin (lebih kuat tahan laktamase). Khasiatnya terhadap bakteri Gram negatif, lebih rendah, terutama *sefuroksim* (Tjay dan Rahardja, 2002).

Obat ini berguna untuk mengobati penyakit karena gangguan saluran kemih dan saluran nafas, pada *gonorre* (kencing nanah) terutama *sefuroksim*, pada infeksi ginekologi oleh bakteri anaerob (*sefoksitin*) dan infeksi akibat *Pseudomonas* pada umumnya (Tjay dan Rahardja, 2002).

#### **e. Kloramfenikol**

Kloramfenikol berupa serbuk hablur halus berbentuk jarum atau lempeng memanjang; putih hingga putih kelabu atau putih kekuningan. Kloramfenikol sukar larut pada air tapi mudah larut pada etanol, propilen glikol, aseton dan etil asetat (Anonim, 1995).

Kloramfenikol adalah zat kimia yang mula-mula dihasilkan oleh biakan *Streptomyces venezuelae* sekarang telah dapat dihasilkan secara sintetik. Kristal kloramfenikol merupakan senyawa stabil yang dengan cepat diserap oleh dinding saluran

pencernaan dan disebarkan ke jaringan serta cairan tubuh, termasuk susunan saraf pusat dan cairan cerebrospinal; obat ini dapat menembus ke dalam sel dengan baik, sebagian besar obat ini dinonaktifkan di dalam hati dengan cara konjugasi dengan asam glukuronat atau direduksi menjadi arilamin yang tidak aktif (Jawetz *et al.*, 2001).

Kloramfenikol merupakan penghambat sintesis protein yang kuat pada mikroorganisme. Obat ini menghalangi pelekatan asam amino pada rantai peptide yang baru timbul pada unit 50S pada ribosom, dengan mengganggu daya kerja peptidil transferase. Kloramfenikol pada dasarnya bersifat bakteriostatik; spectrum; dosis serta kadarnya dalam darah mirip dengan tetrasiklin. Resistensi kloramfenikol merupakan akibat dari perusakan obat oleh suatu enzim yang dikendalikan oleh plasmid (Jawetz *et al.*, 2001).

Kloramfenikol merupakan obat pilihan pada infeksi *Salmonella* simptomatik, misal demam tifoid; infeksi *H. influenza* oleh strain penghasil  $\beta$ -laktamase; infeksi meningokokus pada penderita yang hipersensitif terhadap penisilin; infeksi anaerob atau gabungan pada sistem saraf pusat; infeksi riketsia berat; pengganti tertrasiklin (Jawetz *et al.*, 2001).

## 5. Uji Sensitivitas Terhadap Antibiotik

Keterbatasan antibiotik untuk menimbulkan efek pada hospes, mendorong untuk dilakukan uji sensitivitas dari galur bakteri yang di isolasi dari hewan sakit untuk menentukan jenis antibiotik yang tepat. Uji ini dikembangkan untuk menemukan kemampuan menghambat beberapa galur bakteri dengan satu jenis antibiotik (Brander *et al.*, 1991).

Ada dua macam metode untuk uji sensitivitas yaitu metode dilusi dan metode difusi.

### a. Dilusi

Pada prinsipnya antibiotik diencerkan hingga diperoleh beberapa konsentrasi.

Metode yang dipakai ada dua macam, yaitu metode dilusi kaldu disebut juga dengan dilusi cair dan metode dilusi agar atau dilusi padat. Pada dilusi cair, masing-masing konsentrasi obat ditambah suspensi kuman atau bakteri dalam media. Sedangkan dalam dilusi padat, tiap konsentrasi obat dicampur dengan media agar, lalu ditanami bakteri. Pertumbuhan bakteri ditandai oleh adanya kekeruhan setelah 16-20 jam diinkubasi. Konsentrasi terendah yang menghambat pertumbuhan bakteri ditunjukkan dengan tidak adanya kekeruhan, dan disebut dengan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM). Masing-masing konsentrasi antibiotik yang menunjukkan hambatan pertumbuhan ditanam pada agar padat media pertumbuhan bakteri dan diinkubasi. Konsentrasi terendah

dari antibiotik yang membunuh 99,9% inokulum bakteri disebut Konsentrasi Bakterisid Minimal (Brander *et al.*, 1991).

### **b. Difusi**

Media difusi menggunakan kertas disk yang berisi antibiotik dan telah diketahui konsentrasinya.

Pada metode difusi, media yang dipakai adalah agar Mueller Hinton. Ada beberapa cara pada metode difusi ini, yaitu :

#### 1) Cara Kirby-Bauer

Cara Kirby-Bauer merupakan suatu metode uji sensitivitas bakteri yang dilakukan dengan membuat suspensi bakteri pada media *Brain Heart Infusion* (BHI) cair dari koloni pertumbuhan kuman 24 jam, selanjutnya disuspensikan dalam 0,5 ml BHI cair (diinkubasi 4-8 jam pada suhu 37°C). Hasil inkubasi bakteri diencerkan sampai sesuai dengan standar konsentrasi kuman  $10^8$  CFU/ml (CFU : *Coloni Forming Unit*). Suspensi bakteri diuji sensitivitas dengan meratakan suspensi bakteri tersebut pada permukaan media agar. Disk antibiotik diletakkan di atas media tersebut dan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 19-24 jam. Dibaca hasilnya :

##### *a) Zona radical*

Suatu daerah disekitar disk dimana sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri. Potensi antibiotik diukur dengan mengukur diameter dari zona radical.

*b) Zona iradical*

Suatu daerah disekitar disk yang menunjukkan pertumbuhan bakteri dihambat oleh antibiotik tersebut, tapi tidak dimatikan. Disini akan terlihat adanya pertumbuhan yang kurang subur atau lebih jarang dibanding dengan daerah diluar pengaruh antibiotik tersebut (Jawetz *et al.*, 2001).

2) Cara sumuran

Suspensi bakteri  $10^8$ CFU/ml diratakan pada media agar, kemudian agar tersebut dibuat sumuran dengan garis tengah tertentu menurut kebutuhan. Larutan antibiotik yang digunakan diteteskan kedalam sumuran. Diinkubasi pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 18-24 jam. Dibaca hasilnya, seperti pada cara Kirby-Bauer (Jawetz *et al.*, 2001).

3) Cara *Pour Plate*

Setelah dibuat suspensi kuman dengan larutan BHI sampai konsentrasi standar ( $10^8$ CFU/ml), lalu diambil satu mata ose dan dimasukkan kedalam 4ml agar base 1,5% dengan temperatur  $50^\circ\text{C}$ . Suspensi kuman tersebut dibuat homogen dan dituang pada media agar Mueller Hinton. Setelah beku, kemudian dipasang disk antibiotik (diinkubasi 15-20 jam pada suhu  $37^\circ\text{C}$ ) dibaca dan

disesuaikan dengan standar masing-masing antibiotik (Jawetz *et al.*, 2001).

## 6. Media

Media adalah kumpulan zat-zat organik yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri dengan syarat-syarat tertentu, oleh karena itu media pembiakan harus mengandung cukup nutrisi untuk pertumbuhan bakteri (Tambayong, 2000). Selain suhu dan pH yang harus sesuai (Karsinah dkk,1994) juga perlu diperhatikan mengenai tekanan osmose dan sterilitas (Anonim, 2000).

Media dibedakan atas bentuk, susunan, dan sifat media:

### a. Menurut bentuknya dikenal adanya:

1. Media padat, jika didalam media ditambahkan antara 12-15 gram tepung agar-agar/ 1000 ml media.
2. Media cair, jika kedalam media tidak ditambahkan zat pematat.
3. Semipadat atau semi cair, jika penambahan zat pematat hanya 50% atau kurang dari seharusnya.

### b. Menurut susunannya:

1. Media alami, yaitu media yang disusun oleh bahan-bahan alami.
2. Media sintesis, yaitu media yang disusun oleh senyawa kimia.
3. Media semi sintesis, yaitu media yang tersusun oleh bahan-bahan alami dan bahan–bahan semi sintesis.

### c. Menurut sifatnya:

1. Media umum, media tersebut dapat digunakan untuk pertumbuhan dan perkembangan satu atau lebih kelompok mikroba.
2. Media kaya, untuk mendapatkan pertumbuhan jenis bakteri tertentu yang tidak tumbuh pada media sederhana.
3. Media selektif, yaitu media yang hanya ditumbuhi nol atau satu jenis mikroba tertentu, tapi akan menghambat atau mematikan untuk jenis-jenis lain yang tidak diharapkan. Misalnya media MSA (*Manitol Salt Agar*).
4. Media diferensial, yaitu media yang digunakan untuk pembentukan mikroba tertentu serta sifat-sifatnya. Misalnya media Nutrien Agar, media gula-gula.
5. Media eksklusif, dibuat sedemikian rupa sehingga hanya bakteri tertentu yang dapat hidup. Misalnya media BCSAB (*Bacillus Cereus Selective Agar Base*).
6. Media penguji, yaitu media yang digunakan untuk pengujian senyawa atau benda tertentu dengan bantuan mikroba.
7. Media perhitungan, yaitu media yang digunakan untuk menghitung jumlah mikroba pada suatu bahan. Misalnya media PCA (*Plate Count Agar*), media PDA (*Potatoes Dextrose Agar*) (Surinaria, 1986).

## 7. Sterilisasi

Sterilisasi adalah suatu tindakan untuk membebaskan alat-alat atau media dari jasad renik dan segala macam bentuk kehidupan terutama mikroba. Seperti diketahui, penyelidikan suatu spesies mikroba selalu didasarkan pada penyelidikan suatu biakan murni spesifik. Oleh karena itu, untuk dapat memisahkan kegiatan mikroba-mikroba satu dengan yang lainnya, untuk memelihara suatu mikroba secara biakan murni, perlu digunakan alat dan media yang murni. Cara sterilisasi yang umum digunakan yaitu pemanasan, filtrasi, radiasi, dan sterilisasi kimia (Jawetz *et al.*, 2001).