

The Sensitivity Level Of Gentamicine, Cholramphenicol and Penicillin Inhibiting The Growth Of *Pseudomonas Aeruginosa* Bacteria Isolate From Aceh Bull Prepunce

*Masda Admi^{1,5}, Annisa Anwar Sitorus², Rinidar³, Amalia Sutriana³, Rosmaidar³, Sugito⁴

¹Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

²Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

³Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

⁴Laboratorium Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

⁵Center for Tropical Veterinary Studies-One Health Collaboration Center, Universitas Syiah Kuala

*Alamat Korespondensi: admi.masda@unsyiah.ac.id

ABSTRACT

This study aims to determine the sensitivity level of gentamicin, chloramphenicol and penicillin antibiotics to inhibit the bacterial growth of *P. aeruginosa* taken from preputium isolate of Aceh cattle. This Stock of *Pseudomonas aeruginosa* isolate from Microbiology Laboratory of FKH USK, re-identified its purity through: indole test, methyl red test, sugar test and as well as on Nutrient Broth (NB) media; incubated at 37°C for 24 hours; observed the turbidity level of 0.5 Mc Farland solution. Then, the antibiotic sensitivity test was carried out using the method of Mueller Hinton Agar (MHA). The observations were made by measure the inhibition zone using the calipers in millimeters (mm) against antibiotics. The results of the observation of the inhibition zone on the gentamicin antibiotic was averaged of 25.5 mm, 23.7 mm chloramphenicol, and 12.1 mm penicillin. This study concluded that the gentamicin, chloramphenicol, and penicillin antibiotic were still effective against *P. aeruginosa* bacteria with the highest level of sensitivity seen in gentamicin antibiotic.

Keywords: *P. aeruginosa*, biochemical test, gentamicin antibiotic, chloramphenicol, penicillin

PENDAHULUAN

Organ reproduksi sapi jantan terdiri dari alat reproduksi utama yaitu gonad dan testis, saluran reproduksi yang terdiri dari epididymis, vas deferens, ampula dan urethra. Alat reproduksi luar yaitu penis dan preputium (Lestari dan Ismudiono, 2014). Preputium berupa kulit yang mempunyai banyak lipatan berbulu dan merupakan penutup glans penis yang menyimpan sisa-sisa sekresi smegma. Adanya smegma ini diduga sebagai media pertumbuhan bakteri, yang dapat mencemari sperma sehingga menyebabkan menurunnya kualitas sperma, infertil pada hewan, selain itu dapat menyebabkan infeksi saluran kemih, cystitis, kanker, bakteremia, dan mengalami penurunan sistem imun, sehingga bakteri dapat berkembang dan sapi rentan terinfeksi. Salah satu bakteri yang menginfeksi organ

reproduksi jantan adalah *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) yang dapat mengonkontaminasi semen dan menyebabkan penularan melalui organ reproduksi betina pada saat perkawinan alami (Ismaya, 2014; dan Haryati *et al.*, 2017).

Dampak yang ditimbulkan oleh bakteri *P. aeruginosa* terhadap sistem reproduksi meliputi, terjadinya syok sepsis, adanya pus pada preputium, infeksi saluran kemih, infertil pada hewan jantan dan betina, dapat menimbulkan peradangan uterus pada induk sapi atau yang dikenal sebagai penyakit endometritis (Rafika *et al.*, 2020). Secara umum penanganan dalam mengatasi infeksi bakteri *P. aeruginosa* adalah pemberian obat antibiotik golongan Board spectrum seperti gentamisin dan kloramfenikol, golongan Narrow spectrum seperti penisilin. Antibiotik gentamisin pada

umumnya resisten terhadap bakteri *Enterobacter* sp, *Bacillus*, *E. coli*, *S. aureus* dan *Klebsiella* sp. Antibiotik kloramfenikol resisten terhadap bakteri *E. Coli*, *Salmonella* spp, *Citrobacter*, *Streptococcus* dan *Serratia* (Maulida, 2016). Sedangkan antibiotik penisilin resisten terhadap bakteri *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli*, *Bacteroides* sp, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria gonorrhoeae* dan *S. typhi* (Pratiwi, 2017).

Penggunaan antibiotik untuk mengatasi bakteri harus tepat dan rasional agar tidak menimbulkan resistensi terhadap satu atau beberapa jenis antibiotik tertentu *Multi Drug Resistance* (MDR), sehingga dapat menyulitkan proses pengobatan (Utami, 2011). Efektivitas antibiotik dapat diketahui berdasarkan zona hambat yang mengelilingi *disk* cakram dalam media *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang digunakan. Sensitivitas antibiotik dapat diketahui dengan adanya diameter zona hambat yang diukur dengan jangka sorong dalam satuan milimeter (mm) (Harmita dan Radji, 2006).

Berdasarkan latar belakang di atas untuk mengetahui kemampuan antibiotik dalam menghambat pertumbuhan bakteri, maka perlu dilakukan uji tingkat sensitivitas antibiotik gentamisin, kloramfenikol dan penisilin sebagai *drug of choice* untuk menangani infeksi bakteri *P. aeruginosa* pada preputium sapi aceh.

MATERIAL DAN METODE

Metode Penelitian

Penelitian ini adalah eksperimen laboratorium dengan menggunakan bakteri *P. aeruginosa* yang dikoleksi dari preputium sapi aceh, dan disimpan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala Banda Aceh dalam bentuk isolat pada media *Nutrient Agar* (NA) miring, identifikasi kembali dilakukan dengan menyebarkan isolat bakteri ke dalam

Nutrient Broth (NB) dan dilanjutkan dengan pewarnaan Gram. Uji sensitivitas dilakukan dengan menggunakan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang telah ditempelkan *disk* gentamisin, kloramfenikol, dan penisilin.

Reidentifikasi bakteri menggunakan pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram bertujuan untuk mengamati morfologi sel *P. aeruginosa* dan mengetahui kemurnian sel bakteri. Diambil setetes suspensi bakteri dari media NB dicampurkan dengan NaCl fisiologis dan diteteskan pada *object glass*, kemudian dibuat preparat apus setipis mungkin, dikeringkan dan difiksasi di atas lampu spiritus. Preparat apus ditetesi kristal violet selama 2 menit, dicuci pada air mengalir, ditetesi lugol selama 1 menit dan dilunturkan dengan alkohol 95% selama 1 menit. Dicuci dengan akuades dan diberi pewarna kedua menggunakan larutan fuschine selama 2 menit. dilunturkan dengan akuades dan dikeringkan, kemudian diamati morfologi dan warna sel bakteri menggunakan mikroskop (Ferdiaz, 1993).

Uji *in vitro* sensitivitas antibiotik

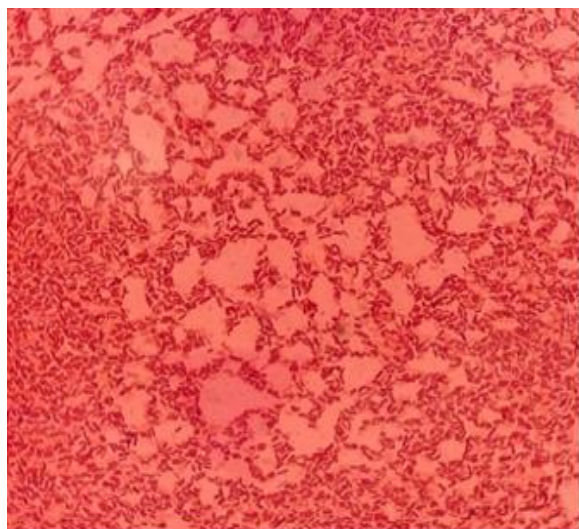
Uji *in vitro* antimikroba dilakukan dengan metode *disk diffusion assay*. Inokulasi bakteri pada agar MHA dilakukan setelah 15 menit penyiapan media MHA. Tahap awal yang dilakukan adalah swab kapas steril dicelupkan ke dalam NB berisi suspensi bakteri *P. aeruginosa*, kemudian swab kapas berisi suspensi bakteri tersebut usap ratakan pada seluruh permukaan MHA. Prosedur ini diulangi sebanyak dua kali dengan pengusapan permukaan media MHA setidaknya 60° kemiringan kapas swab supaya distribusi suspensi bakteri merata pada seluruh permukaan agar. Setiap cakram yang berisi *disk* gentamisin, kloramfenikol, dan penisilin ditempelkan pada permukaan media MHA. Setelah keseluruhan proses selesai, cawan-cawan Petri tersebut

diinkubasikan ke dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37 °C. Hasil inkubasi berupa daerah bening di sekitar cakram menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri yang diinterpretasikan sebagai zona hambat dan diukur menggunakan jangka sorong (Brooks *et al.*, 2013).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Reidentifikasi Bakteri dengan Pewarnaan Gram

Isolat bakteri *P. aeruginosa* berasal dari isolat preputium sapi aceh berbentuk batang dan berwarna merah muda. Hal ini merupakan ciri dari isolat bakteri *P. aeruginosa* yang tersimpan di laboratorium dan tidak terkontaminasi dengan bakteri lainnya. Hasil pewarnaan bakteri *P. aeruginosa* disajikan pada Gambar 1.



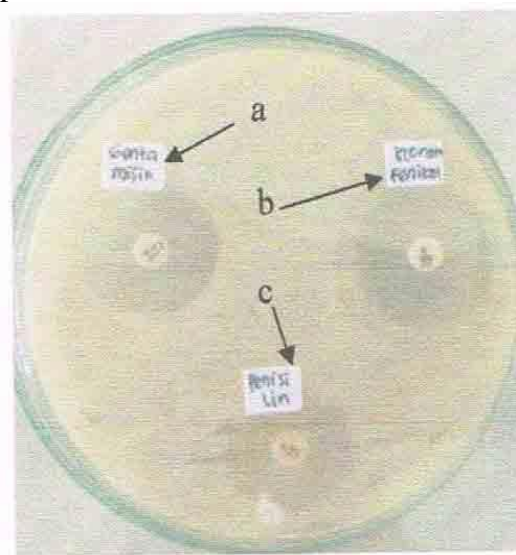
Gambar 1. Bakteri *P. aeruginosa* dengan perbesaran 100x

Bakteri Gram Negatif merupakan bakteri yang tidak dapat mempertahankan zat warna kristal violet pada saat proses

pewarnaan Gram. Sehingga bakteri golongan ini dapat memperlihatkan warna merah muda yang dibentuk oleh zat warna *safranin* pada saat dilakukan pengamatan di bawah mikroskop. Hal ini sesuai dengan pernyataan Rahmadian *et al.*, (2018) bahwa, bakteri Gram Negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis, pada dinding sel dan hanya memiliki ketebalan 10% dari total komposisi dinding sel, sehingga sel bakteri mudah dalam melepas zat warna kristal violet dan dinding sel hanya meresap pada zat warna *safranin* (merah muda).

Uji Sensitivitas Antibakteri pada Media *Mueller Hinton Agar*

Hasil pengamatan dari uji sensitivitas antibiotik pada media MHA (Gambar 2) dengan 3 kali pengulangan menunjukkan perbedaan luas rata-rata zona hambat dari setiap antibiotik yang digunakan. Hasil uji sensitivitas bakteri *P. aeruginosa* disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Zona hambat terhadap antibiotik (a) gentamisin, (b) kloramfenikol, dan (c) penisilin.

Tabel 1. Rata-rata zona hambat dan rentang sensitivitas berbagai antibiotik terhadap bakteri *P. aeruginosa*.

No.	Jenis antibiotik	Rata-rata zona hambat ($\bar{X} \pm$ SD) mm	Referensi zona hambat (CLSI, 2014)	
			S	R
1.	Gentamisin	25,5 ± 1,18	≥20	≤12
2.	Kloramfenikol	23,7 ± 0,63	≥20	≤12
3.	Penisilin	12,1 ± 8,41	≥15	≤12

Keterangan: *S=Sensitif, *R= Resisten

Berdasarkan pengamatan pada Tabel 1. Rata-rata zona hambat antibiotik gentamisin, kloramfenikol dan penisilin secara berurutan menunjukkan zona hambat seluas 25,5 mm, 23,7 mm dan 12,1 mm. Zona hambat gentamisin dan kloramfenikol tergolong masih sensitif, sedangkan penisilin intermediet. Menurut *Clinical and Laboratory Standar Institut* di kategori sensitif apabila dapat menghambat bakteri dengan baik dan terbentuk zona bening pada saat uji MHA. Sedangkan dikategori intermediet apabila bakteri dapat dihambat tetapi dengan daya hambat yang lebih lemah. Tingkat sensitivitas antibiotik gentamisin, kloramfenikol dan penisilin yang digunakan dalam penelitian ini masih sesuai standar yang ditetapkan oleh *Clinical and Laboratory Standar Institute* (CLSI) (2014) yaitu ≥20 mm terhadap antibiotik gentamisin, ≥20 mm kloramfenikol dan ≥15 mm penisilin. Dari Tabel 1 juga dapat diketahui bahwa 3 jenis antibiotik yang digunakan dalam penelitian ini tidak resisten terhadap *P. aeruginosa* asal preputium sapi aceh. Menurut *Clinical and Laboratory Standar Institute* (CLSI) (2014) resistensi antibiotik gentamisin, kloramfenikol dan penisilin memiliki *disk* standar resisten diameter zona hambat ≤12 mm, ≤12 mm, ≤10 mm.

Perbedaan rata-rata zona hambat antibiotik tersebut mungkin disebabkan oleh mekanisme kerja dari masing-masing antibiotik tersebut. Gentamisin memiliki mekanisme kerja mensintesis protein bakteri yang memiliki efek bakterisida atau bakteriostatik dengan cara mengganggu sintesis protein tanpa mengganggu sel-sel normal (Pratiwi, 2017). Tahap awal dari proses gentamisin pada reseptor protein spesifik yaitu subunit ribosom 30S dan selanjutnya gentamisin akan menghambat aktivitas kompleks dari pembentukan peptida (mRNA + “*formyl methionine*” + tRNA). Kemudian mRNA akan membawa “regio pengenalan” kepada ribosom, sehingga terjadi insersi asam amino yang salah pada peptida yang menghasilkan protein nonfungsional (Yuana, 2016).

Kloramfenikol memiliki efek bakterisida atau bakteriostatik dengan cara mengganggu sintesis protein tanpa mengganggu sel-sel normal (Stringer, 2006). Kloramfenikol berikatan dengan subunit ribosom 50S dan dapat mempengaruhi pengikatan asam amino yang baru pada rantai peptida karena kloramfenikol menghambat *peptidil transferase* (Sudigdoadi, 2015). *Peptidil transferase* berperan dalam pembentukan ikatan-ikatan

peptida dalam proses sintesis protein bakteri (Nurtami, 2002).

Penisilin bekerja dengan mengganggu sintesis dinding sel bakteri, dengan cara menghambat sintesis peptidoglikan. Tahap awal kerja penisilin dimulai dari pengikatan obat pada reseptor bakteri (PBPs=*Penicillin-binding proteins*), setelah obat melekat pada satu atau lebih reseptor maka reaksi *transpeptidase* dan sintesis peptidoglikan akan dihambat. Tahap berikutnya adalah inaktivasi serta hilangnya inhibitor enzim-enzim autolitik pada dinding sel. Akibatnya aktivasi enzim-enzim litik akan menyebabkan lisis pada bakteri, yang dapat menghambat tahap awal pada sintesis peptidoglikan. Karena tahap awal dari sintesis berlangsung pada membran sitoplasma dan antibiotik ini harus penetrasi melalui membran. Resistensi terhadap penisilin disebabkan oleh pembentukan enzim yang merusak penisilin, yaitu enzim β -laktamase (Dharmawan dan Nicolas, 2018).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa antibiotik gentamisin dan kloramfenikol sensitif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa*. Tingkat sensitivitas tertinggi terlihat pada antibiotik gentamisin.

DAFTAR PUSTAKA

- Brooks, G.F., K. Carroll, dan J.S. Butel. 2013. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology. Ed ke-26. McGraw-Hill Company Inc, Philadelphia
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2014). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fourth informational supplement. *Clinical and Laboratory Standards Institute*. USA.
- Dharmawan, A dan Nicolas, L. (2018). Mekanisme resistensi *acinetobacter baumannii* terhadap antibiotik golongan karbapenem. *Jurnal kedokteran meditek*, 24(68): 68-72.
- Ferdiaz, S. (1993). *Analisis mikrobiologi pangan*. PT Prasindo Persada, Jakarta.
- Harmita dan Radji, M. (2006). *Analisis hayati edisi 3*. EGC, Jakarta.
- Haryati, Manurung, B dan Gultom, T. (2017). The effect of learning model on higher order thinking and student science process skills in ecology. *International Journal of Humanities Social Sciences and Education (IJHSSE)*. 4(10), 150–155.
- Ismaya. (2014). *Bioteknologi inseminasi buatan pada sapi dan kerbau*. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Krisnanta, I.K.A.B., Nani, P., Bobby, P dan Eko, S. (2018). Analisis dan faktor penyebab ketidakpatuhan pengasuh terhadap penggunaan antibiotik pada pasien anak. *Jurnal JMPF*, 8(1): 39-50.
- Lestari, T.D dan Ismudiono. (2014). *Ilmu Reproduksi Ternak*. Airlangga university press, Surabaya.
- Maulida, M. (2016). Pola resistensi bakteri terhadap antibiotik pada penderita sepsis bayi diruang PICU dan NICU rumah sakit x periode agustus 2013- agustus 2015. *Jurnal farmasi*, 2(3): 1-11.
- Nurmala., Ign, V., Andriani dan Delima, F.L. (2015). Resistensi dan sensitivitas bakteri terhadap antibiotik di Rsu dr. soedarso pontianak tahun 2011-2013. *Jurnal e-JKI*, 3(1): 21-28.
- Putri, A.A., Roslaili, R dan Rahmatini. (2014). Perbedaan sensitivitas kuman *pseudomonas aeruginosa* penyebab infeksi nasokomial terhadap beberapa antibiotika generik dan paten. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 3(3): 328-331.
- Pratiwi, R.H. (2017). Mekanisme pertahanan bakteri patogen terhadap antibiotik. *Jurnal pro-life*, 4(3): 418-429.
- Rahmadian, C.D., Ismail., Mahdi. A., Erina., Rastina dan Yudha, F. (2018). Isolasi dan identifikasi bakteri *pseudomonas* sp pada ikan asin ditempat pelelangan ikan labuhanhaji aceh selatan. *JIMVET*, 2(4): 493-502.
- Rafika, I., Cut, N.T., Herialfian., Rosmaidar dan Hafizuddin. (2020). Isolasi dan identifikasi bakteri gram negatif pada uterus sapi aceh yang mengalami repeat breeding. *Jurnal agrivet*, 20(2): 187-192.
- Stringer, J. L. (2006). *Basic Concepts in Pharmacology: a Student's Survival Guide Edisi 3*. Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Sudigdoadi, S. (2015). *Mekanisme timbulnya resistensi antibiotik pada infeksi bakteri. Bagian Mikrobiologi*. Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran, Jawa Barat.
- Sulviana, A.W., Nony. P dan Rizal, M.R. (2017). Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* dan uji sensitivitas terhadap antibiotik dari sempel pus infeksi luka operasi di RSUD Dr. Moewardi. *Jurnal Biomedika*, 10(2): 19-23.

Utami, E.R. (2011). Antibiotik, resistensi, dan rasionalitas terapi. *Jurnal biology el-hayah*, 1(4): 191-198.

Yuana, D.A. (2016). Gambaran penggunaan antibiotik

dengan resep dan tanpa resep dokter dari beberapa apotek di area jember kota. *Jurnal farmasi*, 4(2): 1-52.