

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

Penelitian dengan judul “Uji Banding Metode Difusi Sumuran dan Cakram pada Pemeriksaan Sensitivitas Bakteri *Escherichia coli* terhadap Antibiotik Kloramfenikol” ini telah dilaksanakan pada tanggal 14-26 April 2025 di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta. Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan layak etik dari Komisi Etik Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.

Pemeriksaan uji sensitivitas bakteri *E.coli* dilakukan dengan membandingkan diameter zona hambat metode difusi yaitu teknik sumuran dan teknik cakram dengan pengulangan masing-masing teknik sebanyak 16 kali. Bakteri yang digunakan adalah biakan murni *Escherichia coli* ATCC 25922 yang berasal dari Balai Laboratorium Kesehatan dan Kalibrasi Yogyakarta. Sementara untuk antibiotik digunakan disk antibiotik konsentrasi 30 µg untuk teknik cakram dan 50 µl larutan antibiotik konsentrasi 30 µg untuk teknik sumuran. Diameter zona hambat yang terbentuk pada masing-masing teknik diukur dengan jangka sorong dalam satuan milimeter.

Hasil penelitian ini berupa data primer dengan jumlah 32 data dengan 2 jenis kelompok, yaitu 16 data untuk teknik sumuran dan 16 data untuk teknik cakram. Kemudian dihitung rerata diameter zona hambat pada uji

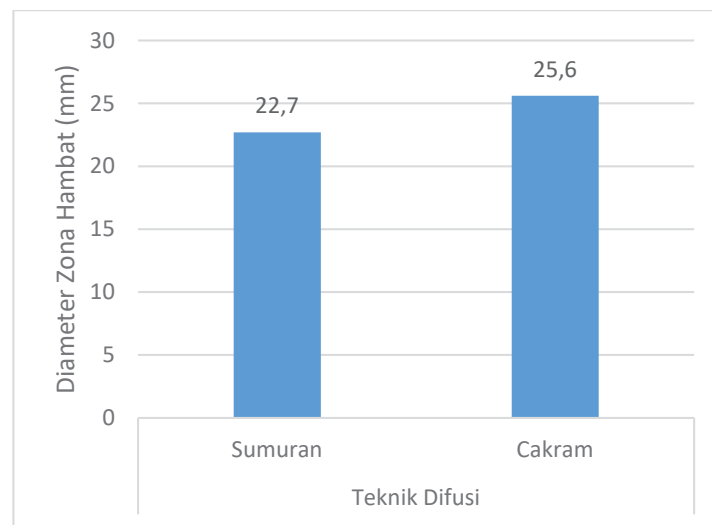
sensitivitas bakteri *Escherichia coli* teknik sumuran dan cakram terhadap antibiotik kloramfenikol yang ditunjukkan pada tabel 7.

Tabel 7. Rerata Diameter Zona Hambat Teknik Sumuran dan Teknik Cakram pada Uji Sensitivitas Bakteri *E.coli* terhadap Antibiotik Kloramfenikol

	Teknik Sumuran	Teknik Cakram
Rerata	22,7 mm	25,6 mm
Kontrol positif	23,1 mm	25,5 mm
Kontrol negatif	0 mm	0 mm

Tabel 7. menunjukkan rerata diameter zona hambat teknik sumuran dan teknik cakram pada uji sensitivitas bakteri *Escherichia coli* terhadap antibiotik kloramfenikol. Rerata diameter zona hambat pada teknik sumuran adalah 22,7 mm, sedangkan pada teknik cakram adalah 25,6 mm. Kemudian didapatkan rerata diameter zona hambat untuk kontrol positif pada teknik sumuran adalah 23,1 mm, sedangkan pada teknik cakram adalah 25,5 mm. Pada kontrol negatif didapatkan diameter zona hambat pada teknik sumuran dan teknik cakram adalah 0 mm.

Hasil pengukuran diameter zona hambat masing masing teknik kemudian dilakukan analisis secara deskriptif. Melalui analisis ini dapat dibandingkan rerata diameter zona hambat yang dihasilkan masing-masing teknik. Analisis deskriptif dilakukan menggunakan diagram batang yang ditunjukkan pada Gambar 11.



Gambar 11. Perbandingan Rerata Diameter Zona Hambat Teknik Sumuran dan Teknik Cakram pada Uji Sensitivitas Bakteri *E.coli* terhadap Antibiotik Kloramfenikol

Grafik tersebut menunjukkan perbedaan rerata diameter zona hambat teknik sumuran dan teknik cakram. Teknik sumuran memiliki rerata diameter zona hambat sebesar 22,7 mm, sedangkan untuk teknik cakram sebesar 25,6 mm. Kedua teknik tersebut memiliki selisih diameter zona hambat yaitu -2,9 mm dengan persentase perbedaan sebesar -11,32%.

Data kemudian dilakukan analisis secara analitik berdasarkan ketentuan CLSI (2020) untuk mengetahui kriteria kekuatan suatu antibiotik.

Hasilnya didapatkan sebagai berikut:

Tabel 8. Hasil Kategori Zona Hambat Teknik Sumuran dan Cakram pada Uji Sensitivitas Bakteri *E.coli* terhadap Antibiotik Kloramfenikol

Teknik Difusi	Diameter Zona Hambat	Kategori Zona Hambat
Sumuran	22,7 mm	Sensitif
Cakram	25,6 mm	Sensitif

Tabel 8. menunjukkan kategori zona hambat pada teknik sumuran dan teknik cakram didapatkan hasil yang sensitif. Hal ini dikarenakan diameter

zona hambat pada teknik sumuran dan teknik cakram melebihi 20 mm, yaitu 22,7 mm untuk teknik sumuran dan 25,6 mm untuk teknik cakram.

Selanjutnya data dianalisis secara statistik dengan memanfaatkan aplikasi SPSS versi 16.0 yang dijalankan pada *platform windows*. Analisis statistik bertujuan untuk mengetahui lebih lanjut ada atau tidaknya perbedaan antara teknik sumuran dan teknik cakram pada pemeriksaan sensitivitas bakteri *E. coli* terhadap antibiotik kloramfenikol. Analisis statistik diawali dengan uji normalitas data untuk mengetahui apakah data yang diperoleh berdistribusi normal atau tidak.

Tabel 9. Uji Distribusi Data Diameter Zona Hambat Teknik Sumuran dan Teknik Cakram

	Teknik	Shapiro-Wilk Sig.
Zona hambat	Sumuran	0,179
	Cakram	0,315

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa nilai signifikan sebesar 0,179 untuk teknik sumuran dan 0,315 untuk teknik cakram. Nilai tersebut lebih besar dari 0,05 sehingga data berdistribusi normal.

Analisis statistik dilanjutkan pada uji homogenitas data dan uji beda yaitu *Independent Samples t-Test*. Uji homogenitas data bertujuan untuk mengetahui apakah data tersebut homogen atau tidak.

Tabel 10. Uji Homogenitas Data dan Uji Beda

Uraian	Sig.
Uji homogenitas data	0,968
Uji Independent Samples t-Test	0,000

Berdasarkan Tabel 10. diperoleh nilai signifikan untuk uji homogenitas yaitu 0,968 pada *Levene's Test for Equality of Variances* yang lebih besar dari 0,05 yang menunjukkan bahwa data homogen. Sehingga nilai signifikan pada uji *Independent Samples t-Test* dibaca pada baris *Equal variances assumed* pada data yang homogen. Pengambilan keputusan dalam penelitian ini didasarkan pada rumusan hipotesis sebagai berikut:

H_0 : Tidak ada perbedaan rerata diameter zona hambat antara teknik sumuran dan cakram pada pemeriksaan sensitivitas bakteri *E.coli* terhadap antibiotik kloramfenikol

H_a : Ada perbedaan rerata diameter zona hambat antara teknik sumuran dan cakram pada pemeriksaan sensitivitas bakteri *E.coli* terhadap antibiotik kloramfenikol

Berdasarkan uji *Independent Samples t Test*, didapatkan nilai signifikan *Equal variances assumed* sebesar 0,00 yang lebih kecil dari 0,05. Hal ini menunjukkan bahwa H_0 ditolak dan H_a diterima sehingga ada perbedaan rerata diameter zona hambat antara teknik sumuran dan teknik cakram pada pemeriksaan sensitivitas bakteri *E.coli* terhadap antibiotik kloramfenikol.

B. Pembahasan

Uji sensitivitas bertujuan untuk mengetahui tingkat kepekaan bakteri terhadap suatu antibiotik, khususnya bakteri *E.coli* terhadap antibiotik kloramfenikol. Metode yang sering digunakan pada uji sensitivitas adalah metode difusi yang terdiri dari teknik sumuran dan teknik cakram

(Jiwintarum, dkk., 2024). Prinsip dari teknik sumuran adalah dibuat lubang sumuran pada media MHA kemudian lubang tersebut diisi dengan larutan antibiotik kloramfenikol (Nurhayati, dkk., 2020). Sedangkan pada teknik cakram, *disk* antibiotik ditempelkan pada media MHA sehingga antibiotik akan berdifusi ke dalam agar. Adanya zona bening merupakan zona penghambatan antibiotik kloramfenikol terhadap bakteri *E.coli* (Lasmini dan Anisha, 2020). Semakin besar zona hambat yang dihasilkan maka semakin besar pula kemampuan antibiotik kloramfenikol dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* (Sarmira, dkk. 2021).

Berdasarkan penelitian ini, didapatkan bahwa ada perbedaan rerata diameter zona hambat antara teknik sumuran dan teknik cakram pada uji sensitivitas bakteri *E.coli* terhadap antibiotik kloramfenikol. Rerata diameter zona hambat untuk teknik sumuran adalah 22,7 mm, sedangkan untuk teknik cakram adalah 25,6 mm. Selisih rerata diameter zona hambat antara teknik sumuran dan teknik cakram adalah -2,9 mm, dengan persentase perbedaan sebesar -11,32%. Walaupun kedua teknik tersebut memiliki kategori diameter zona hambat yang sensitif, namun diameter zona hambat yang dihasilkan pada teknik sumuran lebih kecil dibandingkan teknik cakram. Hal tersebut dapat terjadi karena pada teknik sumuran, larutan antibiotik dimasukkan ke dalam lubang sumuran sehingga terjadi proses perembesan zat terlarut dalam antibiotik pada dasar media. Perembesan larutan antibiotik terjadi di dasar media, sedangkan bakteri *E.coli* diinokulasikan pada permukaan media. Hal tersebut membuat

efektivitas difusi larutan antibiotik lebih rendah sehingga mempengaruhi diameter zona hambat yang lebih kecil. Sedangkan pada teknik cakram, diameter zona hambat yang dihasilkan lebih besar dari teknik sumuran karena terjadi kontak langsung antara bakteri uji dengan senyawa antibiotik sehingga dapat langsung berdifusi ke dalam media padat. Hal ini berkontribusi terhadap terbentuknya zona hambat yang lebih luas dibandingkan dengan teknik sumuran (Sariadji, dkk., 2019).

Faktor yang mempengaruhi perbedaan diameter zona hambat antara teknik sumuran dan teknik cakram pada penelitian ini terletak pada perbedaan alat yang digunakan dan proses pengerjaan. Pada teknik cakram digunakan *disk* antibiotik sedangkan pada teknik sumuran, larutan antibiotik kloramfenikol dimasukkan ke dalam lubang sumuran yang dibuat dengan alat pelubang media. Menurut Krisna, dkk. (2019), standar untuk pembuatan lubang sumuran adalah menggunakan alat cork borer yang memiliki diameter yang sama dengan *disk* antibiotik, yaitu 6 mm. Namun, pada penelitian ini digunakan sedotan *stainless* yang berdiameter 5,5 mm sebagai pengganti alat cork borer. Sedotan *stainless* memiliki diameter yang lebih kecil dari alat cork borer sehingga membuat diameter lubang sumuran menjadi lebih kecil daripada seharusnya. Hal tersebut berdampak pada diameter zona hambat yang dihasilkan pada teknik sumuran menjadi lebih kecil dari teknik cakram. Kondisi tersebut juga membuat larutan antibiotik tidak masuk sepenuhnya pada lubang sumuran, melainkan dapat menyebar ke permukaan agar. Hal tersebut dijumpai pada beberapa lubang sumuran

dengan diameter zona hambat yang dihasilkan tidak berbentuk bulat sempurna. Selain itu, pada proses pembuatan lubang sumuran terkadang dijumpai sisa agar pada media atau adanya media yang retak. Hal tersebut sangat berpengaruh terhadap diameter zona hambat yang terbentuk. Adanya sisa agar dapat mengurangi atau menghambat penyebaran zat antibakteri ke seluruh media sehingga mengurangi ukuran diameter zona hambat (Dewi, dkk., 2014; Rahman, dkk., 2022). Sementara itu, pada media agar yang mengalami keretakan dapat menghambat proses peresapan antibiotik ke dalam media secara merata sehingga berpotensi mempengaruhi pembentukan diameter zona hambat dalam pelaksanaan uji sensitivitas (Khusuma, 2019).

Faktor lain yang juga mempengaruhi ukuran diameter zona hambat adalah ketebalan media agar. Terdapat perbedaan ketebalan media antar masing-masing cawan petri sehingga terdapat beberapa lubang sumuran dengan larutan antibiotik yang menyebar di atas media agar. Ketebalan media yang efektif adalah 4 mm, apabila ketebalan agar kurang dari 4 mm maka diameter zona hambatnya semakin besar (Pratama, dkk., 2025; Wilapangga dan Syaputra, 2018).

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Krisna, dkk (2019) yang berjudul “Perbandingan Uji Daya Hambat Ekstrak Sereh Wangi (*Cymbopogon Nardus L. Randle*) dengan Metode Difusi Disk dan Sumuran terhadap Pertumbuhan *Salmonella typhi*”, yaitu terdapat perbedaan diameter zona hambat yang dihasilkan oleh teknik sumuran dan

teknik cakram. Teknik cakram memiliki diameter zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan diameter zona hambat teknik sumuran. Diameter zona hambat teknik cakram sebesar 22.44 mm sedangkan pada teknik sumuran yaitu 16.78 mm. Faktor yang mempengaruhi diameter zona hambat pada penelitian Krisna, dkk. (2019) adalah ketebalan media dan juga konsentrasi mikroba.

Hasil penelitian ini juga didukung oleh penelitian Sumadewi, dkk., pada tahun 2024 dengan judul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bonggol Pisang Klutuk (*Musa Balbisiana Colla*)” menyatakan bahwa teknik yang lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu teknik cakram. Hal ini dikarenakan teknik cakram memiliki diameter zona hambat yang lebih besar dibandingkan teknik sumuran. Teknik cakram dengan variasi konsentrasi 14% mampu menghasilkan diameter zona hambat sebesar 4,0 mm sedangkan teknik sumuran didapatkan diameter zona hambat sebesar 2,5 mm.

Penelitian Susanti dan Aslah pada tahun 2022 dengan judul “Pengaruh Variasi Metode Pengukuran dan Media Pertumbuhan dalam Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper Betle L*) terhadap Bakteri *Bacillus Cereus*” juga memiliki kesamaan hasil dengan penelitian ini. Hasilnya didapatkan diameter zona hambat yang dihasilkan oleh teknik cakram lebih besar dari teknik sumuran. Pada teknik cakram didapatkan hasil diameter zona hambat dengan ekstrak daun sirih hijau sebesar 9 mm sedangkan untuk teknik sumuran didapatkan hasil diameter zona hambat sebesar 3,3 mm. Hal

ini menunjukkan bahwa teknik difusi yang paling efektif dalam uji sensitivitas adalah teknik cakram dengan menggunakan media MHA. Susanti dan Aslah (2022) menjelaskan bahwa faktor lain yang menyebabkan perbedaan diameter zona hambat teknik sumuran dan teknik cakram adalah kecepatan difusi senyawa antibakteri dan perbedaan metode.

Penelitian ini telah dilaksanakan dan diusahakan sesuai dengan prosedur oleh peneliti, namun demikian masih ada kelemahan seperti tidak dilakukan pengukuran ketebalan media pada masing-masing cawan petri sehingga larutan antibiotik terkadang menyebar hingga ke atas media agar dan penggunaan sedotan *stainless* sebagai pengganti alat cork borer dalam pembuatan lubang sumuran. Hal tersebut dapat mempengaruhi diameter zona hambat yang dihasilkan antara teknik sumuran dan teknik cakram sehingga peneliti selanjutnya perlu memperhatikan ketebalan media dan menggunakan alat standar dalam pembuatan lubang sumuran.