

UJI SENSITIVITAS UJI POTENSI ANTIBIOTIK



Inayati Habib

TIU

- Mahasiswa mampu menjelaskan cara kerja zat antibiotika

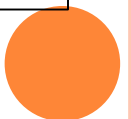
TIK :

- menjelaskan berbagai metode untuk memeriksa kuman terhadap berbagai antibiotika.
- melakukan interpretasi hasil test kepekaan dan menerapkan dalam mengobati penderita penyakit infeksi.
- menjelaskan mekanisme resistensi bakteri terhadap berbagai antibiotik.

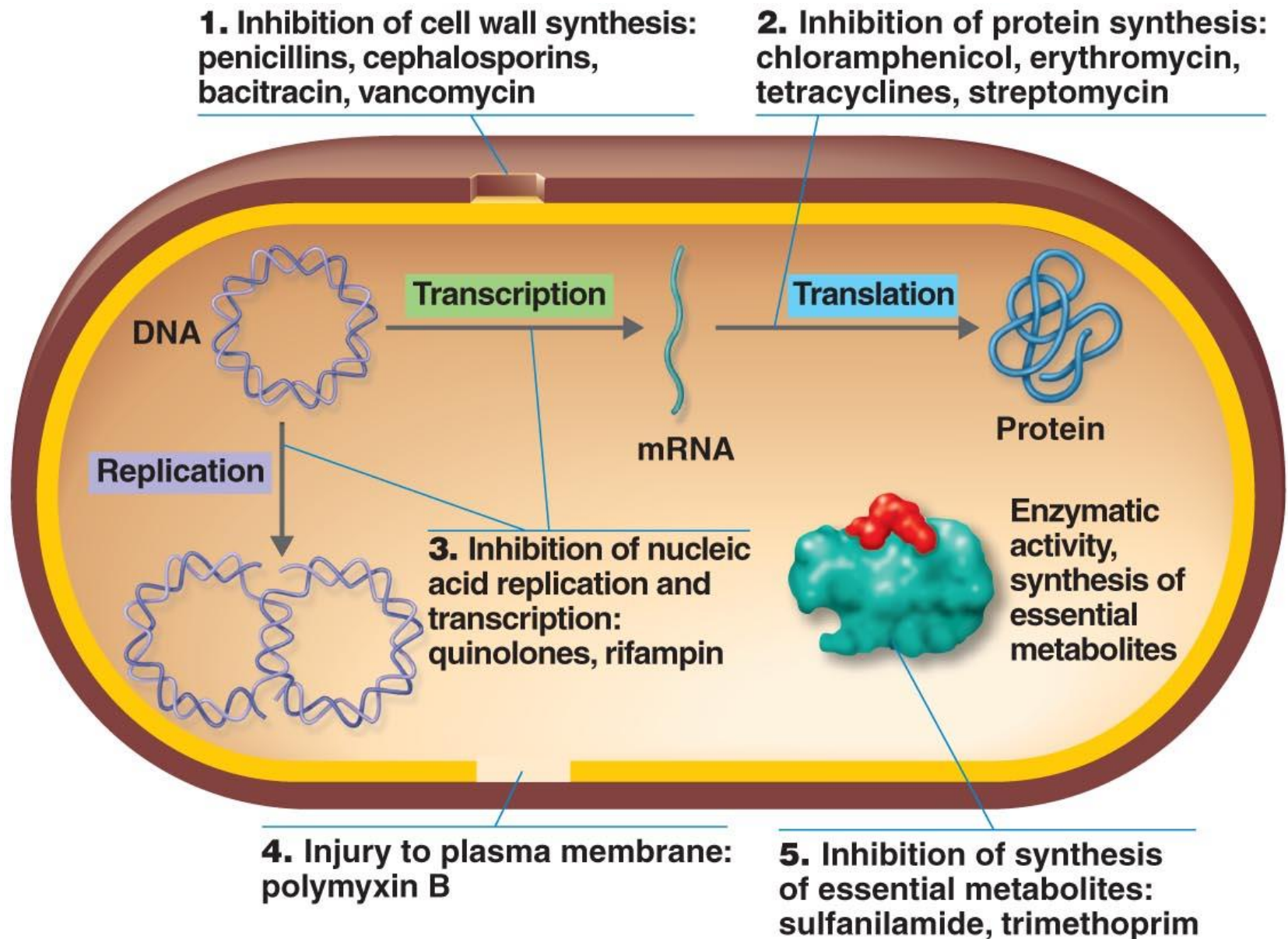


MEKANISME KERJA ANTIMIKROBA

- Penghambatan sintesis dinding sel
- Penghambatan fungsi membran sel (merubah permeabilitas membran sel atau menghambat transport aktif)
- Penghambatan sintesis protein
(Hambatan translasi dan transkripsi materi genetik)
- Penghambatan sintesis asam nukleat
- Penghambatan sintesis metabolit essensial



THE ACTION OF ANTIMICROBIAL DRUGS



- Pada dekade ini banyak berkembang **strain bakteri yang resisten antibiotik**, sehingga dapat menyulitkan pengobatan penyakit infeksi.
- Problem resistensi ini merupakan masalah kesehatan yang serius



MEKANISME RESISTENSI ANTIBIOTIKA

- Mikroorganisme menghasilkan enzim yang dapat merusak obat yang aktif.

Contoh :

1. Staphylococcus resisten terhadap Penicillin G, dengan menghasilkan enzim β laktamase yang merusak obat.
2. Bakteri Gram (-) resisten terhadap Chloramphenicol dengan menghasilkan enzim asetiltransferase.

- Mikroorganisme mengubah permeabilitas terhadap antibiotik.

Contoh : Streptococcus mempunyai penghalang permeabilitas alamiah terhadap aminoglikosida.

- Mikroorganisme mengubah lintasan metabolisme agar tidak terhambat oleh antibiotika yang dipaparkan.
- Mikroorganisme mengubah enzim yang dimilikinya agar dapat menjalankan fungsi metabolismenya tanpa dipengaruhi kerja obat.



RESISTANCE TO ANTIBIOTICS

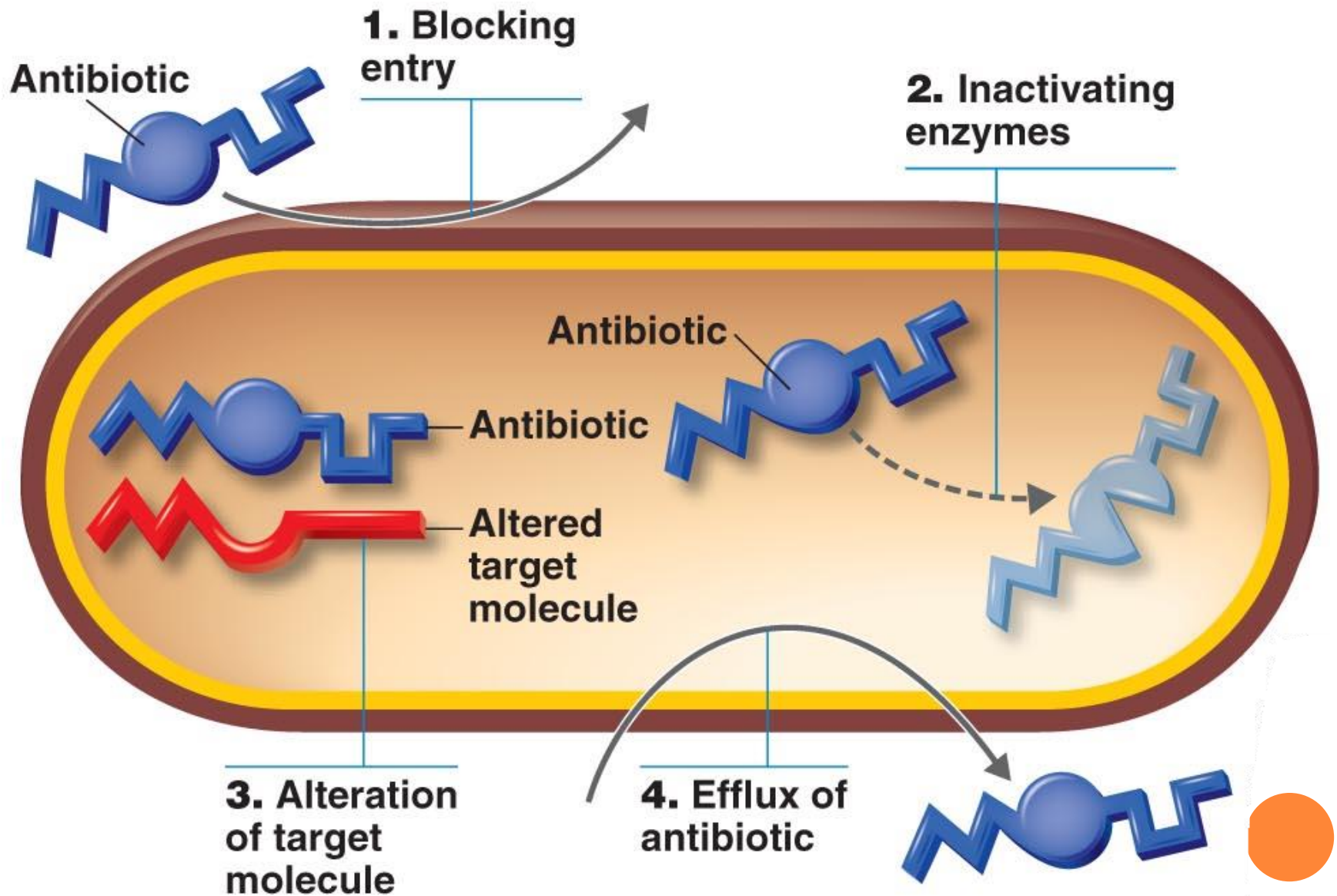


Figure 20.20

PERBEDAAN

UJI SENSITIVITAS DAN UJI POTENSI ANTIBIOTIK

Karakteristik	Uji Sensitivitas	Uji Potensi
Tujuan	Menguji AB yang bisa membunuh/sensitif terhadap bakteri penyebab infeksi	Menguji suatu zat/substrat/Antibiotika dalam hal kemampuan membunuh bakteri
Sampel diuji	Spesimen klinik kasus infeksi	Antibiotika atau Zat/substrat yang diduga mempunyai daya antibakteri
Bahan Uji	Disk Antibiotika Standard	Bakteri Uji Standar (misalnya : ATCC)
Interpretasi Hasil	Sensitif/Intermediate/Resisten berdasarkan diameter Zona Hambat	Nilai MIC/MBC yang menunjukkan konsentrasi zat/substrat mampu menghambat/membunuh bakteri
Manfaat	Membantu klinisi memilih terapi AB	Uji potensi suatu AB atau zat/substrat baru sebagai AB

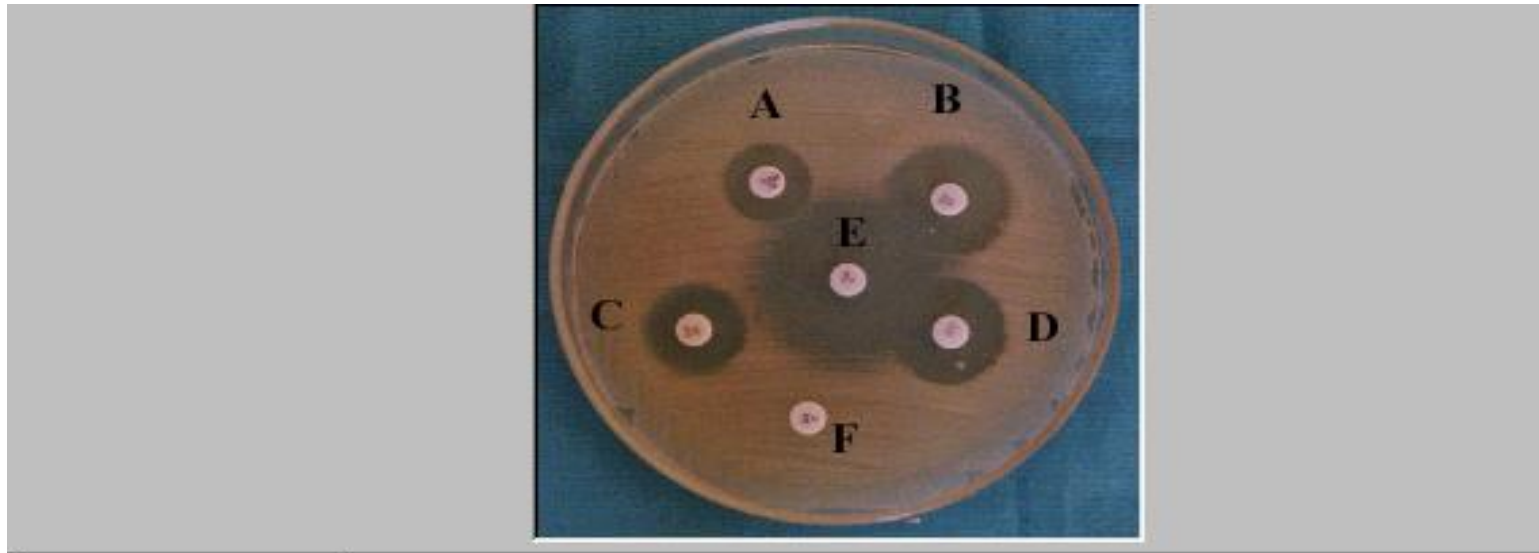
UJI SENSITIVITAS KUMAN

Metode Uji Sensitivitas kuman:

1. Difusi disk/Cakram
2. Dilusi agar

1. Metode Difusi disk/Cakram
 - a. Cara Kirby Bauer
 - b. Sumuran
 - c. Pour plate
2. Metode Dilusi agar



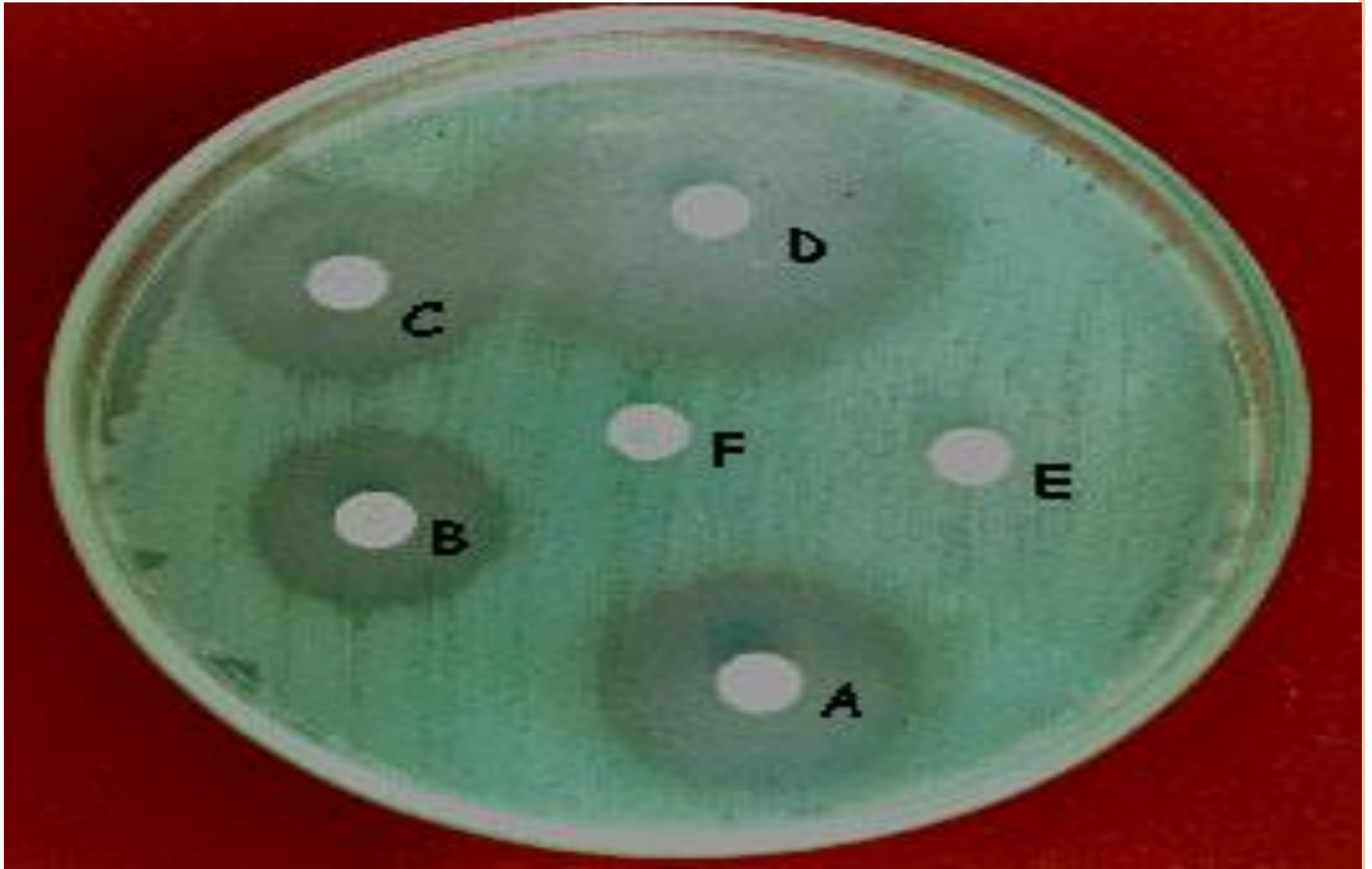


Uji Kepekaan Kuman terhadap Antibiotik

Tampak bentukan zona hambat pada daerah sekitar antibiotik (daerah yang tidak ditumbuhi kuman /daerah bening) yang setelah dicocokkan dengan tabel NCCLS ternyata kuman peka

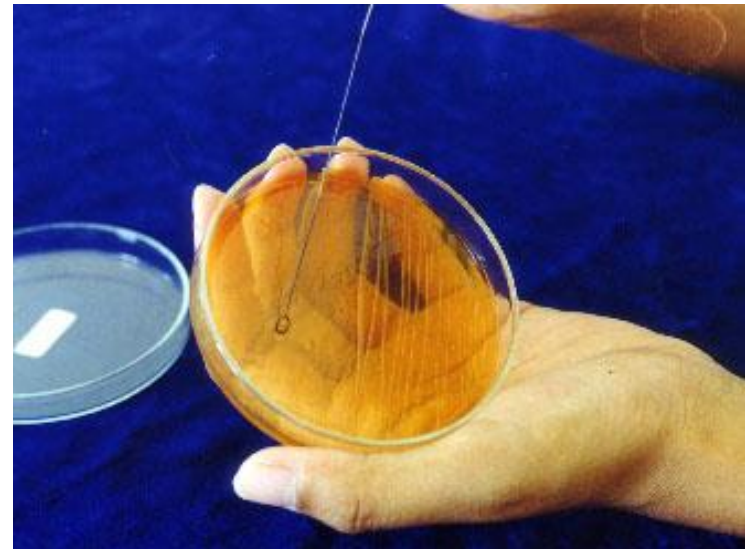


INTERPRETASI HASIL

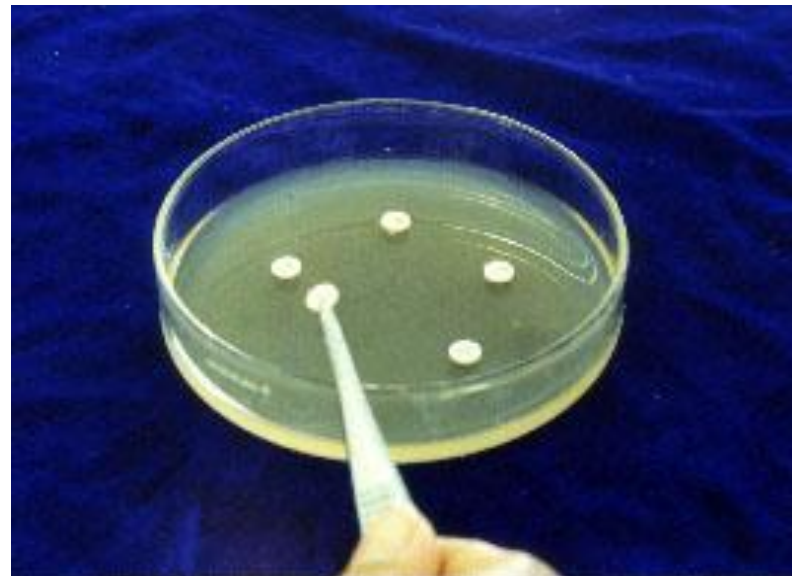
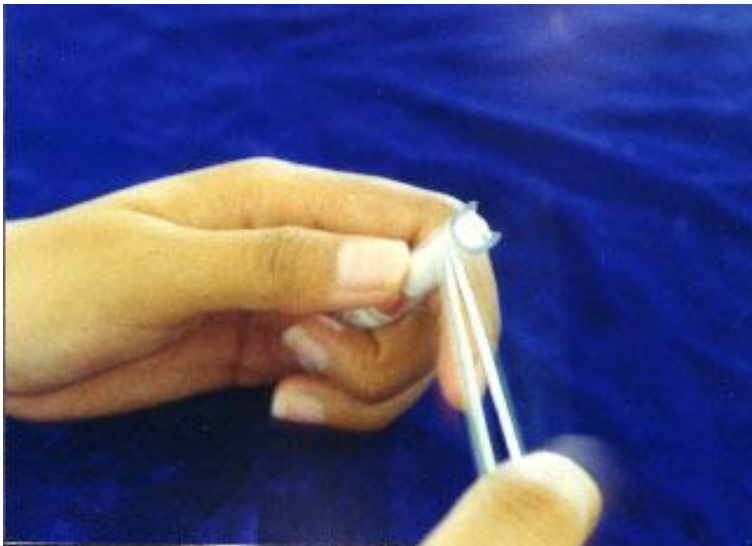


CARA KERJA

- Buat suspensi kuman dalam kaldu BHI dengan sengkelit (ose) bulat, masing-masing satu tabung untuk kuman.
- Inkubasikan pada water bath atau inkubator O_2 1 jam.
- Encerkan suspensi kuman ke dalam NaCl fisiologis menjadi 10^8 CFU/ml, dengan cara mengambil 1 ose kuman dari BHI di masukkan dalam NaCl fisiologis (1 tabung untuk 1 kuman).
- Pada lempeng agar Mueller Hinton usapkan suspensi kuman tadi dengan swab kapas secara merata

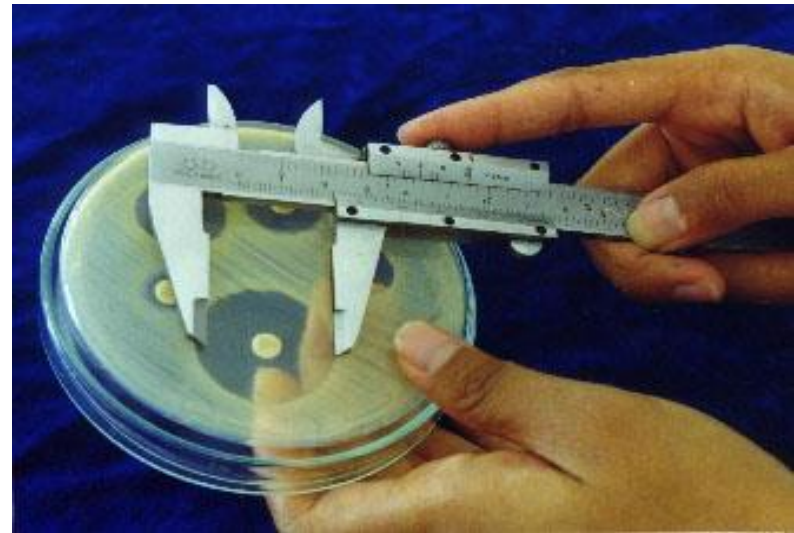
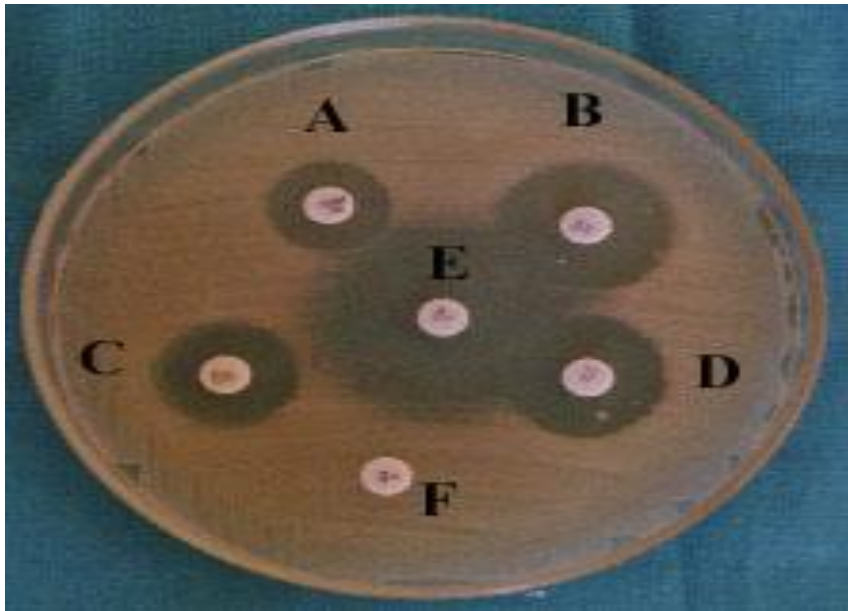


- Dengan pinset yang disterilkan di atas api, ambil Cakram/disk antibiotik yang disediakan dan diletakkan di atas lempeng agar yang telah ditanami kuman dengan jarak teratur.
- Inkubasikan (eramkan) lempeng agar tersebut dalam inkubator 37⁰ C selama 16-18 jam. Jangan lupa memberi label nama kuman



HASIL DAN EVALUASI

- Dengan penggaris milimeter ukur lebar diameter zone hambatan pada Cakram/disk dan interpretasikan hasilnya (sensitiv, resisten, intermediat).



HASIL PEMERIKSAAN

Jenis Antibiotik	<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>	
	Lebar zone	Interpretasi	Lebar zone	Interpretasi
Penicillin				
Chloramphenicol				
Gentamycin				



UJI POTENSI ANTIBIOTIKA



Inayati Habib

TUJUAN

- mengetahui daya antibakteri suatu antibiotika/zat/substrat terhadap bakteri standar.



CARA PEMERIKSAAN POTENSI ANTIBIOTIK

- Agar Difusi
- Turbidimetri
- Penghambatan perubahan Ph.
- Metode Enzimatik
- Radioimmunoassay
- Kimiawi



METODE TEST DILUSI

- Terdapat 2 macam metode dilusi :

1. Dilusi Cair (Macro Broth Dilution)

- Prinsip : Antibiotika yang akan diperiksa diencerkan sehingga didapatkan beberapa konsentrasi. Lalu masing-masing konsentrasi ditambahkan suspensi kuman dalam media. Inkubasi 37°C selama 18 – 24 jam. Adanya pertumbuhan diamati.
- Hasilnya didapatkan MIC (Minimal Inhibitory Concentration), merupakan konsentrasi terendah dari antibiotika yang masih mampu menghambat pertumbuhan kuman.

2. Dilusi Padat

- Prinsipnya adalah antibiotika yang akan diperiksa diencerkan. Masing-masing pengenceran dituang 1 ml ke dalam petri dish steril. Lalu dituang dengan media agar yang sebelumnya dilelehkan dan sudah didinginkan kira-kira 56°C. Dan dibiarkan memadat. Kemudian oleskan kuman pada permukaan media.



METODE TEST DIFUSI

Terdapat 3 macam cara metode difusi :

- *Cara Kiby Bauer*
- *Cara Pour Plate*
- *Cara Sumuran*



CARA KERJA

Bahan dan Alat :

- deret tabung reaksi steril untuk pengenceran antibiotika sebanyak 15 buah/kelompok
- 15 ml kaldu BHI
- Antibiotika Ampisilin dan Tetrasiklin
- Biakan *Staphylococcus aureus* ATCC 25922
- Pipet volume 10 ml, 5ml, 1 ml.



CARA KERJA :

(METODE DILUSI MACRO BROTH DILUTION)

- Masukkan 1 ml aquades dalam tabung dari no 2 s/d no 10. Dan tabung no 12.
- Encerkan antibiotika secara seri, mulai dengan no 2 s/d tabung no.10, sisa pengenceran dimasukkan dalam tabung no 11.
- Ambil 2,875 ml BHI dari erlemeyer BHI 15 ml, masukkan ke tabung no 13, sebagai
- Kontrol media
- Ambil 0,125 ml larutan kuman 10^8 CFU/ml , masukkan ke dalam BHI volume 12,125 ml.
- Tambahkan pada tabung no 1 s/d tabung no 10 dan tabung no 12 masing-masing 1ml BHI yang mengandung kuman 10^6 CFU/ml .
- Inkubasikan seluruh tabung pada 37° C selama 18 – 24 jam.
- Tentukan berapa KHM-nya.



Skema Kerja :

No tabung	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
BHI+kuman	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	1	-
Antibiotika	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	-
Aquadest	--	1	1	1	1	1	1	1	1	-	1	-

Inkubasikan pada 37⁰ C, 18-24 jam
Baca KHM

Catatan :

Tabung no 1 berisi 1 ml antibiotika dan 1 ml BHI + kuman

Tabung no 10 berisi sisa pengenceran Antibiotika

Tabung no11 berisi 1 ml aquades dan 1 ml BHI+kuman (kontrol pertumbuhan kuman)

Tabung no 12 berisi 2,875 ml BHI (kontrol media)



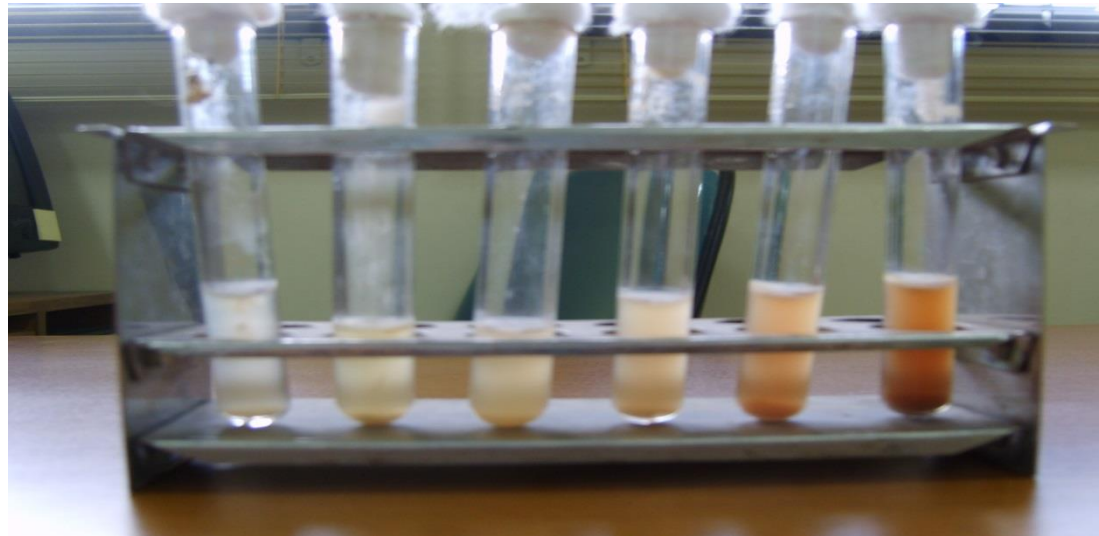
INTERPRETASI HASIL

- Uji Potensi Antibiotik
- Kadar Awal Ampisilin: 100 $\mu\text{gr/ml}$
- Bakteri Uji : *Staphylococcus aureus* ATCC 25922
- Jumlah Tabung seri pengenceran : 8 (pengenceran antibiotika 6, 1 tabung control positif, 1 tabung control negative)



INTERPRETASI HASIL

- Kadar Awal Tetrasiklin : 100 $\mu\text{gr/ml}$
- Bakteri Uji : *Staphylococcus aureus* ATCC 25922
- Jumlah Tabung seri pengenceran: 8 (pengenceran antibiotika 6, 1 tabung control positif, 1 tabung control negatif)



Antibiotic	Resistant	Intermediate	Susceptible
Tetracycline	= 14	15-18	= 19
Ciprofloxacin	= 15	16-20	= 21
Enoxacin	= 14	15-17	= 18
Erythromycin	= 13	14-22	= 23
Penicillin Staphylococci	= 28		= 29
Oxacillin Staphylococci	= 10	11-12	= 13
Tobramycin	= 12	13-14	= 15
Ceftriaxone	= 13	14-20	= 21
Kanamycin	= 13	14-17	= 18
Clindamycin	= 14	15-20	= 21
Piperacillin Gram negatives	= 17	18-20	= 21
Ampicillin Gram negative enterics Staphylococci	= 13 = 28	14-16	= 17 = 29



TABEL UJI SENSITIVITAS

Antibiotik	Diameter Zona Hambat (mm)		
	Resisten	intermediet	sensitif
Sefoperazon (CFP)	≤ 15		≥ 21
Streptomisin (S)	≤ 11	12-14	≥ 15
Ampisilin (Amp) - S.aureus - E.coli	≤ 28 ≤ 13		≥ 29 ≥ 17
Penisilin (P) - S.aureus - E.coli	≤ 28 ≤ 14		≥ 29 ≥ 15
Gentamisin (CN)	≤ 12	13-14	≥ 15

Selamat Mengerjakan

