



## PERBEDAAN HASIL UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI METODE *WELL DIFFUSION* DAN *KIRBY BAUER* TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI

Zada Amalia Agatha Sari<sup>1</sup>, Rahmat Febriawan<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

<sup>2</sup> Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

**Corresponding Author:** Zada Amalia Agatha Sari, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung.

E-Mail: [Zadaamalia41@gmail.com](mailto:Zadaamalia41@gmail.com)

Received Juni 27, 2021; Accepted Juli 02, 2021; Online Published Juli 14, 2021

### Abstrak

Resistensi antibiotik merupakan kejadian dimana laju pertumbuhan bakteri tidak dapat lagi dihambat oleh antibiotik yang seharusnya dapat menghambat pertumbuhan suatu bakteri. Banyak kerugian yang ditimbulkan dari kejadian resistensi antibiotik. Penyebab tersering dari resistensi antibiotik adalah kesalahan dalam persepsian antibiotik, apabila hal itu tidak ditangani maka dampak buruk dari resistensi antibiotik akan semakin meluas. Salah satu upaya dalam mencegah hal tersebut adalah dengan memilih antibiotik yang terbukti masih sensitif dan tepat dalam menghambat laju pertumbuhan bakteri, dimana hal untuk menentukan hal tersebut dapat dilakukan uji aktivitas antibakteri. Setiap uji antibiotik memiliki kekurangan dan kelebihan maka dari itu dirasa perlu dilakukan studi literatur untuk melihat metode mana yang lebih baik dalam menentukan daya aktivitas antibakteri. Hasil studi literatur mengungkapkan bahwa dari dua metode difusi, metode *well diffusion*lah yang dianggap lebih baik dibanding metode *kirby bauer* apabila dilihat dari diameter zona hambat yang terbentuk.

**Keywords:** Antibakteri; Cakram disk; Kirby bauer; Well diffusion; Sumuran

## PENDAHULUAN

Resistensi antibiotik merupakan suatu fenomena dimana laju pertumbuhan suatu bakteri tidak lagi dapat dihambat oleh antibiotik.<sup>1</sup> Kejadian ini dapat disebabkan oleh beberapa hal seperti pemakaian antibiotik yang tidak tepat jenis yang digunakan, penggunaan dosis yang tidak tepat, dan salah dalam waktu penggunaan antibiotik.<sup>2</sup>

Banyak masyarakat yang salah dalam mengenal antibiotik, hal ini dapat dilihat dari banyaknya jumlah antibiotik yang salah dalam penggunaannya, terutama terkait dengan *irrational prescribing*. Hal tersebut sejak dahulu merupakan masalah terbesar penyebab resistensi antibiotik di seluruh dunia.<sup>1</sup>

Sejak dahulu hingga sekarang resistensi antibiotik masih menjadi salah satu masalah yang sulit untuk diuraikan. Dampak dari resistensi antibiotik antara lain dapat meningkatkan biaya pengobatan, menjadikan pengobatan yang diberikan kurang/tidak lagi efektif, dan tentunya meningkatkan angka mortalitas dan morbiditas.<sup>3</sup>

Salah satu upaya yang dapat dilakukan dalam menekan laju resistensi antibiotik adalah dengan melakukan pemberian antibiotik secara tepat. Salah satu implementasi dari hal tersebut adalah menggunakan antibiotik yang jelas masih sensitif dan memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan suatu bakteri apabila digunakan untuk pengobatan pada penyakit yang disebabkan oleh bakteri, sehingga

antibiotik tersebut dapat dipilih untuk pengobatan.<sup>4</sup> Sensitivitas suatu antibiotik atau senyawa antibakteri dapat diuji dengan melakukan uji aktivitas antibakteri/antibiotik.<sup>1</sup>

Banyak peneliti di Indonesia yang telah melakukan penelitian uji aktivitas suatu senyawa antibakteri. Metode yang biasanya dilakukan dalam menguji aktivitas suatu antibakteri yaitu metode dilusi dan difusi. Metode dilusi dapat digunakan untuk menentukan kemampuan suatu senyawa antibakteri secara kualitatif dan kuantitatif, sedangkan metode difusi khusus menentukan kemampuan senyawa antibakteri secara kuantitatif.<sup>5</sup>

Methods	Microorganism	Growth medium	Final inoculum size	Incubation temperature (°C)	Incubation time (h)	Ref.
Disk-diffusion method	Bacteria	MHA	(0.5 McFarland) (1-2) × 10 <sup>8</sup> CFU/mL	35 ± 2	16-18	M02-A [9]
	Yeast	MHA + GMB <sup>a</sup>	(0.5 McFarland) (1-5) × 10 <sup>8</sup> CFU/mL	35 ± 2	20-24	M44-A [10]
Broth microdilution	Molds	Non-supplemented MHA	(0.4-5) × 10 <sup>6</sup> CFU/mL	-	-	M51-A [18]
	Bacteria	MHB	5 × 10 <sup>3</sup> × CFU/mL	35 ± 2	20	M07-A [56]
	Yeast	RPMI 1640 <sup>b</sup>	(0.5-2.5) × 10 <sup>3</sup> CFU/mL	35	24-48	M27-A [69]
	Molds	RPMI 1640 <sup>b</sup>	(0.4-5) × 10 <sup>6</sup> CFU/mL	35	48 for most fungi	M38-A [70]
Broth macrodilution	Bacteria	MHB	5 × 10 <sup>3</sup> CFU/mL	35 ± 2	20	M07-A [56]
	Yeast	RPMI 1640 <sup>b</sup>	(0.5-2.5) × 10 <sup>3</sup> CFU/mL	35	46-50	M27-A [69]
	Molds	RPMI 1640 <sup>b</sup>	(0.4-5) × 10 <sup>6</sup> CFU/mL	35	48 for most fungi	M38-A [70]
	Bacteria	MHB	5 × 10 <sup>3</sup> CFU/mL	35 ± 2	0, 4, 18, and 24	M26-A [75]
Agar dilution	Bacteria	MHA	10 <sup>4</sup> CFU/spot	35 ± 2	16-20	M07-A [56]
	Bacteria	MHB	5 × 10 <sup>3</sup> CFU/mL	35 ± 2	0, 4, 18, and 24	M26-A [75]

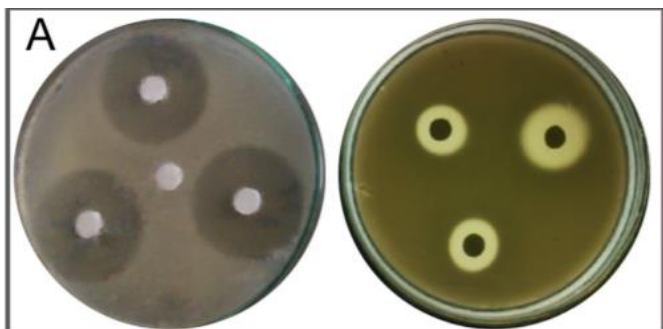
MHA: Mueller Hinton Agar; MHB: Mueller Hinton Broth.

<sup>a</sup> GMB: the medium was supplemented with 2% glucose and 0.5 mg/ml methylene blue.

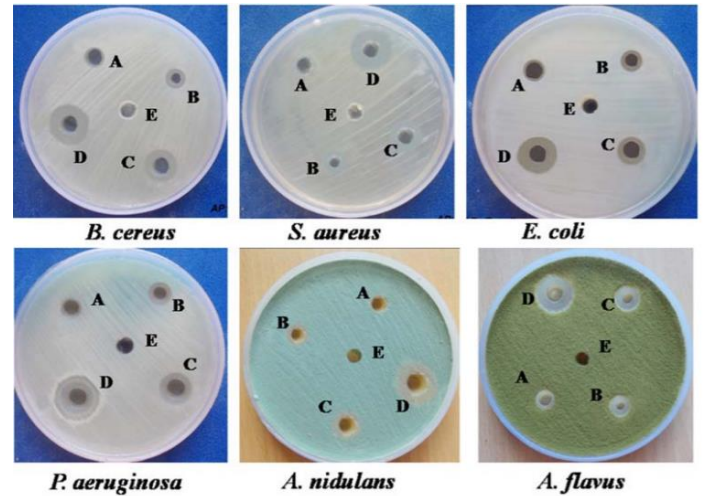
<sup>b</sup> RPMI 1640: Roswell Park Memorial Institute medium (with glutamine, without bicarbonate, and with phenol red as a pH indicator) was 1640, buffered to pH 7.0 with MOPS (morpholine propane sulfonic acid) at 0.165 M.

Gambar 1. Rekomendasi media kultur, kondisi inkubasi, besaran inoculum pada uji aktivitas daya antimikroba.<sup>6-11</sup>

Uji aktivitas antibakteri secara difusi dapat dilakukan dengan dua metode yaitu metode *well diffusion* (sumuran/difusi agar) dan *kirby bauer* (cakram/difusi cakram/kertas saring). Namun dari kedua metode difusi tersebut biasanya metode *kirby bauer* lah yang cenderung dipilih oleh kebanyakan peneliti di Indonesia karena dianggap lebih praktis.<sup>12</sup>



Gambar 2. Gambaran hasil uji diameter zona hambat metode *kirby bauer*.<sup>13</sup>



Gambar 3. Gambaran hasil uji diameter zona hambat metode *well diffusion*.<sup>14</sup>

Walaupun lebih praktis seringkali peneliti kesulitan dalam membaca hasil diameter zona hambat yang terbentuk dari metode *kirby bauer* karena cenderung kecil, berbeda dengan metode sumuran. Berdasarkan hal tersebut maka dirasa perlu dilakukan studi literatur untuk mengetahui metode apa yang paling cocok digunakan dalam menentukan kemampuan aktivitas suatu senyawa antibakteri.

## ISI

## METODE PENELITIAN

Metode penelitian yang digunakan oleh peneliti adalah studi literatur. Data yang digunakan merupakan data sekunder dari berbagai sumber kepustakaan baik jurnal dan buku. Pengumpulan data dengan metode dokumentasi pengumpulan informasi dari tiap literatur yang berkaitan dengan rumusan masalah yang diteliti.<sup>15</sup>

## HASIL PENELITIAN

Dari beberapa hasil studi literatur yang bersumber dari berbagai penelitian, didapatkan data dan hasil penelitian antara lain penelitian Haryati *et al* (2017) yang dilakukan dengan menguji aktivitas antibakteri ekstrak buah alpukat terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan membandingkan metode *kirby bauer* dan *well diffusion*.<sup>16</sup>

Hasil dari penelitian tersebut adalah ekstrak buah alpukat yang diuji dengan menggunakan metode *kirby bauer* pada konsentrasi 10% menghasilkan diameter zona hambat sebesar 16,6 mm, konsentrasi 20% 21,6 mm, konsentrasi 30% 26,8 mm, konsentrasi 40% 28,4 mm, dan konsentrasi 50% sebesar 29,6 mm. Sedangkan untuk metode *well diffusion* dengan ekstrak yang sama menghasilkan diameter zona hambat sebesar 25,4 mm pada konsentrasi 10%, 27,4 mm pada konsentrasi 20%, 28,8 mm pada konsentrasi 30%, 30,2 mm pada konsentrasi 40%, dan 31,2 mm pada konsentrasi 50%. Dapat dilihat pada penelitian ini rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk dengan metode *well diffusion* lebih besar ketimbang metode *kirby bauer*.<sup>16</sup>

Pada penelitian Khusuma *et al* (2019) yang dilakukan dengan menguji aktivitas antibiotik siprofloksasin terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan membandingkan metode kertas saring (*kirby bauer*) dan *well diffusion*. Hasil dari penelitian tersebut adalah antibiotik siprofloksasin yang diuji dengan menggunakan metode *kirby bauer* memiliki rata-rata diameter zona hambat sebesar 62 mm. Sedangkan pada metode *well diffusion* dengan antibiotik yang sama menghasilkan rata-rata diameter zona hambat sebesar 39 mm. Dapat dilihat pada penelitian ini rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk dengan metode *well diffusion* lebih besar ketimbang metode *kirby bauer*.<sup>17</sup>

Pada penelitian Nurhayati *et al* (2020) yang dilakukan dengan menguji aktivitas antibakteri starter yogurt terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan membandingkan metode *kirby bauer* dan *well diffusion*. Hasil dari penelitian terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang diuji menggunakan starter yogurt dengan menggunakan metode *kirby bauer* pada konsentrasi 2% menghasilkan diameter zona hambat sebesar 1,18 mm, konsentrasi 4% 1,13 mm, konsentrasi 6% 1,35 mm, konsentrasi 8% 1,36 mm, dan konsentrasi 10% sebesar 1,35mm.<sup>18</sup>

Untuk metode *well diffusion* dengan ekstrak yang sama terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menghasilkan diameter zona hambat sebesar 1,33 mm pada konsentrasi 2%, 1,36 mm pada konsentrasi 4%, 1,38 mm pada konsentrasi 6%, 1,4 mm pada konsentrasi 8%, dan 1,54 mm pada konsentrasi 10%.<sup>18</sup>

Sedangkan pada uji aktivitas antibakteri starter yogurt terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan membandingkan metode *kirby bauer* dan *well diffusion*. Hasil dari penelitian terhadap bakteri menggunakan starter yogurt dengan menggunakan metode *kirby bauer* pada konsentrasi 2% menghasilkan diameter zona hambat sebesar 0,75 mm, konsentrasi 4% 0,77 mm, konsentrasi 6% 0,78 mm, konsentrasi 8% 0,86 mm, dan konsentrasi 10% sebesar 0,9 mm. Untuk metode *well diffusion* dengan ekstrak yang sama terhadap bakteri *Escherichia coli* menghasilkan diameter zona hambat sebesar 1,09 mm pada konsentrasi 2%, 1,07 mm pada konsentrasi 4%, 1,11 mm pada konsentrasi 6%, 1,03 mm pada konsentrasi 8%, dan 1,21 mm pada konsentrasi 10%.<sup>18</sup>

Dapat dilihat pada penelitian tersebut rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk dengan metode *well diffusion* baik pada bakteri uji *Escherichia coli* maupun *Staphylococcus aureus* lebih besar ketimbang metode *kirby bauer*.<sup>18</sup>

Pada penelitian Nurhamidin *et al* (2021) yang dilakukan dengan menguji aktivitas antibakteri ekstrak n-heksana biji buah langsung terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Klebsiella pneumoniae* dengan membandingkan metode *kirby bauer* dan *well diffusion*. Hasil dari penelitian terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang diuji menggunakan ekstrak n-heksana biji buah langsung dengan menggunakan metode *kirby bauer* pada konsentrasi 10% menghasilkan diameter zona hambat sebesar 13,6 mm, konsentrasi 20% 12 mm, konsentrasi 30% 11,6 mm, dan konsentrasi 40% 9,3 mm.<sup>19</sup>

Untuk metode *well diffusion* dengan ekstrak yang sama terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menghasilkan diameter zona hambat sebesar 13 mm pada konsentrasi 10%, 12 mm pada konsentrasi 20%, 11,6 mm pada konsentrasi 30%, 9,3 mm pada konsentrasi 40%.<sup>19</sup>

Sedangkan pada uji aktivitas antibakteri ekstrak n-heksana terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* dengan membandingkan metode *kirby bauer* dan *well diffusion*. Hasil dari penelitian terhadap bakteri menggunakan ekstrak n-heksana dengan menggunakan metode *kirby bauer* pada konsentrasi 10% menghasilkan diameter zona hambat sebesar 12,6 mm, konsentrasi 20% 12 mm, konsentrasi 30% 11 mm, dan konsentrasi 40% 9 mm. Untuk metode *well diffusion* dengan ekstrak yang sama terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* menghasilkan diameter zona hambat sebesar 14,6 mm pada konsentrasi 10%, 12 mm pada konsentrasi 20%, 10,3 mm pada konsentrasi 30%, 8,6 mm pada konsentrasi 40%.<sup>19</sup>

Dapat dilihat pada penelitian tersebut rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk dengan metode *well diffusion* baik pada bakteri uji *Staphylococcus aureus* maupun *Klebsiella pneumoniae* lebih besar ketimbang metode *kirby bauer*.<sup>19</sup>

Berdasarkan penelitian diatas didapatkan hasil bahwa uji aktivitas antibakteri yang dilakukan dengan metode *well diffusion* memiliki diameter zona hambat lebih besar ketimbang uji aktivitas antibakteri yang dilakukan menggunakan metode *kirby bauer*. Hasil tersebut berlaku pada berbagai jenis bakteri yang diuji seperti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *klebsiella pneumoniae* dan juga bagi macam-macam jenis ekstrak dengan senyawa antibakteri seperti starter yogurt, ekstrak buah alpukat, ekstrak n-heksana biji buah langsung, hingga antibiotik siprifloksasin. Hal ini mengimplikasikan bahwa dari aspek hasil diameter zona hambat yang terbentuk, metode *well diffusion* memang lebih baik dari metode *kirby*.<sup>16-19</sup>

## PEMBAHASAN

Dari literatur yang membandingkan diameter zona hambat uji aktivitas antibakteri antara metode *well diffusion* dan *kirby bauer* didapatkan hasil bahwa diameter zona hambat yang dihasilkan oleh metode uji *well diffusion* lebih besar ketimbang diameter zona hambat yang dihasilkan oleh metode *kirby bauer*.<sup>16-19</sup>

Menurut Hoque dan Ratilla (2011) penyebab metode *well diffusion* lebih baik ketimbang metode *kirby bauer* disebabkan karena pada metode *well diffusion* terjadi proses osmolaritas secara menyeluruh dan lebih homogen, hal tersebut tidak terjadi pada metode uji *kirby bauer*. Osmolaritas yang baik dan menyeluruh pada metode *well diffusion* disebabkan konsentrasi ekstrak ada metode *well diffusion* lebih tinggi disbanding metode *kirby bauer*.<sup>20</sup>

Selain itu menurut Khusuma (2019) pada uji *kirby bauer* tumpukan kertas yang menyusun cakram disk turut memengaruhi besaran diameter zona hambat yang dihasilkan. Semakin tinggi tumpukan kertas maka akan

semakin kecil pula diameter zona hambat yang akan terbentuk. Sedangkan pada metode well diffusion terjadi kontak langsung antara bahan uji/ekstrak senyawa antibakteri dengan media agar yang didalamnya sudah mengandung bakteri, sehingga bahan uji secara langsung terserap dan terjadi kontak secara langsung antara senyawa uji dengan bakteri.<sup>17</sup>

Selain kedua hal diatas yang kemungkinan menjadi penyebab utama perbedaan diameter zona hambat yang dihasilkan dari uji aktivitas antibakteri kedua metode, terdapat hal lain yang yang dapat menyebabkan metode *kirby bauer* menjadi kurang efektif seperti suhu, waktu inkubasi bakteri, komposisi media kuktur, konsentrasi antibakteri, dan populasi dari bakteri tersebut.<sup>21</sup>

## SIMPULAN

Kesimpulan dari studi literatur ini adalah uji aktivitas antibakteri metode *well difussion* terbukti lebih baik dari uji aktivitas antibakteri metode *kirby bauer* apabila dilihat dari besar diameter zona hambat yang terbentuk.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Almasdy D, Deswinar, Helen. Evaluasi penggunaan antibiotika pada suatu rumah sakit pemerintahan di Kota Padang. Prosiding seminar nasional perkembangan terkini sains farmasi dan klinik III 2013. 2013; 7- 15.
2. Agustino L. Dasar-dasar Kebijakan Publik Cetakan kedua. Bandung: Alfa  $\beta$ ; 2008.
3. Brahma D, Marak M, Wahlang J. Rational use of drug and irrational drug combination. The internet journal of pharmacologi. 2012; 10(1).
4. Brahma D, Marak M, Wahlang J. 2012. Rational Use of Drug and Irrational Drug Combination. The Internet Journal of Pharmacologi. 10(1).
5. Jawetz, Melnick, Aldebergs. Mikrobiologi kedokteran. Jakarta: Salemba medika; 2005.

6. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, Approved Standard. Edisi ke-7 ed. CLSI document M02-A11. Clinical and Laboratory Standards Institute. USA; 2012.
7. CLSI. Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts, Approved Guideline. CLSI document M44-A. Clinical and Laboratory Standards Institute. USA; 2004.
8. CLSI. Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Nondermatophyte Filamentous Fungi, Approved guideline, CLSI document M51- A. Clinical and Laboratory Standards Institute. USA; 2010.
9. CLSI, Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically, Approved Standard, 9th ed., CLSI document M07-A9. Clinical and Laboratory Standards Institute Clinical and Laboratory Standards Institute. USA; 2012.
10. CLSI, Reference Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts, Approved Standard Edisi ke-2. NCCLS document M27- A2. Clinical and Laboratory Standards Institute. USA; 2002.
11. CLSI, Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing Filamentous Fungi, Approved Standard. Edisi ke-2 CLSI document M38-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute. USA; 2008.
12. Novita W. Uji aktivitas antibakteri fraksi daun sirih (*Piper Betle* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus Mutans* secara *in vitro*. JMJ. 2016; 4(2): 140 – 55.
13. Balouiri M, Sadiki M, Ibsouda S K. Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. Journal of Pharmaceutical Analysis. 2016; 6: 71–79.
14. Francis S, Koshy E, Mathew B. Microwave Aided Synthesis of Silver and Gold

- Nanoparticles and their Antioxidant, Antimicrobial and Catalytic Potentials. *J Nanostruct.* 2018; 8(1): 55-66.
15. Arikunto dalam Irawati. Metode Pendidikan Karakter Islami Terhadap Anak Menurut Abdullah Nasih Ulwan dalam Buku Pendidikan Anak dalam Islam dan Relevansinya dengan Tujuan Pendidikan Nasional; 2013.
  16. Haryati S D, Darmawati S, Wilson W. Perbandingan ekstrak buah alpukat terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan metode disk dan sumuran. Prosiding seminar nasional publikasi hasil-hasil penelitian dan pengabdian masyarakat Universitas Muhammadiyah Semarang. 2017; 348-52.
  17. Khusuma A, Safitri Y, Yuniarni A, Rizki K. Uji Teknik Difusi Menggunakan Kertas Saring Media Tampung Antibiotik dengan *Escherichia Coli* Sebagai Bakteri Uji. *Jurnal Kesehatan Prima.* 2019; 13 (2): 151-155.
  18. Nurhayati L S, Yahdiyani N, Hidayatulloh A. Perbandingan pengujian aktivitas antibakteri starter yogurt dengan metode difusi sumuran dan metode difusi cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan.* 2020; 1(2): 41-46.
  19. Nurhamidin A P R, Fatimawali, Antasionasti I. Uji aktivitas antibakteri ekstrak n-heksan biji buah langsung AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK N-HEKSAN BIJI BUAH LANGSAT (*Lansium domesticum* Corr) terhadap bakteri *Staphylococcus Aureus* dan *Klebsiella Pneumoniae*. *Pharmacon.* 2021; 10(1): 748-755.
  20. Hoque, M. Ratilla, S. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Betel (*Piper betle* L.) Terhadap Patogen. *Bangladesh Journal Microbiology.* 2011; 28(2). h. 58-63.
  21. Greenwood D, Finch R, Davey P dan Wilcox M. Antibiotics sescepptibility (Sensitivity) test,

antimicrobial and chemotherapy. 5 th revisi edition Oxford University Press; 2003.

