



Teknik Firm Agar untuk Isolasi Bakteri Menjalar

Firm Agar Technique for Isolation of Swarming Bacteria

Eri Dian M, Titiek Djannatun

Department of Microbiology, Faculty of Medicine, YARSI University, Jakarta

KATA KUNCI *Firm agar; Staphylococcus aureus; Proteus mirabilis; Pseudomonas aeruginosa; Swarming*

KEYWORDS *Firm agar; Staphylococcus aureus; Proteus mirabilis; Pseudomonas aeruginosa; Swarming*

ABSTRAK *Infeksi dapat disebabkan satu atau campuran bakteri. Isolasi bakteri dari sampel dibutuhkan media dan teknik yang baik dan selanjutnya dapat dilakukan identifikasi. Permasalahan muncul apabila sampel mengandung bakteri bersifat menjalar yang pertumbuhannya dapat menutupi bakteri lain. Tujuan penelitian ini membuat modifikasi Firm Nutrien Agar Plate (FNAP) dan Firm Agar Darah Plate (FADP) dengan metode yang praktis, efisien dan murah, yang memiliki kemampuan mengisolasi bakteri yang sama dengan media rutin, tetapi menghambat ekspresi menjalar. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif menggunakan isolat Staphylococcus aureus ATCC 25923 sebagai kontrol bakteri yang tidak menjalar dan Proteus mirabilis dan Pseudomonas aeruginosa isolat limbah sebagai bakteri yang mempunyai sifat menjalar. Masing-masing bakteri dibuat suspensi Mc Farland 0,5 kemudian ditanam satu ose pada media rutin dan modifikasi firm agar. Hasil penelitian Staphylococcus aureus yang tumbuh pada FNAP dan FADP jumlah koloni lebih sedikit dan diameter semakin kecil dengan meningkatnya kepadatan media. Proteus mirabilis yang memiliki flagel peritrikih dan Pseudomonas aeruginosa yang memiliki flagel monotrikih, ekspresi menjalar menghilang, morfologi koloni membulat, terpisah dengan meningkatnya kepadatan media. Jumlah koloni yang tumbuh tidak berbeda nyata pada media rutin maupun firm agar. Kesimpulan: Modifikasi firm agar dapat menghilangkan sifat menjalar bakteri tanpa menghambat pertumbuhan bakteri lain, sehingga media tersebut dapat digunakan untuk mengisolasi bakteri dari sampel yang mengandung campuran bakteri. Saran: Perlu peningkatan konsentrasi media FADP untuk memperoleh koloni yang terpisah. Selain itu diperlukan penelitian lanjutan untuk melihat*

kemampuan mengisolasi media dengan menanamkan campuran bakteri yang mempunyai sifat menjalar dan bakteri yang tidak mempunyai sifat menjalar.

ABSTRACT

Infection can be caused by one or a mixture of bacteria. Bacteria isolation from the sample needs a good technique isolation that can to be identified. The problems is if the sample contains spreading bacteria that the growth can cover other bacteria. The purpose of this study is to make modifications method of Firm Nutrient Agar Plate (FNAP) and Firm Blood Agar Plate (FBAP) that were practical, efficient and inexpensive, which have ability to isolate the bacteria and inhibit the spreading expression so they were similar to routine media, but inhibit spreading expression. This research was a descriptive study using isolates of Staphylococcus aureus ATCC 25923 as control bacteria that have no spreading, Proteus mirabilis and Pseudomonas aeruginosa isolate as bacteria that have spreading properties from waste. Each bacteria were suspended equal 0.5 Mc Farland, then were planted using ose on routine media and modification firm agar. The results were the number of the colonies Staphylococcus aureus that growing in FNAP and FBAP became less and its diameter were getting smaller increasing density media. Proteus mirabilis and Pseudomonas aeruginosa as spreading bacteria which had peritrich and monotrich flagellum, did not expressed their swarming capability. The number of colony bacteria that growth in routine and firm agar media were not different significantly. Modifications of firm agar could be used to isolate bacteria from sample containing mixture bacteria because it had has the same isolation capability with routine media. We need to increase FBAP concentration for getting rid of swarming expression.

Infeksi nosokomial banyak terjadi di seluruh dunia dengan kejadian terbanyak di negara miskin dan negara yang sedang berkembang karena penyakit-penyakit infeksi masih menjadi penyebab utamanya. Penelitian yang dilakukan oleh WHO menunjukkan bahwa sekitar 8,7% dari 55 rumah sakit dari 14 negara yang berasal dari Eropa, Timur Tengah, Asia Tenggara dan Pasifik menunjukkan adanya infeksi

nosokomial sebanyak 10,0% (Ducel, 2002). Hasil surveilens nosokomial di Rumah Sakit Umum Pusat Nasional (RSUPN) Dr. Cipto Mangunkusumo, Jakarta, antara tahun 1999 hingga 2002, insiden infeksi nosokomial pada tahun 1999, 2000, 2001 dan 2002 adalah 1,1%; 0,9%; 0,6% dan 0,4%.

Correspondence:

Eri Dian M, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, YARSI University, Jakarta
Email: eri.dian@yarsi.ac.id

Jenis infeksi nosokomial mencakup infeksi kateter, luka operasi, saluran kemih dan saluran pernapasan berkisar antara 0 hingga 5,6%. Bakteri negatif Gram yang merupakan patogen tersering adalah *Pseudomonas sp*, *Enterobakter aerogenes*, *Escherichiae coli*, *Proteus mirabilis* (*P.mirabilis*) dan bakteri positif Gram terdiri dari *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus anhaemoliticus* merupakan patogen tersering (Widodo dan Astrawinata, 2004). Bakteri penyebab infeksi nosokomial tersebut merupakan bakteri yang menjalar dan tidak menjalar.

Pemeriksaan laboratorium mikrobiologi sebagai salah satu pemeriksaan penunjang, perlu dilakukan untuk mendapatkan penyebab suatu penyakit infeksi maupun infeksi nosokomial (diagnosis kausa). Disamping itu pemeriksaan mikrobiologik juga diperlukan untuk menentukan penyebab penyakit yang bersumber dari lingkungan, makanan, dan air. Pemeriksaan laboratorium mikrobiologi meliputi *sampling*, pemeriksaan mikroskopis, isolasi dan kultur, identifikasi, uji kepekaan terhadap berbagai antibiotik, pecobaan hewan, dan serologi (Cheesbrough, 1991; Tortora *et al.*, 2007; Engelkirk and Engelkirk, 2008; Cappuccino and Sherman, 2008). Diagnosis kausa yang baik membutuhkan sampel atau spesimen yang tepat dan baik, teknik isolasi yang baik, dan identifikasi yang tepat.

Penyakit infeksi, infeksi nosokomial, maupun penyakit yang bersumber dari lingkungan, makanan, dan air dapat disebabkan oleh berbagai mikroorganisme.

Permasalahan muncul dalam mengisolasi mikroorganisme penyebab apabila terdiri dari campuran bakteri yang pertumbuhannya bersifat menjalar. Bakteri ini akan menutupi pertumbuhan koloni bakteri yang tidak menjalar, sehingga sulit untuk mengisolasinya. Untuk dapat menegaskan diagnosis kausalis yang baik dari sampel yang kemungkinan terdiri dari campuran bakteri yang pertumbuhannya bersifat menjalar, dibutuhkan teknik isolasi yang baik agar semua bakteri yang kemungkinan ada dalam sampel dapat teridentifikasi sehingga diharapkan tidak ada bakteri yang lepas dari isolasi dan selanjutnya dapat dilakukan identifikasi. Salah satu tahapan yang menunjang isolasi yang baik adalah penggunaan media yang tepat.

Beberapa teknik isolasi untuk bakteri menjalar telah diperkenalkan. Diantaranya dengan pemberian senyawa kimia yang menghambat kemampuan menjalar bakteri pada media padat. Senyawa kimia tersebut adalah etil alkohol dan fenol yang bersifat merusak komponen flagella dari bakteri menjalar. Zat narkotika juga digunakan untuk menghambat motilitas dari bakteri (Floyd dan Dack, 1939). Kemampuan menjalar dari *P.mirabilis* dihambat dengan menggunakan triklosan yang dicampurkan pada media *Mueller Hinton* (MH) agar dan MH agar yang diperkaya dengan darah domba, phenylethanol mampu menghambat motilitas dan sodium azid mampu menghambat pertumbuhan *Proteus sp.*, *predried agar plate* yang mengandung p-nitrophenyl glycerin menghambat kemampuan menjalar tanpa menghilangkan kemampuan

motilitasnya (William, 1973). Peneliti lain menggunakan triklosan untuk isolasi *Campilobacter sp* dan *Bacteroides fragilis* dari sampel feses dari hewan ternak dan domba. Meskipun triklosan sebagai antimikroba karena sifatnya yang menghambat pertumbuhan beberapa mikroorganisme pada feses, triklosan juga mampu menghambat sifat menjalar dari *Proteus sp* (Firehammer, 1987). Kemampuan menjalar dari *Pseudomonas aeruginosa* (*P.aeruginosa*) dapat dihambat dengan beberapa metode diantaranya dengan menggunakan senyawa derivat hydroxyindole and naphthalene (Uora *et al.*, 2015), asam lemak (Inoue *et al.*, 2008), cranberri proanthocianidin and zat-zat tannin (O'May dan Tufenkji, 2011), dan senyawa sintetik peptida kationik (Nunez *et al.*, 2012).

Metode lain untuk menghambat kemampuan menjalar bakteri adalah dengan menggunakan *firm agar*. Penelitian terdahulu menggunakan *firm agar* untuk menghambat kemampuan menjalar dari *Proteus* dan *Clostridium sp*. Pada perkembangannya penggunaan *firm agar* kurang memuaskan karena kegagalan dalam menghambat kemampuan menjalar dan menghambat pertumbuhan bakteri *Clostridium sp* tertentu (Hayward *et al.*, 1977). Media ideal yang bersifat menghambat kemampuan menjalar seharusnya cocok untuk semua bakteri yang bersifat menjalar dan tidak menghambat pertumbuhan bakteri lain hasil isolasi dari sampel campuran yang kemungkinan terdapat bakteri menjalar di dalamnya. Kesulitan dari penggunaan *firm agar* adalah dibutuhkan

pengalaman dari teknisi laboratorium dalam penggunaannya serta persiapan media yang lebih rumit karena dengan menggunakan *firm agar* akan terlihat koloni bakteri yang berbeda dari koloni yang pada umumnya terlihat (Crowley *et al.*, 1969; Smith, 1972 dalam Hayward *et al.*, 1977). Media *firm agar* tersebut dibuat dengan cara membuat media dengan susunan berlapis lapis dan selanjutnya bila telah dilakukan penanaman bakteri maka dilanjutkan dengan diinkubasi secara anaerob (Hayward *et al.*, 1977). Proses pembuatan media tersebut sangat rumit dan membutuhkan waktu yang tidak singkat. Oleh karena itu diperlukan pengembangan teknik atau metode baru *firm agar* untuk isolasi bakteri menjalar yang lebih praktis, efisien, dan murah.

Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan teknik isolasi dengan *firm agar* sehingga diharapkan akan memperoleh media yang sesuai untuk mengisolasi bakteri yang bersifat menjalar tanpa merubah sifat bakterinya dengan metode yang praktis, efisien dan murah.

BAHAN DAN CARA KERJA

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif. Tujuan penelitian adalah melihat kemampuan *media Firm Nutrien Agar Plate* (FNAP) dan *media Firm Agar Darah Plate* (FADP) mengisolasi bakteri yang mempunyai sifat menjalar yang sulit diisolasi dengan media biasa. Data deskripsi morfologi koloni meliputi gambaran diameter, jenis koloni (*Smooth, rough, mukoid* dan *bersulaman*), jumlah koloni, kemampuan membentuk pigmen, dan kemampuan koloni menghemolisis

pada media. Sebagai kontrol adalah media *Nutrien agar plate* (NAP) , media *Agar darah plate* (ADP).

Lokasi penelitian:

Laboratorium mikrobiologi
Fakultas Kedokteran Universitas
YARSI

Waktu:

Januari 2015 sampai dengan Juli 2015

Sampel:

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah Bakteri *Proteus mirabilis* (*P.mirabilis*) isolat dari limbah rumah tangga yang berlokasi di Jakarta Timur, *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) isolat dari limbah rumah tangga yang berlokasi di Jakarta Timur dan kontrol adalah *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) ATCC 25923.

Media:

Media yang digunakan adalah media rutin *Nutrien agar plate* (NAP) , media rutin *Agar darah plate* (ADP) dan media *Firm Nutrien Agar Plate* (FNAP) dan media *Firm Agar Darah Plate* (FADP), Aquades, NaCl fisiologis, media kaldu.

Alat:

Standar McFarland 0,5, alat-alat gelas, tabung reaksi, dan inkubator.

Cara Kerja:

Penelitian ini menggunakan dua bakteri yang bersifat menjalar dan memiliki flagella tipe peritrikih yaitu *P.mirabilis* dan bakteri *P.aeruginosa* yang memiliki flagella monotrikih yang diisolasi dari limbah rumah tangga, dan sebagai kontrol (pembanding) adalah bakteri yang tidak menjalar *S.aureus* ATCC 25923. Masing-masing bakteri dibuat suspensi sesuai standart *McFarland* 0,5, kemudian ditanam pada media ADP rutin, NAP rutin, FNAP, dan FADP secara duplo. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Kemudian dilakukan pengamatan morfologi koloni yang tumbuh pada media tersebut, dan pengecatan Gram.

Analisis Data

Pengumpulan data dilakukan dengan menggunakan data primer. Data yang diperoleh selanjutnya diolah menggunakan perangkat lunak *microsoft excel*.

HASIL

Suspensi bakteri yang bersifat menjalar dan bakteri yang bersifat tidak menjalar (setara dengan standar *Mc Farhland* 0,5) ditanam pada media rutin dan *firm agar* berbagai konsentrasi. Hasil dapat dilihat pada tabel 1, 2, dan 3 di bawah ini.

Tabel 1. Diskripsi Morfologi Koloni *Stapylococcus aureus* Pada Media Nutrien Agar Plate Rutin, Firm Nutrien Agar Plate, Agar Darah Plate Rutin, dan Firm Agar Darah Plate

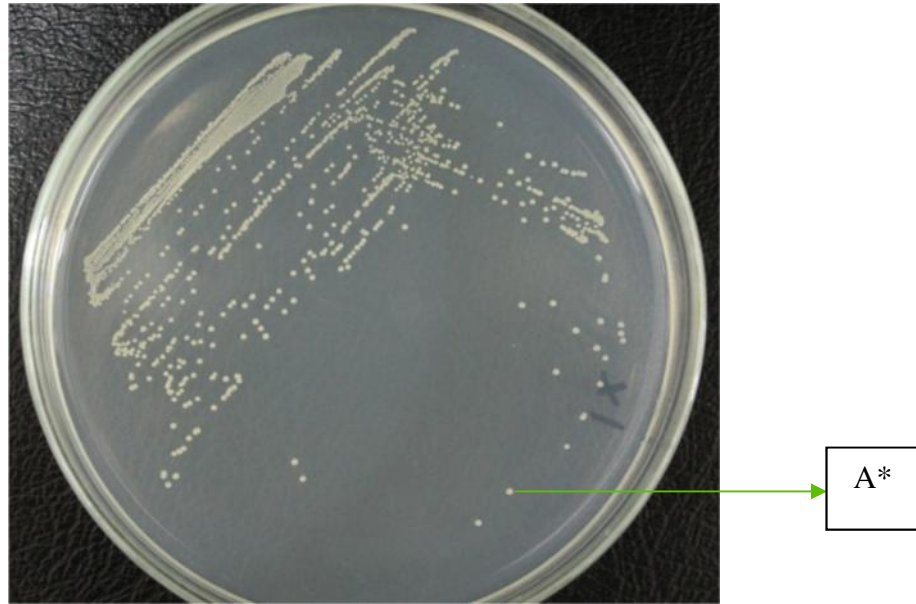
No	Media	Jumlah		Rata-rata	Gambaran bentuk	Tepi	Diameter	Menjalar	Pigmen	Hemolisis
		Plate 1	Plate 2							
1	NAP* rutin	> 200	> 400	> 300	Bulat, kuning, <i>smooth</i>	rata	< 0,1cm - 0,1cm	-	Kuning emas	-
	FNAP** 2x	> 300	> 300	> 300	Bulat, kuning, <i>smooth</i>	rata	< 0,1cm - 0,1cm	-	Kuning emas	-
	FNAP 3x	> 200	> 300	> 250	Bulat, kuning, <i>smooth</i>	rata	< 0,1cm - 0,1cm	-	Kuning emas	-
2	ADP*** rutin	> 200	> 250	> 225	Bulat, <i>smooth</i>	rata	< 0,1cm - 0,2cm	-	Kuning emas	β *****
	FADP*** * 2x	> 250	> 250	> 250	Bulat, <i>smooth</i>	rata	< 0,1cm - 0,2cm	-	Kuning emas	β
	FADP 3x	> 250	> 200	> 225	Bulat, <i>smooth</i>	rata	< 0,1cm - 0,1cm*****	-	Kuning emas	β

Keterangan: NAP*= Nutrient Agar Plate; FNAP = Firm Nutrient Agar Plate; ADP***= Agar Darah Plate; FADP***** = Firm Agar Darah Plate; β ***** = beta; cm***** = sentimeter; > = Lebih besar; < = Lebih kecil.

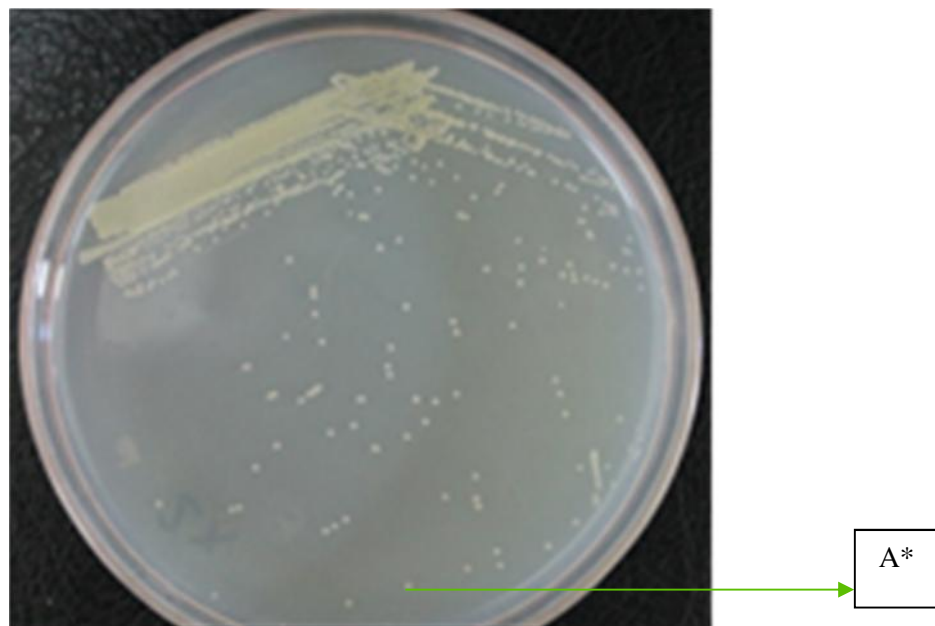
Tabel 1 menunjukkan pertumbuhan bakteri *S. aureus* pada media ADP rutin, NAP rutin, FNAP, dan FADP. Jumlah rerata *S.aureus* yang tumbuh pada media NAP rutin, media FNAP dengan kenaikan pori sampai dengan 2 kali tidak berbeda. Akan tetapi pada media FNAP 3 kali terjadi penurunan jumlah rerata koloni. ; sedangkan jumlah rerata koloni *S.aureus* yang tumbuh pada media ADP

rutin dan FADP lebih baik pada FADP dengan konsentrasi dinaikan 3 kali. Tidak ada perbedaan dalam morfologi koloni yang tumbuh baik pada media rutin maupun pada media *firm* agar.

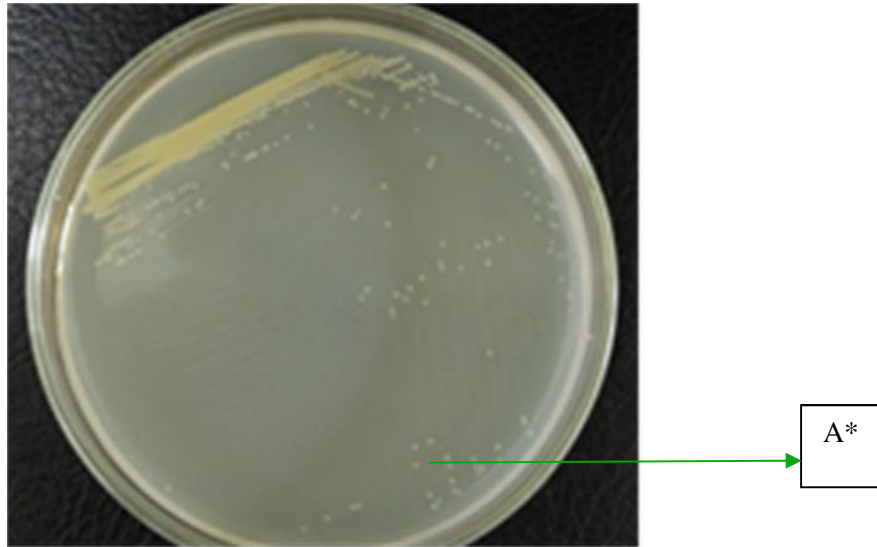
Morfologi koloni yang tumbuh pada media ADP rutin, NAP rutin, FNAP, dan FADP dapat dilihat pada gambar-gambar 1, 2, 3, 4, 5 dan 6 berikut ini.



Gambar 1. Morfologi Koloni *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) Pada Media Nutrien Agar Plate (NAP) rutin
Keterangan: A = Koloni *S.aureus*



Gambar 2. Morfologi Koloni *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) pada Media Firm Nutrien Agar Plate (FNAP) Dengan Konsentrasi Agar Dinaikan 2kali
Keterangan: A = Koloni *S.aureus*



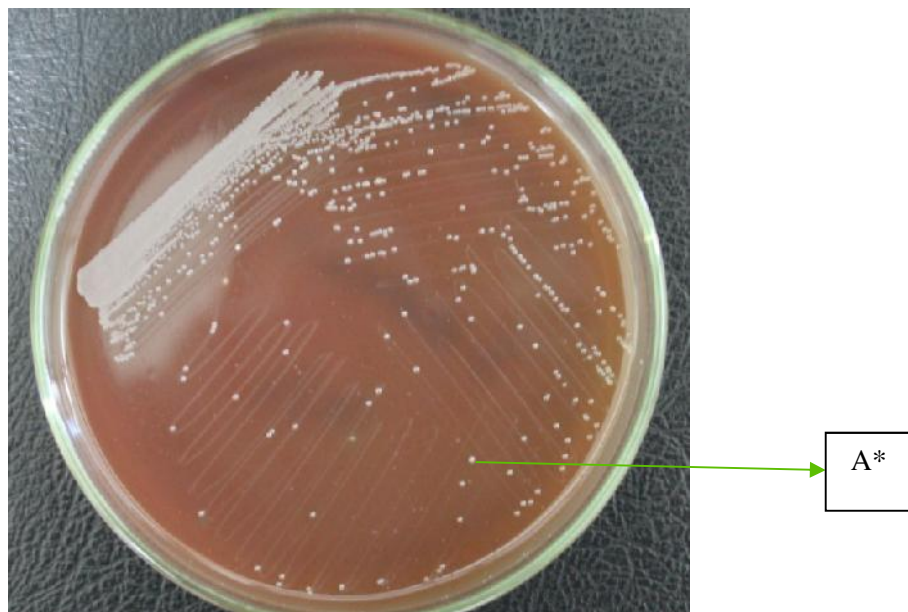
Gambar 3. Morfologi Koloni *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) pada pada Media Firm Nutrien Agar Plate (FNAP) Dengan konsentrasi Agar Dinaikan 3kali.
Keterangan: A = *S.aureus*



Gambar 4. Morfologi Koloni *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) Pada Media Agar Darah Plate (ADP) rutin.
Keterangan: A: Koloni *S.aureus*



Gambar 5. Morfologi Koloni *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) Pada Media Firm Agar Darah Plate (FADP) Dengan Konsentrasi Agar Dinaikan 2 kali.
Keterangan: A = Koloni *S.aureus*



Gambar 6. Morfologi Koloni *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) Pada Media Firm Agar Darah Plate (FADP) Dengan Konsentrasi Agar Dinaikan 3 kali.
Keterangan: A = *S.aureus*

Tabel 2. Diskripsi Morfologi Koloni *Proteus mirabilis* Pada Media Nutrien Agar Plate Rutin, Firm Nutrien Agar Plate, Agar Darah Plate Rutin, dan Firm Agar Darah Plate

No	Media	Jumlah		Rata-rata	Gambaran bentuk	Tepi	Diameter	Menjalar	Pigmen	Hemolisis
		Plate 1	Plate 2							
1	NAP* rutin	> 250	>250	>250	Bulat cembung	Tak rata	<0,2 cm -0,3 cm	+++**	-	-
	FNAP** 2x	>300	>300	>300	Bulat cembung	Tak rata	<0,2 cm -0,3 cm	++**	-	-
	FNAP 3x	>300	>300	>300	Bulat cembung	Tak rata	<0,1 cm -0,1 cm	+	-	-
2	ADP*** rutin	>300	>300	>300	Bulat cembung	rata	<0,1 cm -0,2 cm	+++	-	-
	FADP** ** 2x	>300	>300	>300	Bulat cembung	rata	<0,1 cm -0,2 cm	++	-	-
	FADP 3x	>300	>300	>300	Bulat cembung	rata	<0,1 cm -0,1 cm*****	+	-	-

Keterangan: NAP*= Nutrient Agar Plate; FNAP = Firm Nutrient Agar Plate; ADP***= Agar Darah Plate; FADP**** = Firm Agar Darah Plate; cm***** = sentimeter; > = Lebih besar; < = Lebih kecil.

Tabel 2 menunjukkan pertumbuhan bakteri *P. mirabilis* pada media ADP rutin, NAP rutin, FNAP, dan FADP. Jumlah rerata *P. mirabilis* yang tumbuh pada media NAP rutin lebih sedikit dibandingkan jumlah rerata koloni yang tumbuh pada media FNAP dengan kenaikan pori 2 kali dan 3 kali. Jumlah rerata koloni yang tumbuh pada media FNAP dengan kenaikan pori 2 kali dan 3 kali tidak berbeda. Sedangkan jumlah rerata koloni *P. mirabilis* yang tumbuh pada media ADP rutin, FADP dengan kenaikan pori 2 kali dan 3 kali tidak

berbeda. Tidak ada perbedaan dalam morfologi koloni yang tumbuh baik pada media rutin maupun pada media firm agar. Perbedaan terdapat pada sifat menjalar (*swarming*) dari bakteri. Kemampuan menjalar *P. mirabilis* berkurang pada kenaikan pori 2x dan semakin berkurang pada kenaikan pori 3x tetapi masih tetap menjalar.

Morfologi koloni yang tumbuh pada media ADP rutin, NAP rutin, FNAP, dan FADP dapat dilihat pada gambar 7 sampai dengan gambar 18.



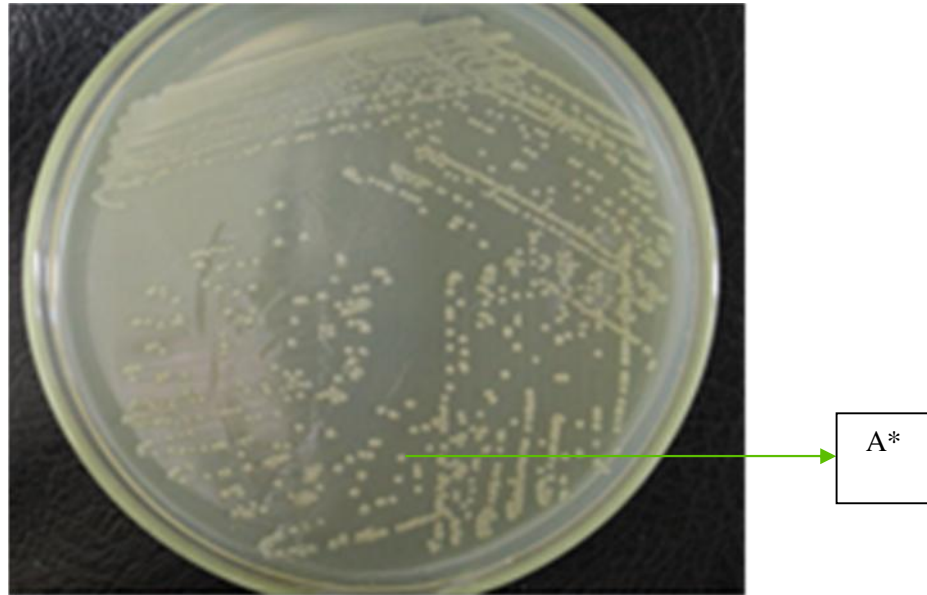
Gambar 7. Morfologi Koloni *Proteus mirabilis* (*P. mirabilis*) Pada Media Nutrien Agar Plate (NAP) rutin

Keterangan: A = Koloni *Proteus mirabilis* dengan sifat menjalar (*swarming*) disekitar koloni

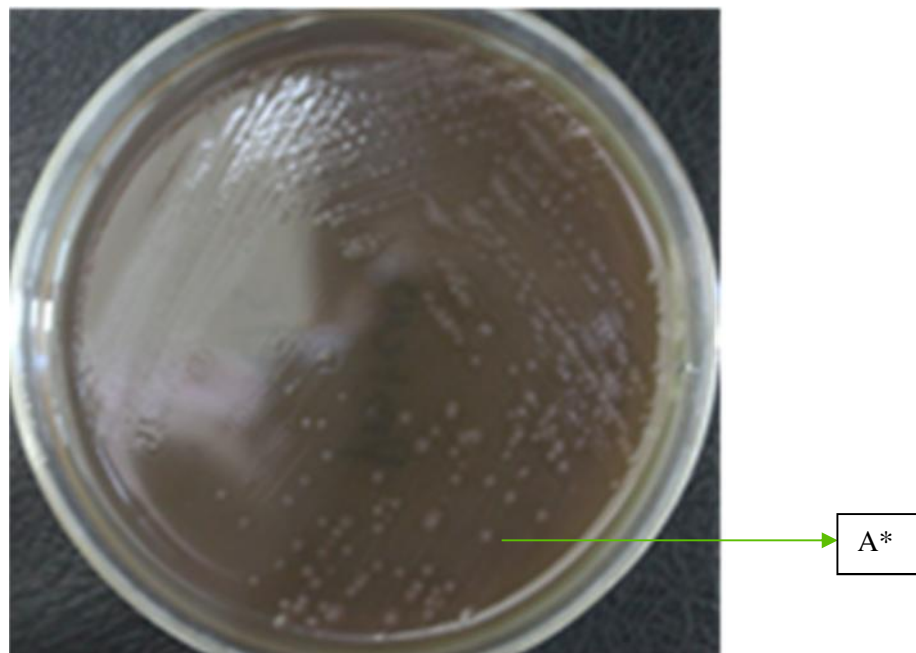


Gambar 8. Morfologi Koloni *Proteus mirabilis* (*P.mirabilis*) Pada Media Firm Nutrien Agar Plate (FNAP) Dengan Konsentrasi Agar Dinaikan 2 kali.

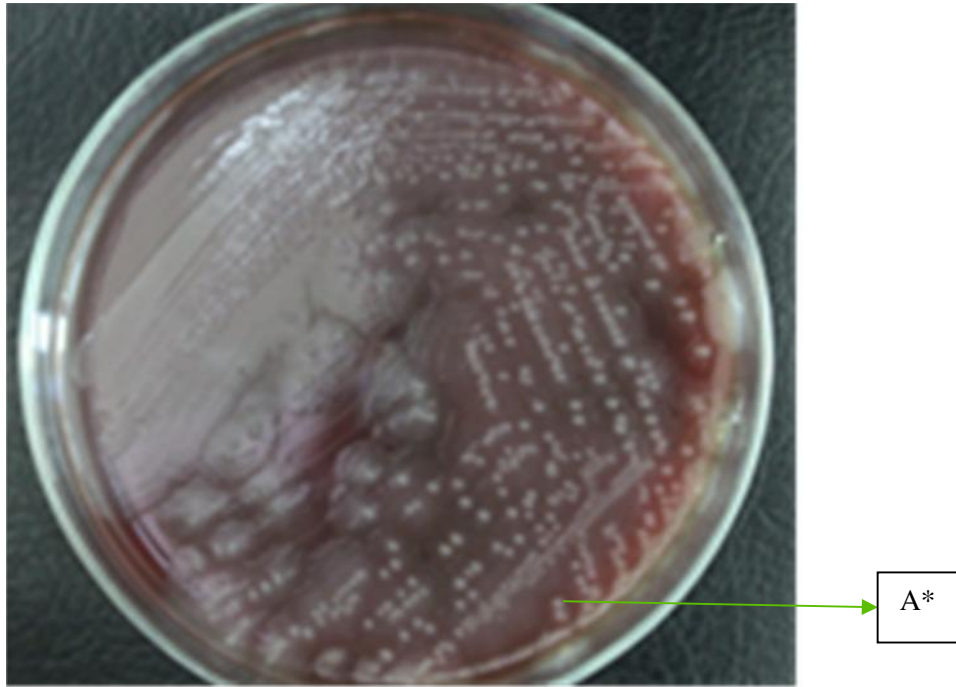
Keterangan: A = Koloni *Proteus mirabilis* dengan sifat menjalar (*swarming*) yang semakin mengecil disekitari koloni



Gambar 9. Morfologi Koloni *Proteus mirabilis* (*P.mirabilis*) Pada Media Firm Nutrien Agar Plate (FNAP) Dengan Konsentrasi Agar Dinaikan 3 kali
 Keterangan: A = Koloni *Proteus mirabilis* dengan bentuk bulat, tepi rata tanpa sifat menjalar (*swarming*)



Gambar 10. Morfologi Koloni *Proteus mirabilis* (*P.mirabilis*) Pada Media Agar Darah Plate (ADP) rutin
 Keterangan: A = Koloni *Proteus mirabilis* dengan sifat menjalar (*swarming*) disekitar koloni dan batas antar koloni tidak jelas



Gambar 11. Morfologi Koloni *Proteus mirabilis* (*P.mirabilis*) Pada Media Firm Agar Darah Plate (FADP) Dengan Konsentrasi Agar Dinaikan 2 kali
 Keterangan: A = Koloni *Proteus mirabilis* dengan sifat menjalar (*swarming*) disekitar koloni dengan batas antar koloni tidak jelas



Gambar 12. Morfologi Koloni *Proteus mirabilis* (*P.mirabilis*) Pada Media Firm Agar Darah Plate (FADP) Dengan Konsentrasi Agar Dinaikan 3 kali.
 Keterangan: A = Koloni *Proteus mirabilis* dengan sifat menjalar (*swarming*) disekitar koloni yang semakin mengecil dan didapatkan koloni yang terpisah

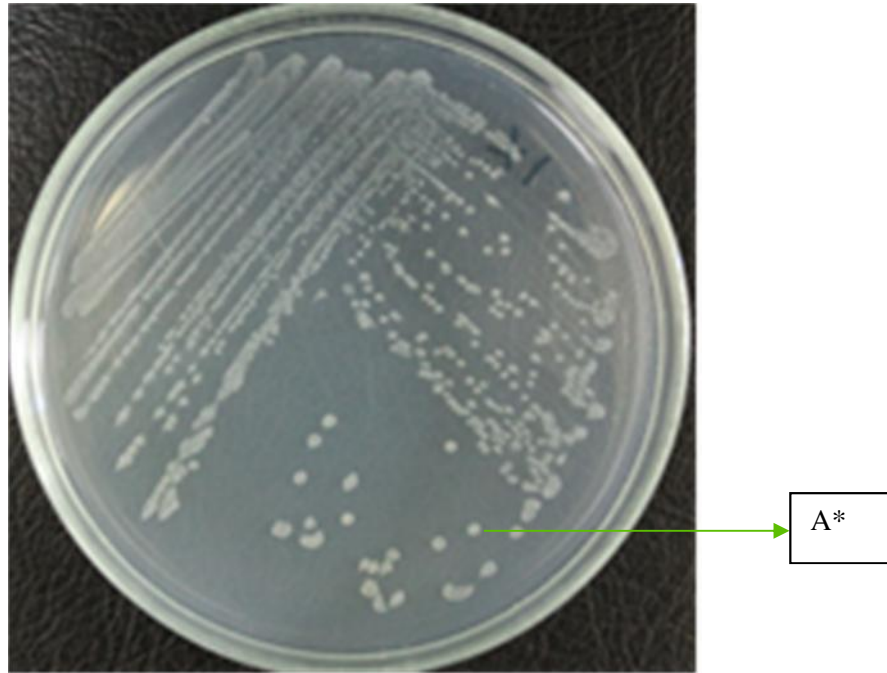
Tabel 3. Deskripsi Morfologi Koloni *Pseudomonas aeruginosa* Pada Media Nutrien Agar Plate Rutin, Firm Nutrien Agar Plate, Agar Darah Plate Rutin, dan Firm Agar Darah Plate

No	Media	Jumlah		Rata-rata	Gambaran bentuk	Tepi	Diameter	Menjalar	Pigmen	Hemolisis
		Plate 1	Plate 2							
1	NAP* rutin	>300	>300	>300	Bulat, <i>rough</i>	Tak rata	<0,1 cm -0,3 cm	+++** *	Hijau larut dalam media	-
	FNAP** 2x	>300	>150	>220	<i>Smooth</i>	Tak rata	<0,1 cm -0,1 cm	+	Hijau larut dalam media	-
	FNAP 3x	> 200	> 300	>250	Bulat, <i>smooth</i>	Tak rata	<0,1 cm -0,1 cm	-	Hijau larut dalam media	-
2	ADP*** rutin	>300	>300	>300	Bulat, abu-abu, <i>smooth</i>	Tak Rata	<0,1 cm -0,4 cm	+++	Hijau	-
	FADP** ** 2x	>300	>300	>300	Bulat, abu-abu, <i>smooth</i>	Tak Rata	<0,1 cm -0,2 cm	+	Hijau	-
	FADP 3x	>300	>300	>300	Bulat, abu-abu, <i>smooth</i>	Tak rata	<0,1 cm -0,1 cm*****	-	Hijau	-

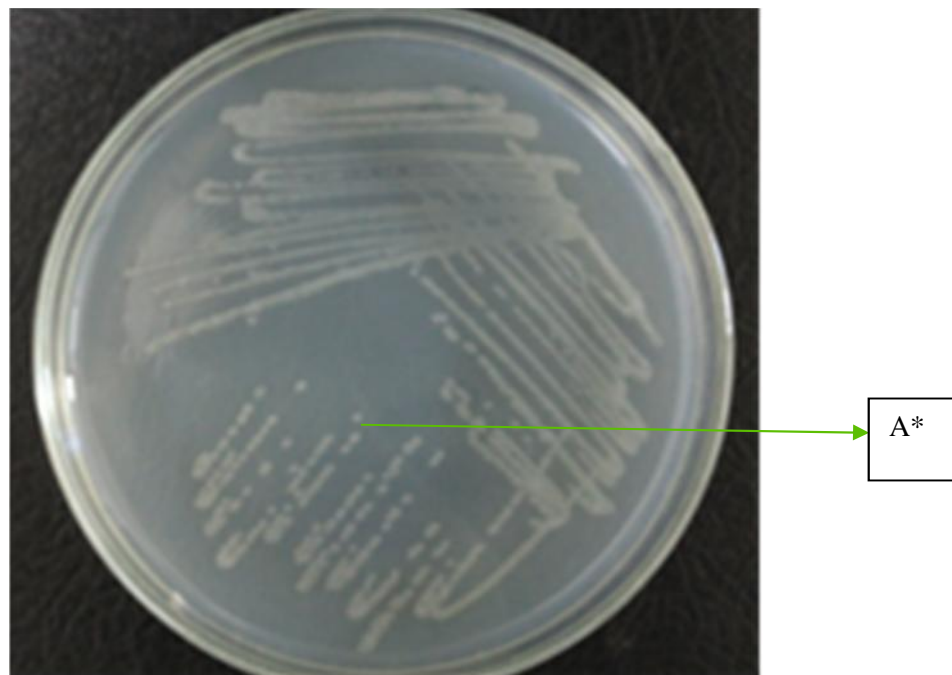
Keterangan: NAP*= Nutrient Agar Plate; FNAP = Firm Nutrient Agar Plate; ADP***= Agar Darah Plate; FADP***** = Firm Agar Darah Plate; cm***** = sentimeter; > = Lebih besar; < = Lebih kecil.

Pada tabel 3 terlihat jumlah rerata *P. aeruginosa* pada FNAP menurun dibanding pada NAP rutin. Dalam hal bentuk, tepi, diameter, pembentukan pigmen dan hemolisis tidak ada perbedaan. Kemampuan menjalar *P. aeruginosa* hilang pada FNAP 3 kali. Pada ADP terlihat jumlah rerata *P. aeruginosa* pada ADP rutin dibanding

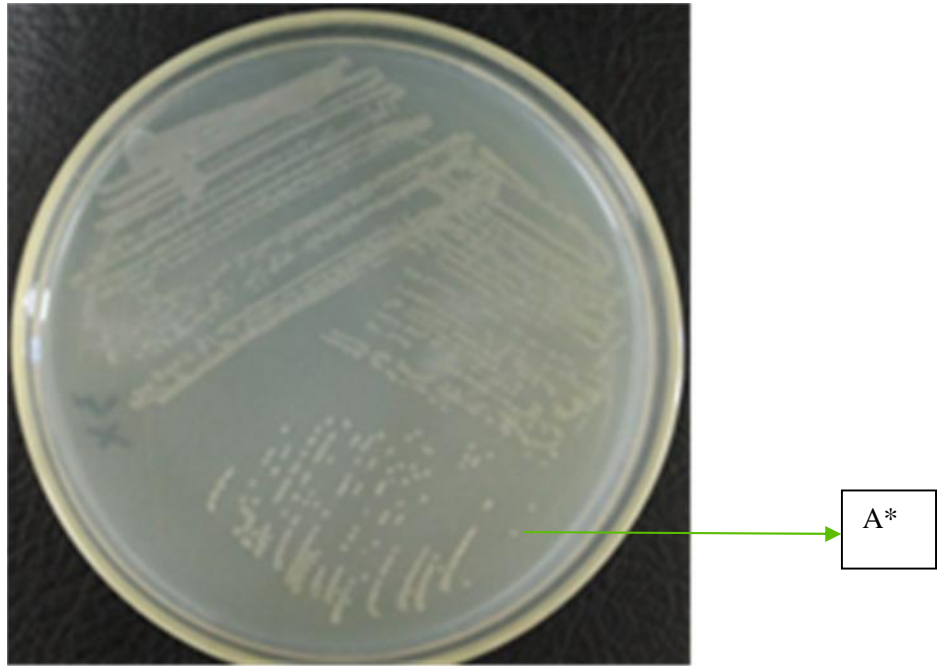
FADP dengan kenaikan pori sampai dengan 2 kali dan 3 kali tidak terdapat perbedaan. Dalam hal bentuk, tepi, diameter, pembentukan pigmen dan hemolisis tidak ada perbedaan. Kemampuan menjalar *P. aeruginosa* pada kenaikan pori FADP 2, kali tampak terhambat dan menghilang pada kenaikan pori FADP 3 kali.



Gambar 13. Morfologi Koloni *Pseudomonas aeruginosa* (*P.aeruginosa*) Pada Media Nutrien Agar Plate (NAP) rutin
 Keterangan: A = Koloni *Pseudomonas aeruginosa* dengan sifat menjalar (*swarming*) disekitar koloni



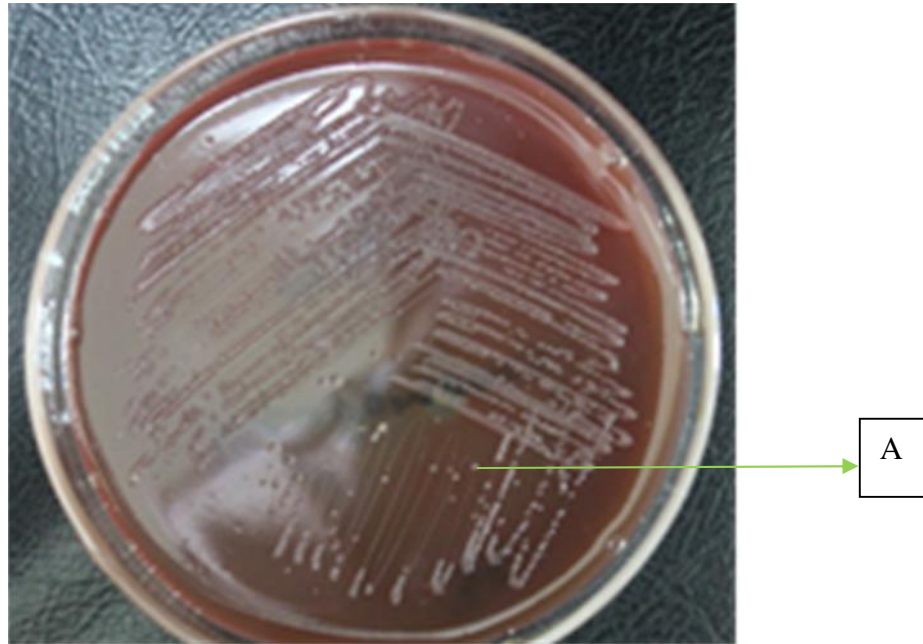
Gambar 14. Morfologi Koloni *Pseudomonas aeruginosa* (*P.aeruginosa*) Pada Media Firm Nutrien Agar Plate (FNAP) Dengan Konsentrasi Agar Dinaikan 2kali.
 Keterangan: A= Koloni *Pseudomonas aeruginosa* dengan sifat menjalar (*swarming*) disekitar koloni mulai mengecil



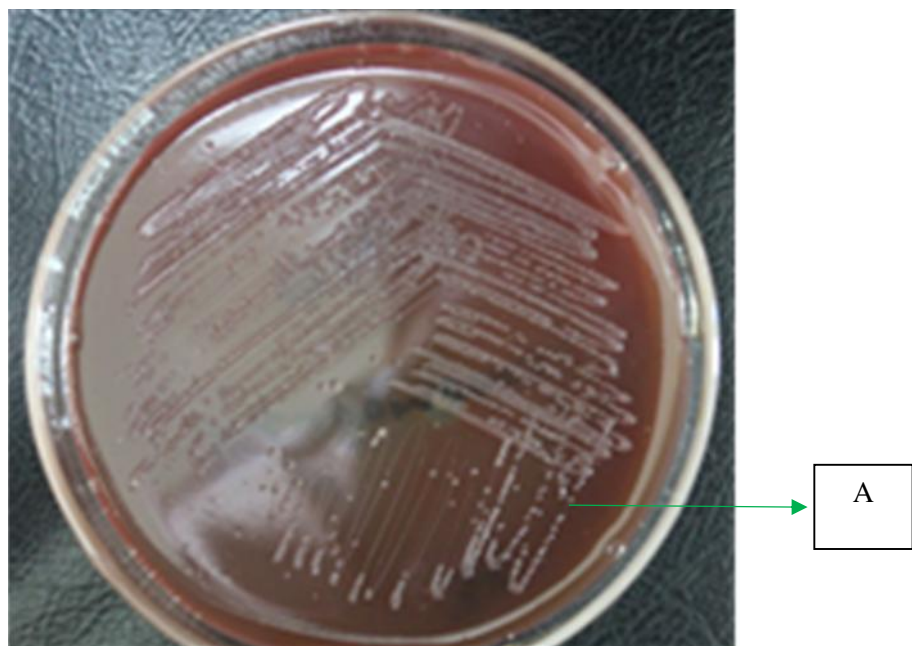
Gambar 15. Morfologi Koloni *Pseudomonas aeruginosa* (*P.aeruginosa*) Pada Media Firm Nutrien Agar Plate (FNAP) Dengan Konsentrasi Agar Dinaikan 3kali.
Keterangan: A: Koloni *Pseudomonas aeruginosa* dengan sifat menjalar (*swarming*) disekitar koloni mulai menghilang dan didapatkan koloni yang terpisah



Gambar 16. Morfologi Koloni *Pseudomonas aeruginosa* (*P.aeruginosa*) Pada Media Firm Agar Darah Plate (ADP) Rutin
Keterangan: A = Koloni *Pseudomonas aeruginosa* dengan sifat menjalar (*swarming*) disekitar koloni



Gambar 17. Morfologi Koloni *Pseudomonas aeruginosa* (*P.aeruginosa*) Pada Media Firm Agar Darah Plate (FADP) Dengan Konsentrasi Agar Dinaikan 2kali.
 Keterangan: A = Koloni *Pseudomonas aeruginosa* sifat menjalar (*swarming*) disekitar koloni mulai mengecil



Gambar 18. Morfologi Koloni *Pseudomonas aeruginosa* (*P.aeruginosa*) Pada Media Firm Agar Darah Plate (FADP) Dengan Konsentrasi Agar Dinaikan 3 kali.
 Keterangan: A = Koloni *Pseudomonas aeruginosa* sifat menjalar (*swarming*) disekitar koloni mulai menghilang dan didapatkan koloni yang terpisah

PEMBAHASAN

Bakteri *S.aureus* yang ditumbuhkan pada FNAP dengan konsentrasi 2 kali dibanding NAP rutin tampak tidak ada perbedaan koloni yang tumbuh dalam hal jumlah, gambaran bentuk, tepi, diameter, pembentukan pigmen dan kemampuan hemolisis. Pada FNAP dengan konsentrasi 3 kali terjadi penurunan jumlah koloni *S.aureus* yang tidak bermakna dibanding pada FNAP konsentrasi 2 kali. Seandainya dilakukan peningkatan konsentrasi FNAP lebih dari 3 kali akan menyebabkan pertumbuhan koloni *S.aureus* makin kecil.

Bakteri *S.aureus* yang ditumbuhkan pada FADP dibanding ADP rutin tampak koloni *S.aureus* pada FADP dengan konsentrasi 2 kali dan 3 kali tidak berbeda dalam hal jumlah, gambaran bentuk, tepi, dan pembentukan pigmen, akan tetapi pada FADP dengan konsentrasi 3 kali terlihat diameter koloni *S.aureus* makin kecil dibanding pada ADP rutin dan FADP dengan konsentrasi 2 kali. Oleh karena itu seandainya konsentrasi FADP dinaikkan lebih dari 3 kali koloni *S.aureus* makin kecil sehingga makin menghilang.

Penggunaan metode *firm agar* untuk menumbuhkan bakteri *P. mirabilis*, tampak koloni *P. mirabilis* pada pada FNAP terlihat koloni *P. mirabilis* tidak berbeda dalam hal jumlah, pembentukan pigmen dan kemampuan hemolisis dibanding pada NAP rutin. Diameter dan kemampuan menjalar koloni terlihat semakin berkurang pada FNAP dengan konsentrasi 2 kali dan 3 kali tetapi gambaran menjalar belum benar-benar hilang (Gambar 7,8 dan 9). Oleh karena

itu untuk mendapatkan koloni *P. mirabilis* yang benar-benar terpisah maka konsentrasi FNAP perlu dinaikkan diatas 3 kali.

Gambaran bentuk koloni *P. mirabilis* pada Agar Darah Plat (ADP) rutin menunjukkan bahwa koloni yang semula batasnya tidak jelas antar koloni karena ekspresi sifat menjalar (*swarming*) menjadi semakin jelas batas antar koloninya, karena ekspresi sifat menjalar (*swarming*) yang semakin menghilang terutama pada FADP 3 kali dibanding FADP 2 kali (Gambar 10,11 dan 12). Morfologi koloni semakin ke arah bulat dengan masih tampak sedikit gambaran menjalar. Untuk mendapatkan koloni *P. mirabilis* tanpa adanya gambaran menjalar pada FADP maka konsentrasi FADP perlu dinaikkan diatas 3 kali. Penggunaan metode *firm agar* untuk menumbuhkan bakteri *P.aeruginosa*, tampak koloni *P.aeruginosa* pada FNAP terlihat tidak berbeda dibanding pada *Nutrient Agar Plate* (NAP) rutin, dalam hal pembentukan pigmen dan kemampuan hemolisis.

Gambaran yang berbeda antara koloni *P.aeruginosa* pada FNAP dibanding dengan koloni pada NAP rutin, terlihat dalam hal jumlah koloni, gambaran koloni, diameter dan kemampuan menjalar. Diameter dan kemampuan menjalar terlihat semakin berkurang pada FNAP dengan konsentrasi 2 kali dan 3 kali dibanding NAP rutin. Gambaran bentuk koloni *P.aeruginosa* pada NAP rutin terlihat koloni yang batasnya tidak jelas antar koloni, dengan sifat menjalar. Gambaran koloni *P.aeruginosa* pada FNAP menunjukkan batas antar koloni semakin jelas, sifat menjalar semakin berkurang terutama pada FNAP 3 kali dibanding FNAP 2x (Gambar 13 dan

14). Koloni bulat dan sifat menjalar telah hilang (gambar 15). Gambaran bentuk koloni *P.aeruginosa* pada ADP rutin terlihat koloni yang semula batasnya tidak jelas antar koloni karena sifat menjalar, maka pada pada FADP tampak batas antar koloni *P.aeruginosa* semakin jelas, karena sifat menjalar semakin berkurang terutama pada FADP 3x dibanding FADP 2x (Gambar 16, 17 dan 18) sehingga terlihat bentuknya semakin ke arah bulat dan benar-benar tidak tampak sifat menjalar pada FADP sehingga makin terlihat lebih banyak koloni terpisah.

Diameter koloni bakteri makin berkurang pada media *firm agar* karena dipengaruhi oleh beberapa faktor pada lingkungan media tersebut. Semakin tinggi konsentrasi, media akan semakin padat dan pori media semakin kecil. Hal ini menyebabkan terhambatnya pertumbuhan koloni, sehingga diameter koloni pada media *firm agar* mengecil. Kenaikan konsentrasi media juga mengakibatkan kandungan air pada media menjadi berkurang. Hal ini mengakibatkan ekspresi sifat menjalar hilang. Selain itu kandungan air pada permukaan media juga harus diminimalkan, karena sifat menjalar akan tetap terekspresi apabila masih ada kandungan air pada permukaan media (kondensasi air). Untuk mengatasinya maka sebelum menanam bakteri pada media *firm agar*, harus dilakukan proses pengeringan permukaan media dengan tujuan untuk mengurangi tingkat embun media (kondensasi air). Perlakuan pengeringan dari kondensasi air pada modifikasi media *firm agar* bertujuan sama dengan metode penelitian sebelumnya dengan menggunakan *dry plates* (Whitby, 1945) sehingga kemampuan menjalar *P.mirabilis* dan

Proteus vulgaris tidak terekspresi. Akan tetapi cara yang dilakukan sebelumnya lebih rumit.

Ukuran *swarming* semakin mengecil karena ukuran pori yang kecil, cairan dan embun (kondensasi air) yang berkurang dan koloni yang tumbuh jumlahnya tidak berbeda, hal ini menandakan kemampuan isolasinya baik (sama dengan media rutin).

Pada konsentrasi FNAP 3 kali kemampuan menjalar sudah hilang pada bakteri *P. aeruginosa*, sedangkan pada bakteri *P. mirabilis* masih sedikit terlihat. Hal ini kemungkinan disebabkan adanya perbedaan motilitas pada bakteri yang memiliki flagel *single polar* seperti *P.aeruginosa* dan bakteri yang memiliki flagel peritrikh seperti *P. mirabilis*. Terlihat adanya perbedaan hambatan *swarming* dikaitkan dengan tipe flagel. Pada konsentrasi FADP 3 kali kemampuan *swarming* pada *P. mirabilis* masih tampak sedangkan *P.aeruginosa* sudah tidak terlihat gambaran *swarming*.

Aansten dan Gastra (1999) membuat media untuk mengisolasi bakteri menjalar dengan cara menambahkan zat yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri lain seperti triklosan, *p*-nitrophenil-gliserin, carcoal, dan urea atau etanol (Hernandez *et al.*, 1999). Modifikasi *firm agar* pada penelitian ini tidak mengubah kemampuan isolasi media. Modifikasi *firm agar* mempunyai kemampuan menghilangkan ekspresi menjalar dari bakteri, sehingga dengan tidak terekspresinya sifat menjalar pada media maka apabila media *firm agar* ini digunakan untuk mengisolasi bakteri dari spesimen atau sampel, akan mampu menumbuhkan semua bakteri yang ada pada spesimen maupun sampel dengan tumbuhnya koloni yang

terpisah. Modifikasi media *firm agar* ini dapat dipakai untuk isolasi kasus sampel limbah maupun kasus infeksi yang terdiri dari bakteri campuran.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Modifikasi *firm Nutrient Agar Plate* (FNAP) dan *firm Nutrient Agar Darah Plate* (FNADP) dapat menghilangkan ekspresi menjangar bakteri tanpa menghambat pertumbuhan bakteri lain yang tidak mempunyai sifat menjangar. Media tersebut dapat dan baik digunakan untuk mengisolasi bakteri dari sampel yang mengandung campuran bakteri. Penelitian ini berhasil mendapatkan modifikasi *firm Nutrient Agar Plate* (FNAP) dan *firm Nutrient Agar Darah Plate* (FNADP) yang pembuatannya mudah, praktis, dan murah.

Saran

Perlu peningkatan konsentrasi media *firm Nutrient Agar Darah Plate* (FNADP) satu kali lagi sehingga diperoleh koloni yang terpisah terutama untuk sampel yang mengandung bakteri yang memiliki flagel peritrikh. Selain itu diperlukan penelitian lanjutan untuk melihat kemampuan mengisolasi media dengan menanamkan campuran berbagai bakteri.

Ucapan Terima kasih

Penelitian ini terselenggara berkat dukungan dana dari program penelitian Hibah Internal Yayasan Yarsi. Penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada Yayasan YARSI, Rektor, Wakil Rektor II dan segenap Pimpinan Rektorat dan Dekanat Fakultas Kedokteran Universitas Yarsi.

KEPUSTAKAAN

- Cappuccino JG, and Sherman NJ 2008. *Microbiology: A Laboratory Manual*, 8th Edition. SUNY, Rockland Community College.
- Cheesbrough M 1991. *Medical laboratory Manual for Tropical Countries. Introduction to Microbiology*. Vol.II :2-15.
- Crowley N, Bradley JM, and Darrell JH, 1969. *Practical Bacteriology*, London, p.97.
- Ducel G, Fabry J, dan Nicolle L, 2002. *Prevention of hospital-acquired infections, A practical guide*. [Http://www.who.int/emc](http://www.who.int/emc). Diunduh 20-12-2013.
- Engelkirk PG and Engelkirk JD 2008. *Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Essentials of Diagnostic Microbiology. Organization and Responsibility of Clinical Microbiology Laboratory*. Lippincott Williams & Wilkins. Pp:71-75.
- Firehammer BD 1987. *Inhibition of Growth and Swarming of Proteus mirabilis and Proteus vulgaris by Triclosan*. *Journal of Microbiology*, 25 (7); 1312-1313.
- Floyd TM, dan Dack GM 1939. *The isolation of Bacterium necrophorum in the presence of Proteus*. *J.Infectious Diseases*, 64, 269-72.
- Hayward N, Incledon G, dan Sprang J 1977. *Effect of Firm Agar On The Swarming of Proteus and Clostridium Species and The Colonies Of Clinically Important Bacteria*. *J.Med.Microbiol*, 11.
- Hernandez E, Ramisse F, dan Carallo J 1999. *“Abolition of swarming of Proteus”*. *J.Clin.Microbiol*, 37 ;3435-38.
- Inoue T, Shingaki R, dan Fukui K 2008. *Inhibition of swarming motility of Pseudomonas aeruginosa by branched-chain fatty acids*. *FEM Microbiology letters*. Vol 281 (81-86).
- Núñez CF, Korolik V, Bains MB, Nguyen AU, Breidenstein CEBM, Horsman AS, Lewenza SD, *et al.*, 2012. *Inhibition of*

- Bacterial Biofilm Formation and Swarming Motility by a Small Synthetic Cationic Peptide. *Journal ASM.org*. Vol.56 (5) ; 2696-2704.
- O'May C, dan Tufenkji N 2011 . The swarming motility of *Pseudomonas aeruginosa* is blocked by cranberry proanthocyanidins and other tannin-containing materials. *Appl Environ Microbiol*,77(9):3061-7.
- Oura H, Tashiro Y, Toyofuku M, Ueda K, Kiyokawa, Ito S, Takahashi Y, *et al.*, 2015. Inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* Swarming Motility by 1-Naphthol and Other Bicyclic Compounds Bearing Hydroxyl Groups. *Journal ASM.org*. Vol.81 (8) ; 2808-2811.
- Smith DG 1972. The *Proteus* swarming phenomenon. *Sci. Prog., Lond.*,60,487.
- Tortora GJ, Funke BR, dan Case CL 2007. *Microbiology: An Introduction with Microbiology*. 10th Edition. PART ONE Fundamentals of Microbiology,8-25.
- Whitby L. *Medical Microbiology*, Churchill and A Churchill, London, 1945. Cited by: Hernandez, E., Ramisse, F., dan Carallo, J., 1999. "Abolition of swarming of *Proteus*". *J.Clin.Microbiol*, 37 ;3435-38.
- Widodo D, dan Astrawinata D 2004. Surveillance of nosocomial infections in Dr.Cipto Mangunkusumo National General Hospital Jakarta,1999-2002. *Med.J.Indonesia*, 13(2): 107-112.
- Williams FD 1973. Abolition of Swarming of *Proteus* by p-Nitrophenyl Glycerin: General Properties. *Applied Microbiology*,25(5);745-47.