

POLA KEPEKAAN ANTIBIOTIK ISOLAT BAKTERI ENTEROBACTERIACEAE KONTAMINAN PADA SIKAT GIGI

Titi Lasmini¹, Trisna Anisha²

^{1,2} Program Studi Diploma III Analis Kesehatan, Akademi Kesehatan John Paul II pekanbaru, Indonesia

Correspondence author: lasmini.titi@akjp2.ac.id

ABSTRACT

A toothbrush is a dental instrument used to maintain oral hygiene by removing bacteria on the surface of the teeth. Toothbrushes can be contaminated by Enterobacteriaceae from the bathroom environment and cause reinfection in the oral cavity. The purpose of this study was to determine the antibiotic susceptibility pattern of Enterobacteriaceae isolated from toothbrushes after 5 weeks of use. Bacteria were isolated on MacConkey agar and identified based on biochemical reaction tests. The antibiotic susceptibility test (Chloramphenicol, Gentamicin, Streptomycin, Ofloxacin, and Tetracycline) of the bacterial isolates was carried out by Kirby-Bauer disk diffusion method. Isolation of bacteria from toothbrushes on MC medium obtained Klebsiella sp, Escherichia coli, Serratia marcescens, and Enterobacter sp. The results of the antibiotic sensitivity test showed that Enterobacter sp. were sensitive to all of the antibiotics tested, while the other isolates had variations in the susceptibility pattern to the various antibiotics. Ofloxacin was the only tested antibiotic that can inhibit all bacterial isolates

Keywords: Antibiotic, Susceptibility test, Kirby-Bauer, Enterobacteriaceae, Toothbrush.

ABSTRAK

Sikat gigi merupakan alat yang digunakan untuk menjaga kebersihan mulut dengan cara menghilangkan bakteri pada permukaan gigi. Sikat gigi dapat terkontaminasi oleh Enterobacteriaceae berasal dari lingkungan kamar mandi dan menyebabkan terjadinya reinfeksi pada rongga mulut. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pola kepekaan antibiotik bakteri Enterobacteriaceae yang diisolasi dari sikat gigi setelah 5 minggu pemakaian. Bakteri diisolasi pada media MacCOnkey agar dan diidentifikasi dengan uji reaksi biokimia. Uji kepekaan antibiotik (Kloramfenikol, Gentamisin, Streptomisin, Ofloksasin, dan Tetrasiklin) terhadap isolat bakteri dilakukan dengan metode difusi cakram Kirby-Bauer. Isolasi bakteri dari sikat gigi pada media MC agar diperoleh Klebsiella sp, Escherichia coli, Serratia marcescens, dan Enterobacter sp. Hasil uji kepekaan antibiotik menunjukkan bahwa Enterobacter sp. sensitif terhadap seluruh antibiotik yang diujikan, sedangkan isolat lainnya memiliki variasi pola kepekaan terhadap berbagai antibiotik. Ofloxacin adalah satu-satunya antibiotik uji yang dapat menghambat seluruh isolate bakteri.

Kata Kunci: Antibiotik, Uji kepekaan, Kirby-Bauer, Enterobacteriaceae, Sikat gigi.

PENDAHULUAN

Rongga mulut merupakan salah satu bagian dari tubuh yang ditumbuhki oleh banyak jenis bakteri karena memiliki temperatur dan tingkat kelembaban yang mendukung untuk perkembangbiakan bakteri. Rongga mulut perlu dibersihkan secara berkala agar kesehatannya tetap terjaga salah satunya adalah dengan membersihkan permukaan gigi. Metode yang paling efektif untuk menghilangkan bakteri pada permukaan gigi adalah dengan menyikat gigi (Kim et al., 2018). Sikat gigi adalah alat yang terdiri atas gagang plastik dan bulu-bulu sikat terbuat dari nilon yang melekat pada bagian kepala sikat. Meskipun sikat gigi berfungsi dalam menjaga kebersihan mulut, namun sikat gigi juga dapat berperan dalam transmisi penyakit karena sikat gigi dapat menjadi reservoir bagi berbagai mikroorganisme (Imarenezor et al., 2019).

Bakteri yang berasal dari rongga mulut dapat menempel, bertahan hidup dan berkembangbiak pada sikat gigi (Bunetel et al., 2000). Kontaminasi bakteri pada sikat gigi selain berasal dari rongga mulut dapat pula bersumber dari lingkungan kamar mandi, aerosol toilet, wadah penyimpanan sikat gigi, air dan lain-lain (Bello et al., 2013). Adanya bakteri kontaminan pada sikat gigi kemudian dapat menyebabkan reinfeksi rongga mulut dan gigi oleh bakteri patogen, kemudian dapat menyebar ke seluruh bagian tubuh dan menyebabkan berbagai masalah kesehatan seperti endocarditis, artritis, bakterimia, stroke dan lain-lain (Warren et al., 2001; Sammons, Kaur and Neal, 2004). Hasil penelitian (Contreras et al., 2010) menunjukkan bahwa bakteri dari kelompok Enterobacteriaceae dan Pseudomonadaceae dapat hidup pada sikat gigi dan tumbuh pada kultur sikat gigi dari pasien yang mengalami destruktif periodontitis.

Pemberian antibiotik profilaksis pada orang yang beresiko seperti pada pasien yang menjalani perawatan gigi merupakan penatalaksanaan yang umum dilakukan oleh klinisi. Pemberian antibiotik tersebut dapat menurunkan prevalensi dan tingkat bakterimia (Cook et al., 2008). Namun hal tersebut juga menunjang terjadinya perubahan pola resistensi bakteri terhadap antibiotik. Oleh karena itu pola kepekaan antibiotik yang dimiliki oleh bakteri pathogen penyebab infeksi sangat diperlukan sebagai informasi untuk menentukan pemilihan antibiotik yang tepat dalam terapi (Prakasam, Elavarasu and Natarajan, 2012). Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengidentifikasi bakteri dan mengetahui pola kepekaan antibiotik isolat bakteri Enterobacteriaceae yang berasal dari sikat gigi yang telah digunakan selama 5 minggu.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat-alat gelas (petridish, tabung reaksi, erlenmeyer, gelas ukur), kapas lidi steril, jangka

sorong, bunsen, ose, pinset, Inkubator (memmert UN55), Oven (memmert UN55), Autoclave (GEA), timbangan analitik (Ohaus), dan laminar air flow. Bahan-bahan yang digunakan yaitu kultur bakteri Enterobacteriaceae kontaminan sikat gigi, media Mueller Hinton Agar, larutan standar 0,5 MacFarland (BaCl_2 1% + H_2SO_4 1%), aquadest, NaCl 0,9%, dan cakram antibiotik (Streptomycin, Tetracycline, Chloramphenicol, Clindamycin, Ofloxacin, dan Gentamicin).

Pengumpulan Sampel

Penelitian ini melibatkan 10 orang mahasiswa Akademi Kesehatan John Paul II pekanbaru sebagai partisipan. Setiap orang mendapatkan 1 sikat gigi baru dan diinstruksikan untuk menggunakan sikat gigi tersebut selama 5 minggu. Setelah periode tersebut sikat gigi dikumpulkan kembali, dimasukkan ke dalam plastik klip dan dibawa ke laboratorium.

Isolasi Bakteri

Sikat gigi dipotong pada bagian kepalanya dengan gunting secara aseptis kemudian direndam dalam 10 mL larutan NaCl 0,9% selama 60 menit, lalu di vortex 1 menit agar bakteri terlepas. Suspensi bakteri diencerkan hingga pengenceran 10^{-3} , lalu dipipet 0,1 mL dari masing-masing pengenceran dan diinokulasikan pada media MacConkey agar dengan metode cawan sebar. Petri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Isolat bakteri yang diperoleh dipurifikasi dan diidentifikasi dengan uji reaksi biokimia (Bello et al., 2013).

Uji Kepekaan Antibiotik

Uji kepekaan antibiotik dilakukan dengan metode difusi cakram Kirby-Bauer. Kultur murni isolat bakteri Enterobacteriaceae pada media MacConkey agar berusia 24 jam diambil dengan ose kemudian disuspensikan pada larutan garam fisiologis 0,9%. Kekeruhan suspensi bakteri dibandingkan dan disetarakan dengan kekeruhan laruhan standar 0,5 MacFarland. Kapas lidi steril kemudian dicelupkan kedalam suspensi bakteri hingga meresap sempurna. Kapas lidi diperas dengan cara ditekan-tekan pada dinding tabung reaksi untuk mengurangi kelebihan cairan, kemudian diulas pada permukaan media Mueller Hinton agar hingga merata. Media dibiarkan hingga seluruh suspensi terserap kedalam media dan permukaan media tampak kering. Cakram antibiotik uji diambil dengan pinset steril kemudian diletakkan pada permukaan media dan diberi jarak ± 15 mm antar cakram, lalu diinkubasi didalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter zona hambat yang terbentuk diukur dengan jangka sorong dan dicatat. Kepekaan bakteri (sensitif, intermediet, resisten) ditentukan dengan membandingkan hasil pengukuran zona hambat yang diperoleh dengan standar pada CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (CLSI 2019).

PEMBAHASAN

Isolasi bakteri kontaminan sikat gigi pada media MacConkey diperoleh 11 isolat bakteri yang terdiri dari bakteri Klebsiella sp (6 isolat), Escherichia coli (3 isolat), Serratia marcescens (1 isolat), dan Enterobacter sp (1 isolat). Penelitian Mansoori et al. (2018) juga menemukan bahwa Klebsiella sp adalah bakteri paling banyak ditemukan pada sikat gigi yang telah digunakan dan ditemukan pula E. coli. Jenis-jenis bakteri kontaminan pada sikat gigi yang ditemukan pada penelitian ini ditemukan juga pada penelitian Oluwole and Olumuyiwa (2016) yang menemukan bakteri Klebsiella spp. Enterobacter cloacae dan Serratia marcescens.

Bakteri Enterobacteriaceae merupakan bakteri flora normal pada saluran cerna, dan bukan merupakan flora normal pada rongga mulut. Adanya bakteri Enterobacteriaceae yang ditemukan pada sikat gigi, menunjukkan adanya kemungkinan bahwa sikat gigi telah mengalami kontaminasi dari aerosol di kamar mandi. Bakteri kontaminan pada sikat gigi berpotensi membentuk koloni pada rongga mulut melalui mikro-trauma yang mungkin timbul pada saat menyikat gigi atau reinfeksi pada rongga mulut dan menjadi faktor resiko terjadinya penyakit periodontal (Samuel and Ifeanyi, 2015).

Uji kepekaan antibiotik dilakukan terhadap isolat bakteri yang diperoleh dengan metode Kirby-Bauer. Metode Kirby-Bauer merupakan metode uji antibiotik yang memiliki prinsip difusi cakram. Pada metode ini antibiotik dalam cakram akan bersifusi kedalam agar di sekeliling cakram sehingga menyebabkan terbentuknya penghambatan pertumbuhan bakteri yang tampak sebagai zona bening (Gambar 1).



Gambar 1. Hasil uji kepekaan antibiotik dengan metode Kirby-Bauer.

Besaran zona hambat yang terbentuk di sekeliling cakram antibiotik menjadi standar untuk menentukan kepekaan bakteri yaitu sensitif, intermediet dan resisten mengacu pada CLSI yang dinyatakan dalam satuan milimeter (mm). Standar dari setiap jenis antibiotik berbeda-beda terhadap suatu bakteri dikarenakan perbedaan difusi dan sifat kelarutan zat antibiotik dalam media, perbedaan berat molekul dari senyawa antibiotik, dan metabolisme pertahanan bakteri (Refdanita et al., 2004). Rata-rata diameter

zona hambat antibiotik terhadap isolat bakteri Enterobacteriaceae kontaminan pada sikat gigi menunjukkan pola yang berbeda-beda (Tabel 1).

Tabel 1. Kepekaan isolat bakteri Enterobacteriaceae terhadap antibiotik

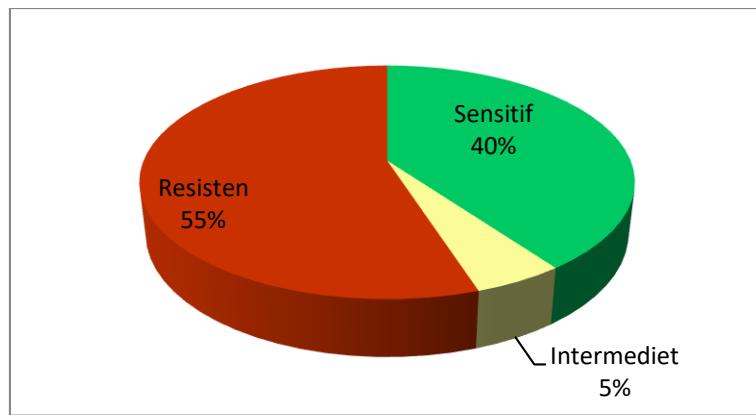
Bakteri	Rata-rata diameter zona hambat (mm)							
	Klo (μ g)	(30 μg)	Gen (μ g)	(10 μg)	Str (μ g)	(10 μg)	Ofx (μ g)	(5 μg)
Klebsiella sp.	10, 38	R	12, 25	R	9,7 5	R	17, 15	S
E. coli	19, 6	R	8,9	R	8,3	R	19, 7	S
S. marcescens	8,3	R	11, 3	R	3	R	17	S
Enterobacter sp.	19	S	19	S	13, 3	I	17	S
								24
								S

Ket: Kloramfenikol (Klo), Gentamisin (Gen), Streptomisin (Str), Ofloxasin (Ofx), Tetrasiklin (Tet), Sensitif (S), Intermediet (I), Resisten (R).

Berdasarkan tabel 1. diketahui bahwa isolat bakteri Enterobacteriaceae kontaminan pada sikat gigi memiliki pola kepekaan yang bervariasi terhadap antibiotik yang diujikan. Bakteri Enterobacter sp. memiliki sensitivitas yang paling baik terhadap seluruh antibiotik uji. Bakteri E. coli sensitif terhadap Ofloxacin dan Tetrasiklin, serta resisten terhadap antibiotik uji lainnya, sedangkan Klebsiella sp. dan S. marcescens bersifat resisten terhadap seluruh antibiotik uji kecuali terhadap Ofloxasin (sensitif). Penelitian Bello et al. (2013) mendapat hasil uji yang sama, ditemukan Klebsiella sp. bersifat resisten terhadap antibiotik kloramfenikol dan tetrasiklin.

Ofloxacin merupakan antibiotik yang dapat menghambat seluruh isolat bakteri pada penelitian ini. Efek antibakteri Ofloxacin adalah dengan menghambat sintesis DNA dalam proses replikasi dan memecah ikatan antara untai ganda DNA (Oluwole and Olumuyiwa, 2016). Antibiotik tetrasiklin menghambat pertumbuhan E. coli dan Enterobacter sp. yang diperoleh pada penelitian ini. Tetrasiklin adalah antibiotik berspektrum luas yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara masuk ke dalam sel bakteri secara difusi pasif, kemudian menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengganggu proses sintesis protein atau dengan menghancurkan membran sel (Chopra and Roberts, 2001).

Gambar 2 menunjukkan distribusi persentase sensitif, intermediet dan resisten isolat bakteri yang diisolasi dari sikat gigi. Hasil uji menunjukkan bahwa 55% isolat resisten terhadap berbagai antibiotik yang diujikan, 40% sensitif, dan 5% Intermediet.



Gambar 2. Distribusi persentase sensitif, intermediet dan resisten isolat bakteri Enterobacteriaceae kontaminan sikat gigi terhadap antibiotik

Bakteri Klebsiella sp, E. coli dan S. marcescens yang diisolasi dari sikat gigi pada penelitian ini menunjukkan sifat resisten terhadap lebih dari 1 antibiotik (multidrug resistance). Bakteri pathogen dapat menjadi resisten terhadap multi obat disebabkan penggunaan antibiotik dalam jumlah besar dan tidak terkontrol untuk terapi penyakit infeksi Resistensi multiobat pada bakteri dihasilkan melalui salah satu dari dua mekanisme berikut. Pertama, satu sel bakteri dapat mengakumulasi banyak gen yang masing-masing mengkode resistensi terhadap satu obat. Akumulasi ini biasanya terjadi pada plasmid resistensi (R). Kedua, resistensi multiobat terjadi dengan peningkatan ekspresi gen yang mengkode pompa effluks multiobat, yang dapat memompa keluar berbagai macam obat sebelum obat mencapai target di dalam sel (Nikaido, 2009).

PENUTUP

Bakteri Enterobacteriaceae kontaminan pada sikat gigi memiliki pola kepekaan yang berbeda-beda terhadap berbagai antibiotik. Bakteri Serratia maecescens memiliki sensitifitas yang paling baik terhadap seluruh antibiotik yang diujikan. Antibiotik Ofloxacin menjadi satu-satunya antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan seluruh isolat bakteri Enterobacteriaceae yang diisolasi dari sikat gigi. Isolat bakteri 55% bersifat resisten, 40% sensitif dan 5% intermediet.

DAFTAR PUSTAKA

- Bello, O., Osho, A., Bankole, S. and Bello, T., 2013. Antibiotic Susceptibility Profiles and Bacteriological Risks Associated With Used Toothbrushes: A Case Study of Some Apparently Healthy University Students in Southwestern Nigeria. *American International Journal of Biology*, 1(1), pp.1–12.
- Bunetel, L., Tricot-Doleux, S., Agnani, G. and Bonnaure-Mallet, M., 2000. In vitro evaluation of the retention of three species of pathogenic

- microorganisms by three different types of toothbrush. *Oral Microbiology and Immunology*, 15(5), pp.313–316. <https://doi.org/10.1034/j.1399-302X.2000.150508.x>.
- Chopra, I. and Roberts, M., 2001. Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 65(2), pp.232–260. <https://doi.org/10.1128/mmbr.65.2.232-260.2001>.
- Contreras, A., Arce, R., Botero, J.E., Jaramillo, A. and Betancourt, M., 2010. Toothbrush Contamination in Family Members. *Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral*, [online] 3(1), pp.24–26. [https://doi.org/10.1016/s0718-5391\(10\)70037-9](https://doi.org/10.1016/s0718-5391(10)70037-9).
- Cook, S.L., Martinez-Mier, E.A., Dean, J.A., Weddell, J.A., Sanders, B.J., Eggertsson, H., Ofner, S. and Yoder, K., 2008. Dental caries experience and association to risk indicators of remote rural populations. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 18(4), pp.275–283. <https://doi.org/10.1111/j.1365-263X.2007.00889.x>.
- Imarenezor, E.P.K., Brown, S.T.C., Ebuara, F.U. and Sani, S., 2019. Identification and Antibiogram of Babteria From Used Toothbrushes by Students of Federal University Wukari, North East, Nigeria. *FUW Trends in Science & Technology Journal*, 4(3), pp.657–659.
- Kim, J.-H., Kim, D.-A., Kim, H.-S., Baik, J.-Y., Ju, S.-H. and Kim, S.-H., 2018. Analysis of Microbial Contamination and Antibacterial Effect Associated with Toothbrushes. *Journal of Dental Hygiene Science*, 18(5), pp.296–304. <https://doi.org/10.17135/jdhs.2018.18.5.296>.
- Mansoori, N., Bakar, I., Shahid, N. and Mubeen, S.M., 2018. A Survey of Microbial Contamination of Toothbrushes Among General Population of Karachi. *The Professional Medical Journal*, 25(11). <https://doi.org/10.29309/tpmj/18.4456>.
- Nikaido, H., 2009. Multidrug resistance in bacteria. *Annual Review of Biochemistry*, 78(March 2009), pp.119–146. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.78.082907.145923>.
- Oluwole, O. and Olumuyiwa, O., 2016. Used Toothbrushes: Microbial Evaluation and Antibiotic Susceptibility Profiles of Associated Bacteria. *British Microbiology Research Journal*, 15(2), pp.1–9. <https://doi.org/10.9734/bmrj/2016/26824>.
- Prakasam, A., Elavarasu, Ss. and Natarajan, R., 2012. Antibiotics in the management of aggressive periodontitis. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 4(6), p.252. <https://doi.org/10.4103/0975-7406.100226>.
- Refdanita, Maksum, R., Nurgani, A. and Endang, P., 2004. Pola Kepakaan Kuman Terhadap Antibiotika Di Ruang Rawat Intensif Rumah Sakit Fatmawati Jakarta Tahun 2001 – 2002. *Makara Kesehatan*, 8(2), pp.41–48.
- Sammons, R.L., Kaur, D. and Neal, P., 2004. Bacterial survival and biofilm formation on conventional and antibacterial toothbrushes. *Biofilms*, 1(2), pp.123–130. <https://doi.org/10.1017/s1479050504001334>.
- Samuel, O. and Ifeanyi, O., 2015. Bacterial Contamination of Used Manual Toothbrushes Obtained from Some Students of Nnamdi Azikiwe University Awka, Nigeria. *Universal Journal of Microbiology Research*, 3(4), pp.56–59. <https://doi.org/10.13189/ujmr.2015.030404>.

Warren, D.P., Goldschmidt, M.C., Thompson, M.B., Adler-Storthz, K. and Keene, H.J., 2001. The effects of toothpastes on the residual microbial contamination of toothbrushes. *Journal of the American Dental Association*, [online] 132(9), pp.1241–1245.
<https://doi.org/10.14219/jada.archive.2001.0366>.