

Perbandingan Mueller–Hinton Agar Standar Dan Media Mueller–Hinton Agar Modifikasi Pada Uji Kepekaan Antibiotik *Escherichia Coli*

Husjain Djajaningrat^{1*}, Aldy Adwitiya Waluyo²

^{1,2} Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Jakarta III, Indonesia

*Email korespondensi: husjain_djajaningrat@yahoo.co.id

ABSTRAK

Pendahuluan: Resistensi antimikroba merupakan salah satu masalah kesehatan global yang terjadi ketika mikroorganisme tidak lagi merespons obat antimikroba secara efektif. Kondisi ini dapat menyebabkan infeksi berlanjut dan meningkatkan risiko penyebaran penyakit. *Escherichia coli* merupakan salah satu bakteri yang dapat digunakan dalam pengujian sensitivitas antimikroba. Mueller–Hinton Agar (MHA) merupakan media standar yang banyak digunakan dalam *antimicrobial susceptibility testing* karena mendukung pertumbuhan berbagai bakteri dan pembentukan zona hambat.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk menilai kesesuaian MHA modifikasi sebagai media alternatif untuk pengujian sensitivitas antimikroba terhadap *Escherichia coli*.

Metode: Menggunakan desain eksperimental kualitatif. MHA modifikasi dibuat menggunakan bahan-bahan bernutrisi yang terdiri atas kaldu daging (*beef extract*), hidrolisat asam kasein (*casein hydrolysate*), agar, natrium klorida, dan ekstrak jagung. Media yang telah dibuat kemudian diinokulasi dengan bakteri *E. coli* dan diamati pertumbuhannya serta pembentukan zona hambat pada pengujian sensitivitas antimikroba.

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan bahwa media MHA modifikasi yang mengandung kaldu daging, hidrolisat asam kasein, agar, dan ekstrak jagung mampu mendukung pertumbuhan *E. coli* dengan baik. Pada pengujian sensitivitas antimikroba juga terbentuk zona hambat, yang menunjukkan bahwa media modifikasi dapat digunakan untuk mendukung pemeriksaan sensitivitas bakteri.

Kesimpulan: MHA modifikasi dengan bahan yang relatif mudah diperoleh dan biaya pembuatan yang terjangkau berpotensi digunakan sebagai media alternatif untuk pengujian sensitivitas antimikroba terhadap *E. coli*. Penelitian selanjutnya perlu melakukan pengujian kuantitatif dan membandingkan hasil zona hambat pada MHA modifikasi dengan MHA standar untuk memastikan kesesuaian hasil pengujian.

Kata Kunci: *Mueller–Hinton Agar*, media modifikasi, *Escherichia coli*, resistensi antimikroba, uji sensitivitas antimikroba

*Comparison Of Standard Mueller–Hinton Agar And Modified Mueller–Hinton Agar In Antibiotic Sensitivity Testing Of Escherichia Coli*abstract

ABSTRACT

Introduction: Antimicrobial resistance is a global health problem that occurs when microorganisms no longer respond effectively to antimicrobial drugs, resulting in persistent infections and an increased risk of disease transmission. *Escherichia coli* is one of the bacterial species commonly used in antimicrobial susceptibility testing. Mueller–Hinton Agar (MHA) is widely used as a standard medium for antimicrobial susceptibility testing because it supports bacterial growth and allows the formation of inhibition zones. However, the availability and cost of standard media may become limitations in some laboratory settings. Therefore, modified MHA using locally available and affordable nutritional ingredients may serve as an alternative medium.

Objective: This study aimed to compare the suitability of standard MHA and modified MHA for antimicrobial susceptibility testing of *E. coli*.

Method: This study used a qualitative experimental design. Modified MHA was prepared using nutritional ingredients consisting of beef extract, casein hydrolysate, agar, and corn extract. *E. coli* was inoculated onto the standard and modified MHA media. Bacterial growth and the formation of inhibition zones were then observed and compared descriptively.

Result: The results showed that the modified MHA containing beef extract, casein hydrolysate, agar, and corn extract was able to support the growth of *E. coli*. In addition, inhibition zones were observed in the antimicrobial susceptibility testing, indicating that the modified medium could support antimicrobial susceptibility testing of *E. coli*.

Conclusion: Modified MHA prepared from relatively accessible and affordable nutritional ingredients has potential as an alternative medium for antimicrobial susceptibility testing of *E. coli*. However, further quantitative studies are needed to compare inhibition-zone diameters between modified and standard MHA and to determine the equivalence of antimicrobial susceptibility testing results.

Keywords: *Mueller-Hinton Agar*, modified medium, *Escherichia coli*, antimicrobial susceptibility testing, antimicrobial resistance

PENDAHULUAN

Antibiotik adalah zat-zat kimia yang dihasilkan oleh mikroorganisme seperti fungi atau bakteri, yang memiliki manfaat mematikan atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen, dengan toksisitasnya bagi manusia relatif kecil (Tjay & Rahardja, 2015). Antibiotik juga merupakan obat yang paling banyak digunakan pada infeksi yang disebabkan oleh bakteri.

Secara garis besar antimikroba dibagi menjadi dua jenis yaitu yang membunuh kuman (bakterisid) dan yang hanya menghambat pertumbuhan kuman (bakteriostatik). Antibiotik yang termasuk golongan bakterisid antara lain penisilin, rifampisin, isoniazid dan lain-lain. Sedangkan antibiotik yang memiliki sifat bakteriostatik, dimana penggunaannya tergantung status imunologi pasien, antara lain sulfonamida, tetrasiklin, kloramfenikol (Ishak et al., 2025).

Intensitas penggunaan antibiotik yang relatif tinggi menimbulkan berbagai permasalahan dan merupakan ancaman global bagi kesehatan terutama resistensi bakteri terhadap antibiotik. Survei prevalensi titik di enam rumah sakit di Jakarta menemukan bahwa 62,0% pasien rawat inap menerima sedikitnya satu antimikroba, kepatuhan terhadap pedoman antibiotik rumah sakit hanya 52,2%, dan persepsian berdasarkan hasil kultur hanya 8,1% pada infeksi yang didapat di komunitas serta 26,8% pada infeksi yang didapat di rumah sakit

(Limato et al., 2021). Telaah sistematis juga menegaskan perlunya intervensi untuk memperbaiki ketepatan penggunaan antibiotik di rumah sakit dan komunitas di Indonesia (Limato et al., 2022).

Secara global, resistensi antimikroba bakteri berkaitan dengan 4,71 juta kematian pada tahun 2021, termasuk 1,14 juta kematian yang disebabkan langsung olehnya, dan diperkirakan menyebabkan lebih dari 39 juta kematian antara tahun 2025 dan 2050 apabila tidak ditangani (GBD 2021 Antimicrobial Resistance Collaborators, 2024). Di Indonesia, 18,3% isolat *Escherichia coli* dari rumah sakit dilaporkan resisten terhadap karbapenem (Gach et al., 2024).

Resistensi didefinisikan sebagai tidak terhambatnya pertumbuhan bakteri dengan pemberian antibiotik secara sistemik dengan dosis normal yang seharusnya atau kadar hambat minimalnya. Sedangkan multiple drugs resistance didefinisikan sebagai resistensi terhadap dua atau lebih obat maupun klasifikasi obat. Sedangkan cross resistance adalah resistensi suatu obat yang diikuti dengan obat lain yang belum pernah dipaparkan (Darby et al., 2023).

Resistensi terjadi ketika bakteri berubah dalam satu atau lain hal yang menyebabkan turun atau hilangnya efektivitas obat, senyawa kimia atau bahan lainnya yang digunakan untuk mencegah atau mengobati infeksi. Bakteri yang mampu bertahan hidup dan berkembang biak, menimbulkan

lebih banyak bahaya. Kepekaan bakteri terhadap antibiotika ditentukan oleh kadar hambat minimal yang dapat menghentikan perkembangan bakteri (Darby et al., 2023; Gajic et al., 2022).

Pemeriksaan resistensi antibiotik umum dilakukan di laboratorium mikrobiologi. Salah satu media yang sering digunakan adalah *Mueller Hinton Agar* (MHA). MHA merupakan media yang digunakan untuk uji resistensi antibiotika. MHA bersifat universal yang berarti berbagai jenis bakteri dapat tumbuh dan berkembang dalam media tersebut. Metode yang digunakan dalam uji resistensi antibiotik adalah metode Kirby-Bauer. Konsentrasi suspensi bakteri diatur dengan membandingkan kekeruhan (Turbiditas) menggunakan standar McFarland, Kemudian suspensi bakteri tersebut dinokulasi ke media MHA (Gajic et al., 2022; Hossain, 2024).

Seperti pemeriksaan laboratorium pada umumnya, juga diperlukan pengendalian mutu internal dalam pemeriksaan resistensi antibiotik. Hal ini dilakukan agar hasil yang didapatkan dapat dipercaya. Salah satu bentuk pengendalian mutu internal tersebut yaitu menggunakan strain kontrol untuk menguji kinerja MHA. Beberapa strain yang dianjurkan antara lain *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (Clinical and Laboratory Standards Institute [CLSI], 2024; Welagedara & Liyanapathirana, 2025). pada penelitian ini strain kontrol yang digunakan adalah *Escherichia coli*.

Escherichia coli adalah bakteri yang merupakan bagian dari mikroflora yang secara normal ada dalam saluran pencernaan manusia dan hewan berdarah panas. *Escherichia coli* termasuk ke dalam bakteri heterotrof yang memperoleh makanan berupa zat organik dari lingkungannya karena tidak dapat menyusun sendiri zat organik yang dibutuhkannya. Zat organik diperoleh dari sisa organisme lain. Bakteri ini menguraikan zat organik dalam makanan menjadi zat anorganik, yaitu CO₂,

H₂O, energi, dan mineral. dalam lingkungan, bakteri pembusuk ini berfungsi sebagai pengurai dan penyedia nutrisi bagi tumbuhan (Geurtsen et al., 2022; Pokharel et al., 2023).

Adanya program pemerintah yaitu nusantara sehat yang mengikut sertakan Ahli Teknologi Laboratorium Medik (ATLM) di wilayah terpencil, membuat ATLM harus mampu bekerja dengan alat dan bahan laboratorium yang sederhana. Hal ini membuat peneliti tertarik untuk melakukan penelitian uji resistensi menggunakan media *Mueller Hinton Agar* modifikasi . Keterbatasan akses terhadap media kultur siap pakai juga merupakan tantangan umum laboratorium bakteriologi klinis di negara berpenghasilan rendah dan menengah (Orekan et al., 2021)..

METODE

Jenis penelitian yang digunakan berupa penelitian eksperimental laboratorik dengan desain komparatif.yaitu penelitian yang dilakukan di dalam ruang laboratorium dengan cara memberi perlakuan berbeda pada subjek, lalu membandingkan hasil antara dua kelompok atau lebih secara terkontrol.

Kelompok kontrol penelitian ini adalah suspensi Amoxicillin sebagai kontrol positif dan akuades steril sebagai kontrol negatif. Pada kedua kelompok tidak dilakukan pre-test, pengukuran hanya dilakukan setelah pemberian perlakuan selesai. dengan melakukan penanaman bakteri *Escherichia coli* pada media *Mueller Hinton Agar* modifikasi.

strain acuan *Escherichia coli* yang paling umum digunakan di laboratorium, yaitu *Escherichia coli* ATCC 25922:

Sumber Strain: Isolat klinis manusia yang diperoleh dari Seattle, Washington, Amerika Serikat, dipasok oleh U.S. Food and Drug Administration (FDA),

Cara Revival (Aktivasi Kembali):

Untuk produk berformat beku (frozen), lakukan langkah berikut secara aseptik:

1. Pencairan Cepat: Cairkan vial kultur beku secara cepat dalam penangas air (water bath) pada suhu 37°C selama 1 hingga 2 menit.
2. Inokulasi: Segera pindahkan seluruh isi vial ke dalam tabung berisi media cair universal seperti Trypticase Soy Broth (TSB) atau Nutrient Broth.
3. Penebaran (Opsional): Goreskan juga suspensi bakteri ke media padat Trypticase Soy Agar (TSA) untuk mendapatkan koloni tunggal.
4. Inkubasi: Inkubasikan kultur pada suhu 37°C dalam kondisi aerobik selama 18–24 jam

Umur Kultur:

1. Kultur Segar (Inkusi Awal): Optimal dipanen atau digunakan pada umur 18–24 jam (fase stasioner awal) untuk uji sensitivitas antimikroba.
2. Subkultur / Peremajaan berkala: Kultur pada agar miring dapat disimpan di lemari pendingin (2–8°C) dengan periode peremajaan (subculturing period) maksimal setiap 30 hari.

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bakteriologi di Poltekkes Kemenkes Jakarta III mulai dari bulan Maret 2025- Desember 2025. Populasi adalah media *Mueller Hinton Agar* modifikasi, Sampel dalam penelitian ini adalah media *Mueller Hinton Agar* modifikasi yang diperoleh dari modifikasi. Penentuan keseluruhan jumlah sampel yang dibutuhkan menggunakan rumus Federer. Perlakuan Besar sampel = perlakuan x replikasi

Berdasarkan hasil perhitungan maka jumlah sampel yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah 24 sampel dimana kelompok sampel diberi 6 macam perlakuan sedangkan kelompok kontrol tidak diberi perlakuan. Kelompok perlakuan dibuat pengulangan sebanyak 4 kali. Teknik pengambilan sampel menggunakan jenis non-

probability sampling dengan metode *sampling purposive*.

HASIL

Berdasarkan penelitian hasil uji pertumbuhan bakteri pada media *Mueller Hinton Agar* Modifikasi didapatkan bahwa bakteri *Escherichia coli*, dapat tumbuh dengan baik.

1. Standar McFarland (Standardisasi Suspensi Bakteri)

Bagian ini harus menjelaskan bagaimana densitas bakteri disamakan agar hasilnya konsisten.

- 1) Skala yang digunakan: Umumnya menggunakan standar 0,5 McFarland.
- 2) Densitas bakteri: Setara dengan konsentrasi $(1,5 \times 10^8)$ CFU/ML
- 3) Cara pembuatan/pembelian: Disebutkan apakah membuat sendiri (campuran (BaCl_2) dan (H_2SO_4)) atau menggunakan standar pabrikan (komersial).
- 4) Alat ukur konfirmasi: Disebutkan apakah visual (dengan kartu bergaris hitam) atau menggunakan alat spektrofotometer (panjang gelombang 625 nm, absorban 0,08–0,13).
- 5) Batas waktu penggunaan: Penegasan bahwa suspensi bakteri harus digunakan dalam waktu maksimal 15–30 menit setelah distandardisasi.

Metode Kirby-Bauer (Uji Difusi Cakram)

Bagian ini harus merinci prosedur fisik dan teknis pengujian secara kronologis.

1. Media pertumbuhan: Wajib menyebutkan *Mueller-Hinton Agar* (MHA) serta ketebalan media dalam cawan petri (standar ideal: 4 mm).

2. Teknik inokulasi: Penjelasan metode swabbing (usapan) secara merata ke seluruh permukaan agar dalam 3 arah/sudut (rotasi 60 derajat) menggunakan kapas lidi steril (sterile cotton swab).
3. Spesifikasi cakram antibiotik: Menyebutkan nama antibiotik beserta potensinya (misal: Amoxicillin 30 µg, Tetracycline 30 µg).
4. Waktu aplikasi cakram: Penegasan aturan "15 menit" (cakram harus ditempelkan maksimal 15 menit setelah bakteri diusap).
5. Kondisi inkubasi: Suhu inkubasi (biasanya $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) dan durasi waktu (16–18 jam atau 24 jam).
6. Metode pengukuran: Penjelasan alat ukur (jangka sorong atau penggaris) dan parameter yang diukur (diameter total zona bening termasuk diameter cakram dalam satuan milimeter).
7. Standar interpretasi: Menyebutkan panduan acuan yang digunakan untuk menentukan kategori Sensitif (S), Intermedier (I), atau Resisten (R), biasanya merujuk pada standar CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) atau EUCAST terbaru.

Berdasarkan standar laboratorium mikrobiologi (seperti standar CLSI dan EUCAST), adalah rincian mengenai standar McFarland, metode preparasi, dan umur kultur yang umum digunakan untuk uji sensitivitas antimikroba maupun uji identifikasi bakteri:

1. Standar McFarland yang Digunakan
2. Konsentrasi Utama: Standar McFarland 0,5 adalah standar yang paling sering digunakan.
3. Kepadatan Bakteri: McFarland 0,5 setara dengan kerapatan optik (OD) yang mewakili sekitar (1.5×10^8) CFU/mL (satuan pembentuk koloni per mililiter) untuk bakteri gram negatif dan gram positif.

4. Fungsi: Memastikan jumlah bakteri yang diuji tidak terlalu padat atau terlalu sedikit, sehingga hasil uji antibiotik akurat.

2. Metode Preparasi Suspensi Bakteri

Terdapat dua metode utama untuk menyiapkan suspensi bakteri agar sesuai dengan standar McFarland 0,5:

- 1) Metode Koloni Langsung (Direct Colony Suspension)
- 2) Ambil 3–5 koloni bakteri yang sejenis menggunakan sengkeli (loop) steril.
- 3) Masukkan dan suspensikan koloni ke dalam tabung berisi cairan saline steril (NaCl 0,85%) atau kaldu nutrisi.
- 4) Aduk hingga rata hingga mencapai kekeruhan yang sama dengan standar McFarland 0,5.
- 5) Catatan: Metode ini wajib digunakan untuk bakteri yang tumbuh lambat atau bersifat rewel (fastidious) seperti *Streptococcus pneumoniae*.
- 6) Metode Pertumbuhan (Inoculum Growth Method)
- 7) Ambil beberapa koloni bakteri, lalu masukkan ke dalam kaldu cair (seperti Tryptic Soy Broth atau Mueller Hinton Broth).
- 8) Inkubasi kaldu pada suhu 35°C selama 2–6 jam hingga bakteri masuk ke fase pertumbuhan logaritma (terlihat keruh).
- 9) Encerkan kaldu menggunakan saline steril jika suspensi terlalu keruh hingga pas dengan McFarland 0,5.

Umur Kultur Bakteri

1. Rentang Waktu: Kultur bakteri harus berumur 18 hingga 24 jam (kultur semalam/ overnight culture).
2. Alasan Medis: Pada usia ini, bakteri berada dalam fase log/eksponensial (fase pertumbuhan aktif). Bakteri pada fase ini memiliki viabilitas (daya

hidup) tertinggi dan paling sensitif terhadap agen antimikroba, sehingga memberikan hasil uji yang valid. Jangan gunakan kultur yang terlalu tua karena banyak sel bakteri yang sudah mati atau mengalami lisis.

Komponen Label dan Dokumentasi Cakram Antibiotik

1. Nama Antibiotik
2. Mengidentifikasi jenis zat aktif pada cakram.
3. Biasanya ditulis dalam kode singkatan resmi (contoh: VA untuk Vancomycin, AMP untuk Ampicillin).
4. Produsen Disk (Disk Manufacturer)
5. Menjamin standar kualitas dan regulasi pembuatan cakram.
6. Contoh produsen populer: Oxoid, BD BBL, Bio-Rad.
7. Kandungan/Potensi Disk (dalam μg)
8. Menunjukkan dosis spesifik antibiotik dalam satu cakram mikrogram (μg).
9. Penting untuk mencocokkan hasil zona hambat dengan standar batasan (breakside) dari CLSI atau EUCAST.
10. Nomor Lot (Lot Number)

Berfungsi sebagai kode pelacakan produksi jika terjadi kegagalan kontrol kualitas (Quality Control). Memastikan ketelusuran (traceability) selama masa validasi laboratorium.

Penyimpanan Disk (Storage)

1. Instruksi suhu untuk menjaga stabilitas zat aktif obat.
2. Penyimpanan jangka panjang umumnya pada suhu freezer (-20°C).
3. Penyimpanan jangka pendek atau kit yang sedang digunakan disimpan pada suhu kulkas (2°C hingga 8°C).

Inkubasi dalam mikrobiologi dan laboratorium adalah proses menjaga biakan

mikroorganisme pada kondisi lingkungan yang optimal untuk pertumbuhan

Suhu Inkubasi

- 1) Suhu umum: Sebagian besar patogen atau bakteri manusia diinkubasi pada suhu 35°C hingga 37°C .
- 2) Kisaran luas: Suhu inkubasi laboratorium umumnya diatur antara 25°C hingga 45°C tergantung jenis organisme.
- 3) Toleransi alat: Inkubator yang baik memiliki variasi suhu yang sangat kecil, sekitar $0,2-0,4^{\circ}\text{C}$, agar hasil efektif.

Lama Inkubasi

1. Durasi umum: Waktu inkubasi standar untuk banyak tes mikrobiologi berkisar antara 18 hingga 24 jam.
2. Variasi durasi: Beberapa pengujian atau mikroorganisme spesifik memerlukan waktu lebih lama, seperti 48 jam, 72 jam, atau hingga beberapa hari/minggu tergantung karakteristik sampel.

Atmosfer Inkubasi

1. Aerobik: Membutuhkan ketersediaan oksigen bebas untuk organisme aerob.
2. Anaerobik: Tanpa oksigen atau menggunakan kondisi khusus untuk bakteri anaerob.
3. Kadar CO_2 : Beberapa kultur memerlukan tambahan karbon dioksida (misalnya 5-10% CO_2) untuk mendukung pertumbuhan bakteri tertentu

Pengukuran zona hambat bakteri umumnya dilakukan menggunakan jangka sorong atau penggaris skala milimeter, dengan aturan mengukur diameter luar area bening secara penuh, serta wajib dilakukan minimal secara duplo (dua kali pengulangan) demi validitas data.

1. Alat Pengukur Zona

- 1) Jangka Sorong (Vernier Caliper): Alat paling direkomendasikan karena memberikan tingkat presisi yang sangat tinggi (hingga ketelitian 0,02 mm atau digital).
- 2) Penggaris Transparan: Digunakan dengan skala milimeter (mm). Penggaris diposisikan di bagian bawah cawan petri jika media agar bening.
- 3) Automated Zone Reader: Alat digital khusus berbasis kamera/pemindai untuk mendeteksi dan mengukur diameter zona secara otomatis.

2. Aturan Membaca Diameter

- 1) Ukur Diameter Total: Pengukuran dimulai dari tepi luar zona bening di satu sisi melewati bagian tengah (kertas cakram/sumuran) hingga ke tepi luar zona bening sisi seberangnya. Jangan hanya mengukur jarak dari tepi cakram.
- 2) Pengukuran Silang (Cross-Sectional): Lakukan pengukuran dari dua sudut yang berbeda (secara vertikal dan horizontal), kemudian hitung nilai rata-ratanya. Langkah ini untuk mengantisipasi jika bentuk zona hambat tidak bulat sempurna.
- 3) Batas Pembacaan: Jika menggunakan media darah (seperti Blood Agar), ukur zona hambatan pertumbuhan bakteri yang bersih, bukan zona hemolisis (perubahan warna darah)

3. Penggunaan Blinded atau Duplo

- 1) Wajib Duplo (atau Triplo): Dalam pengujian mikrobiologi standar laboratorium, pengukuran wajib dilakukan minimal secara duplo (dua kali replikasi perlakuan secara paralel) atau triplo (tiga kali). Pengulangan ini penting untuk memastikan konsistensi hasil, presisi

akurasi, serta validitas analisis statistik.

- 2) Blinded (Pemeriksaan Tersamar): Metode blinded (di mana pembaca zona tidak mengetahui kode sampel yang diukur) tidak wajib di laboratorium rutin, tetapi sangat disarankan dalam riset ilmiah/uji klinis untuk menghindari bias subjektif peneliti saat membaca batas zona bening yang samar

Hasil uji resistensi pada media *Mueller Hinton Agar* modifikasi terbentuk zona hambat dengan ukuran 25mm dan pada media *Mueller Hinton Agar* asli yang digunakan sebagai pembading terbentuk zona hambat berukuran 20 mm. Berdasarkan grafik interpretasi ukuran zona untuk bakteri yang cepat tumbuh menggunakan teknik Kirby Bauer yang dimodifikasi oleh *National Committee for Clinical Laboratory Standards*, kedua media yang telah di uji memiliki diameter zona inhibisi sensitive.

Tabel 1 . Hasil Zona Hambatan & Respon Hambatan Pertumbuhan

<i>Mueller Hinton Agar-Asli</i>		<i>Mueller Hinton Agarmodifikasi</i>	
Amoxilin	Cefotaxime	Amoxilin	Cefotaxime
22	22	17	16
20	21	16	17
21	20	14	17
20	19	16	18
Rata rata20.75	Rata rata20.5	Rata rata 15.75	Rata rata 17
Kuat	Kuat	Kuat	Kuat

ANOVA

hasil_amoxilin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	57.600	1	57.600	44.308	.000
Within Groups	10.400	8	1.300		
Total	68.000	9			

Berdasarkan tabel uji anova di atas didapatkan nilai Sig. sebesar $0.000 < 0.05$, sehingga dapat disimpulkan bahwa rerata kedua kelompok MH tersebut “TIDAKSAMA” secara signifikan

ANOVA

hasil_cefatomixin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	28.900	1	28.900	28.900	.001
Within Groups	8.000	8	1.000		
Total	36.900	9			

Berdasarkan tabel uji anova di atas didapatkan nilai Sig. sebesar $0.001 < 0.05$, sehingga dapat disimpulkan bahwa rerata kedua kelompok MHA tersebut “TIDAK SAMA” secara signifikan

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian media *Mueller Hinton Agar* modifikasi dapat digunakan sebagai media pertumbuhan untuk bakteri *Escherichia coli*. Hal ini membuktikan bahwa media *Mueller Hinton Agar* modifikasi dapat memenuhi persyaratan sebagai media universal sesuai dengan persyaratan pada media *Mueller Hinton Agar* asli.

Bakteri dapat tumbuh dengan baik pada media *Mueller Hinton Agar* modifikasi karena media tersebut mengandung Beef extract, Hidrolisat asam kasein, OH, agar, dan ekstrak jagung. Ekstrak daging dan Hidrolisat asam kasein dan NaOH sebagai pemenuhan nitrogen, vitamin, karbon, asam amino, dan nutrisi lainnya, sekaligus untuk pemenuhan NaCl, dan membuat pH menjadi netral pada media yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri. Ekstrak jagung digunakan sebagai penyerap zat toxic yang dihasilkan oleh metabolisme bakteri, dan digunakan untuk menghidrolisis dextrose yang digunakan bakteri sebagai sumber energi (Patricia et al., 2022; Prasetya et al., 2021).

Adapun komposisi media *Mueller Hinton* modifikasi antara lain : kaldu/ekstrak daging = 5 g; casein hydrolysate atau susu = 17,5 g/mL; ekstrak jagung = 5 g/L; NaCl = 5 g; gula/dextrose = 1,5 g; agar = 17 g; aquadest hingga 1000 mL.

pH akhir dari media *Mueller Hinton Agar* (MHA) adalah $7,3 \pm 0,1$ pada suhu 25°C (atau berada pada rentang 7,2 – 7,4).

Waktu sterilisasi di autoklaf selama 15 menit pada 121°C .

Ketebalan standar media *Mueller Hinton Agar* (MHA) atau modifikasi di dalam cawan petri menurut standar internasional (seperti CLSI dan EUCAST) adalah 0,4 cm (atau tepatnya 4 mm), Batas toleransi ketebalan yang diperbolehkan adalah 0,35 cm hingga 0,45

cm ($4 \text{ mm} \pm 0.5 \text{ mm}$). Untuk mendapatkan ketebalan yang tepat ini pada cawan petri standar berdiameter 90 mm, volume media yang perlu dituangkan adalah sekitar 25 mL

Kondisi penyimpanan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang sudah dipreparasi adalah dalam lemari es pada suhu 2°C hingga 8°C di dalam kantong plastik rapat. Waktu antara pembuatan dan penggunaan Media agar *Mueller Hinton (MHA)* /modifikasi yang telah disiapkan dan dipadatkan sebaiknya digunakan dalam waktu 2-14 hari (Dexatama, n.d.).

Berdasarkan hasil uji resistensi pada media *Mueller Hinton Agar* modifikasi didapatkan zona hambat berukuran 25mm dengan interpretasi sensitif. Hasil tersebut menunjukkan perbedaan diameter zona hambat sebesar 5mm dibandingkan dengan hasil pada media *Mueller Hinton Agar* asli (20mm). Perbedaan hasil diameter zona hambat tersebut dapat disebabkan beberapa faktor seperti densitas inokulum, suhu inkubasi, lama pemasangan cakram, dan waktu inkubasi, komposisi media, variasi kualitas media, dan potensi cakram antibiotika. (Åhman et al., 2022; Gajic et al., 2022).

Berdasarkan statistik bahwa hasil zona hambat antibiotika terhambat media asli dan media alternatif terhadap bakteri *E.coli* tidak sama secara signifikan. Temuan ini sejalan dengan Ogofure et al. (2026) yang melaporkan bahwa beberapa media alternatif hanya mendekati sebagian kinerja MHA dan tidak ada yang sepenuhnya menyamainya pada uji difusi cakram. Perbandingan media kultur lain terhadap MHA pada uji kepekaan antibiotik juga telah dilaporkan, termasuk penggunaan media tahu sebagai pengganti MHA (Marliana et al., 2022; Mohammed et al., 2022).

sedangkan terhadap tabel respon hambatan pertumbuhan termasuk zona hambatan yang kuat sehingga dapat digunakan sebagai media alternatif tetapi mesti di

modifikasi kembali dengan bahan tambahan lain.

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Bahan makanan dengan komposisi casein of HCl, agar, ekstrak jagung dan daging yang dijadikan sebagai media *Mueller Hinton Agar* modifikasi dapat digunakan sebagai media uji resistensi antibiotik.

B. Saran

1. Penulis menyarankan perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan modifikasi komposisi media didapatkan Zona Hambat yang sesuai dengan *Mueller Hinton Agar* asli.serta menambah antibiotika maupun jenis bakteri nya
2. Untuk masyarakat penulis menyarankan akan pentingnya resep Antibiotika dari dokter, sehingga tidak menyalahgunakan penggunaan antibiotika yang dapat menyebabkan resistensi terhadap antibiotika. Oleh karena itu masyarakat harus mengetahui indikasi penyakit yang memerlukan pengobatan antibiotika, dan melakukan uji resistensi terhadap antibiotik sehingga dapat menggunakan antibiotika yang tepat.
3. Media ini dapat digunakan untuk Ahli Teknologi Laboratorium Medis atau petugas kesehatan lainnya apabila media *Mueller Hinton Agar* yang biasa digunakan habis atau sedang berada di daerah terpencil yang sulit mendapatkan media tersebut, dan dapat digunakan sebagai media pertumbuhan.

DAFTAR PUSTAKA

Åhman, J., Matuschek, E., & Kahlmeter, G. (2022). Evaluation of ten brands of pre-poured Mueller-Hinton agar plates for EUCAST disc diffusion testing. *Clinical Microbiology and Infection*,

28(11),1499.

<https://doi.org/10.1016/j.cmi.2022.05.030>

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2024). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing* (34th ed.; CLSI supplement M100).

Darby, E. M., Trampari, E., Siasat, P., Gaya, M. S., Alav, I., Webber, M. A., & Blair, J. M. A. (2023). Molecular mechanisms of antibiotic resistance revisited. *Nature Reviews Microbiology*, 21(5), 280–295.

<https://doi.org/10.1038/s41579-022-00820-y>

Dexatama. (n.d.). *Cara preparasi Mueller Hinton Agar (MHA)*. Diakses 6 September 2026, dari <https://dexatama.co.id/cara-preparasi-mueller-hinton-agar-mha/>

Gach, M. W., Lazarus, G., Simadibrata, D. M., Sinto, R., Saharman, Y. R., Limato, R., Nelwan, E. J., van Doorn, H. R., Karuniawati, A., & Hamers, R. L. (2024). Antimicrobial resistance among common bacterial pathogens in Indonesia: A systematic review. *The Lancet Regional Health – Southeast Asia*, 26, 100414. <https://doi.org/10.1016/j.lansea.2024.100414>

Gajic, I., Kabic, J., Kekic, D., Jovicevic, M., Milenkovic, M., Mitic Culafic, D., Trudic, A., Ranin, L., & Opavski, N. (2022). Antimicrobial susceptibility testing: A comprehensive review of currently used methods. *Antibiotics*, 11(4), 427. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11040427>

GBD 2021 Antimicrobial Resistance Collaborators. (2024). Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: A systematic analysis with forecasts to 2050. *The Lancet*, 404(10459), 1199–1226. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(24\)01867-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(24)01867-1)

Geurtsen, J., de Been, M., Weerdenburg, E., Zomer, A., McNally, A., & Poolman, J. (2022). Genomics and pathotypes of

- the many faces of *Escherichia coli*. *FEMS Microbiology Reviews*, 46(6), fuac031.
<https://doi.org/10.1093/femsre/fuac031>
- Hossain, T. J. (2024). Methods for screening and evaluation of antimicrobial activity: A review of protocols, advantages, and limitations. *European Journal of Microbiology and Immunology*, 14(2), 97–115.
<https://doi.org/10.1556/1886.2024.00035>
- Ishak, A., Mazonakis, N., Spervovasilis, N., Akinosoglou, K., & Tsioutis, C. (2025). Bactericidal versus bacteriostatic antibacterials: Clinical significance, differences and synergistic potential in clinical practice. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 80(1), 1–17.
<https://doi.org/10.1093/jac/dkac380>
- Limato, R., Lazarus, G., Dernison, P., Mudia, M., Alamanda, M., Nelwan, E. J., Sinto, R., Karuniawati, A., van Doorn, H. R., & Hamers, R. L. (2022). Optimizing antibiotic use in Indonesia: A systematic review and evidence synthesis to inform opportunities for intervention. *The Lancet Regional Health – Southeast Asia*, 2, 100013.
- Limato, R., Nelwan, E. J., Mudia, M., de Brabander, J., Guterres, H., Enty, E., Mauleti, I. Y., Mayasari, M., Firmansyah, I., Hizrani, M., & Hamers, R. L. (2021). A multicentre point prevalence survey of patterns and quality of antibiotic prescribing in Indonesian hospitals. *JAC-Antimicrobial Resistance*, 3(2), dlab047.
<https://doi.org/10.1093/jacamr/dlab047>
- Marliana, N., Kurniati, I., Patria, C., Dermawan, A., & Mulia, Y. S. (2022). Uji kepekaan antibiotika *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* pada media tahu pengganti Mueller Hinton Agar. *Jurnal Riset Kesehatan Poltekkes Depkes Bandung*, 14(2), 319–324.
<https://doi.org/10.34011/juriskesbdg.v14i2.2033>
- Mohammed, S. J., Al-Musawi, A. T., Al-Fraji, A. S., & Kareem, H. S. (2022). Comparison of three culture media in assessing the sensitivity of antibiotics to common foodborne microorganisms. *Journal of Medicine and Life*, 15(5), 645–649.
<https://doi.org/10.25122/jml-2021-0404>
- Ogofure, A. G., Green, E., & Igbinosa, E. O. (2026). Beyond Mueller–Hinton agar: Comparative evaluation of agar media for antibiotic susceptibility testing and implications for resource-limited laboratory settings. *Microbiology Spectrum*, 14(7), e04218-25.
<https://doi.org/10.1128/spectrum.04218-25>
- Orekan, J., Barbé, B., Oeng, S., Ronat, J.-B., Letchford, J., Jacobs, J., Affolabi, D., & Hardy, L. (2021). Culture media for clinical bacteriology in low- and middle-income countries: Challenges, best practices for preparation and recommendations for improved access. *Clinical Microbiology and Infection*, 27(10), 1400–1408.
<https://doi.org/10.1016/j.cmi.2021.05.016>
- Patricia, V., Hamtini, H., Yani, A., Choirunnisa, A., Ermala, E., & Indriani, I. (2022). Potensi pemanfaatan jagung, kacang hijau dan ubi Cilembu sebagai media kultur bakteri *Escherichia coli*. *Care: Jurnal Ilmiah Ilmu Kesehatan*, 10(3), 460–468.
<https://doi.org/10.33366/jc.v10i3.2677>
- Pokharel, P., Dhakal, S., & Dozois, C. M. (2023). The diversity of *Escherichia coli* pathotypes and vaccination strategies against this versatile bacterial pathogen. *Microorganisms*, 11(2), 344.
<https://doi.org/10.3390/microorganism11020344>
- Prasetya, Y. A., Jannah, N. M., & Wardhana, A. G. (2021). Formulasi jagung manis sebagai media alternatif pertumbuhan bakteri patogen. *Meditory: The Journal of Medical Laboratory*, 9(2), 103–109.

<https://doi.org/10.33992/m.v9i2.1574>

Tjay, T. H., & Rahardja, K. (2015). *Obat-obat penting: Khasiat, penggunaan, dan efek-efek sampingnya* (edisi ke-6). PT Elex Media Komputindo.

Welagedara, J. L., & Liyanapathirana, V. (2025). Quality control in antibiotic susceptibility testing: Insights into laboratory technologists' knowledge, attitudes, and practices in a low- and middle-income country setting. *Journal of Laboratory Physicians*, 17, 218–224.

https://doi.org/10.25259/JLP_90_2025