

**LAPORAN PENELITIAN MANDIRI**

**UJI KEPEKAAN BEBERAPA SEDIAAN ANTISEPTIK  
TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN  
*Staphylococcus aureus* Resisten Metisilin (MRSA)**

Oleh:

Dra. Rr. Sulistyaningsih, M.Kes., Apt.



**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS PADJADJARAN  
JATINANGOR  
2010**

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan atas kehadiran dan limpahan rahmat dari Allah S.W.T. sehingga penelitian yang berjudul “Uji Kepekaan Beberapa Sediaan Antiseptik terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus aureus* Resisten Metisilin (MRSA)” dapat terselesaikan.

Penelitian ini tidak lepas dari peran berbagai pihak yang telah membantu peneliti dari awal hingga akhir pelaksanaan. Untuk itu, sebagai bentuk penghargaan perkenankanlah peneliti untuk mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Anas Subarnas, M.Sc. selaku Dekan Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran.
2. Dra. Dewi Rusmiati, Apt. , selaku kepala Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran, yang telah memberikan bantuan dan pengarahan dalam penelitian ini.

Kami menyadari bahwa dalam penulisan laporan penelitian ini masih terdapat kekurangan, karena itu kami mengharapkan kritik dan saran yang membangun. Akhir kata penulis berharap semoga penelitian ini dapat memberikan manfaat bagi tenaga medis, laboratorium dan Rumah Sakit.

Jatinangor, Januari 2010

Penyusun

**LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN  
LAPORAN AKHIR PENELITIAN MANDIRI  
TAHUN ANGGARAN 2009**

1. a. Judul Penelitian	: Uji Kepekaan Beberapa Sediaan Antiseptik Terhadap Bakteri <i>S.aureus</i> dan <i>MRSA</i>
b. Macam penelitian	: ( ) Dasar ( ) Terapan ( ) Pengembangan
c. Katagori	: I/II/III
2. Ketua Peneliti	
a. Nama lengkap dan Gelar	: Dra. Rr. Sulistyaningsih, M.Kes., Apt.
b. Jenis kelamin	: Perempuan
c. Pangkat/Gol/NIP	: Asisten Ahli /IIIb/19550805 198601 2001
d. Jabatan fungsional	: Penata Tk. I
e. Fakultas/Jurusan	: Farmasi/Farmasi
f. Bidang ilmu yang diteliti	: Mikrobiologi-Bioteknologi
3. Jumlah tim peneliti	: -
4. Lokasi penelitian	: Fakultas Farmasi UNPAD
5. Bila penelitian ini merupakan peningkatan kerja sama kelembagaan, sebutkan:	
a. Nama Instansi	: -
b. Alamat	: -
6. Jangka waktu penelitian	: 6 (enam) bulan
7. Biaya penelitian	: Mandiri

Mengetahui :  
Kepala Laboratorium Mikrobiologi  
Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran

Bandung, 10 Maret 2010  
Peneliti,

Dra. Dewi Rusmiati, Apt.  
NIP. 19500501 197602 2002

Dra. Rr. Sulistyaningsih, M.Kes., Apt.  
NIP. 19550805 198601 2001

Menyetujui :  
Dekan Fakultas Farmasi  
Universitas Padjadjaran

Prof. Dr. Anas Subarnas, M.Sc  
NIP. 19520719 198503 1001

## DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK.....	i
ABSTRACT.....	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	iv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Infeksi Nosokomial.....	3
2.2 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	4
2.2.1 Klasifikasi.....	4
2.2.2 Karakteristik.....	5
2.2.3 Struktur Antigen.....	6
2.2.4 Toksin dan Enzim.....	6
2.2.5 Epidemiologi.....	8
2.2.6 Patogenesis.....	8
2.2.7 Pengobatan <i>S. aureus</i> .....	10
2.2.8 Resistensi Antibiotik.....	11
2.3 <i>Staphylococcus aureus</i> Resisten Metisilin (MRSA).....	13
2.4 Antiseptik.....	14
2.5 Metode Koefisien Fenol.....	18

BAB III TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	
3.1 Tujuan Penelitian .....	20
3.2 Manfaat Penelitian .....	20
BAB IV METODE PENELITIAN	
4.1 Alat .....	21
4.2 Bahan .....	21
4.2.1 Antiseptik Uji .....	21
4.2.2 Bakteri Uji.....	21
4.2.3 Bahan Kimia.....	22
4.3 Metode Penelitian.....	22
4.3.1 Isolasi Dan Identifikasi Bakteri <i>S.aureus</i> sampel Klinik	22
4.3.2 Uji Resistensi.....	24
4.3.3 Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum.....	24
4.3.4 Uji Koefisien Fenol.....	25
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	
5.1 Hasil Isolasi Dan Identifikasi <i>S.aureus</i> sampel Klinik.....	27
5.2 Hasil Uji Resistensi.....	29
5.3 Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum.....	31
5.4 Hasil Penentuan Koefisien Fenol.....	33
BAB VI SIMPULAN DAN SARAN	
6.1 Simpulan .....	40
6.2 Saran .....	40
DAFTAR PUSTAKA.....	41

## ABSTRAK

*Staphylococcus aureus* Resisten Metisilin (MRSA) merupakan bakteri yang resisten terhadap antibiotika metisilin dan merupakan penyebab utama infeksi nosokomial yang terus meningkat dari tahun ke tahun. Pencegahan terjadinya penularan MRSA dapat dilakukan melalui penggunaan antiseptik yang peka terhadap bakteri ini. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kepekaan bakteri *S. aureus* dan MRSA terhadap tiga jenis antiseptik, yaitu triklosan, povidon iodin dan klorosilenol, melalui penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan koefisien fenol. Penelitian dilakukan dengan cara mengisolasi bakteri, mengidentifikasi bakteri dengan uji biokimia, uji resistensi dengan metode cakram kertas, penentuan KHM dengan metode pengenceran agar, serta penentuan koefisien fenol. KHM sampel A (triklosan) terhadap *S. aureus* adalah 0,00005% dan terhadap MRSA 0,0004%. KHM sampel B ( povidon iodin) terhadap kedua bakteri uji adalah 0,06%. KHM sampel C (klorosilenol) terhadap kedua bakteri uji adalah 0,005%. Nilai koefisien fenol sampel A, B dan C terhadap *S. aureus* dan MRSA berturut-turut adalah 5714 dan 1214, 50 dan 46, 107 dan 88. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ketiga jenis antiseptik tersebut masih memiliki kepekaan terhadap *S. aureus* dan MRSA.

Kata kunci: Antiseptik, *S. aureus*, MRSA, konsentrasi hambat minimum, koefisien fenol

## **ABSTRACT**

*Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) is Staphylococcus aureus that resistant to antibiotic methicillin and one of the most common causes of bacterial nosocomial infections that increasing time by time. Prevention of MRSA infection by using an antiseptical product that sensitive to this bacteria. This experiment is to know sensitivity of S. aureus and MRSA with three antiseptical products containing triclosan, povidone iodine, and chloroxylenol by minimum inhibitory concentration determination and coefficient phenol. This experiment was done by bacteria isolation, bacteria identification with biochemistry test, resistance test with paper disk, minimum inhibitory concentration (MIC) determination by agar dilution method, and effectivity test by coefficient phenol. Triclosan's MIC for both S. aureus and MRSA were 0.00005% and 0.0004%. The MIC of povidone iodine for both bacteria were 0.06%. Another the MIC of chloroxylenol for both bacteria were 0.005%. Coefficient phenol value of three samples for both S. aureus and MRSA were 5714 and 1214, 50 and 46, 107 and 88. The conclusion of this research showed that antiseptical products containing triclosan, povidone iodine, and chloroxylenol were still sensitive to S. aureus and MRSA.*

*Key words: Antiseptic, S. aureus, MRSA, minimum inhibitory concentration, coefficient phenol*

## **BAB 1**

### **PENDAHULUAN**

Infeksi nosokomial merupakan infeksi yang terjadi pada pasien rawat inap di rumah sakit. Di Amerika Serikat, dua juta pasien/tahun terserang infeksi nosokomial dengan mengeluarkan dana sebesar \$ 4,1 miliar - \$11 miliar (Klein, *et al.*, 2007). Di Indonesia, penelitian yang dilakukan di sebelas rumah sakit di DKI Jakarta pada 2004 menunjukkan bahwa 9,8 % pasien rawat inap mendapat infeksi yang baru selama dirawat. Dilaporkan pula bahwa infeksi nosokomial mengakibatkan 88.000 pasien di dunia meninggal setiap tahunnya (Wahid, 2007).

Infeksi nosokomial menjadi ancaman besar terhadap kesehatan karena saat ini banyak ditemukan bakteri yang resisten terhadap berbagai jenis antibiotik. Salah satu bakteri yang sering menyebabkan terjadinya infeksi nosokomial di rumah sakit yaitu *Staphylococcus aureus* sebesar 21,7%. Pada saat ini sekitar 40% bakteri *S. aureus* yang dapat diisolasi di rumah sakit, diketahui resisten terhadap beberapa jenis antibiotik turunan  $\beta$ -laktam dan sefalosporin, tetapi masih sensitif terhadap antibiotik vankomisin dan klindamisin (Aguilar, *et al.*, 2003).

*S. aureus* merupakan salah satu bakteri yang dapat memproduksi enzim  $\beta$ -laktam. Enzim ini akan menghilangkan daya antibakteri terutama golongan penisilin seperti metisilin, oksasilin, penisilin G dan ampisilin. Adanya enzim tersebut akan merusak cincin  $\beta$ -laktam sehingga antibiotik menjadi tidak aktif. Strain *S. aureus* yang telah resisten terhadap antibiotik metisilin disebut



*Staphylococcus aureus* Resisten Metisilin (*MRSA*) (Juuti, 2004). Pada beberapa dekade belakangan, insiden infeksi *MRSA* terus meningkat di berbagai belahan dunia. Di Asia, prevalensi infeksi *MRSA* kini mencapai 70%, sementara di Indonesia pada tahun 2006 prevalensinya berada pada angka 23,5% (Wahid, 2007).

Penularan *MRSA* dapat melalui pemasangan alat kesehatan, petugas kesehatan, ataupun melalui kontak dengan udara. Pasien yang berisiko tinggi terkena infeksi *MRSA* yaitu pasien yang menjalani pembedahan dan rawat inap lama, pasien dengan kateter dalam, pasien yang dirawat di pusat perawatan trauma dan unit luka bakar (Brien, *et al.*, 2004). Pencegahan infeksi nosokomial yang disebabkan *MRSA* dapat dilakukan dengan penggunaan antiseptik. Antiseptik merupakan zat yang biasa digunakan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme yang hidup di permukaan tubuh (Isadiartuti & Retno, 2005).

Penelitian di Jepang pada tahun 2005 telah menemukan adanya gen yang mengkode resistensi terhadap antiseptik pada *MRSA* yaitu gen *qacA/B* dan *smr* yang mengakibatkan terjadinya resistensi terhadap akriflavin (Noguchi, *et al.*, 2005). Berdasarkan hal tersebut, perlu dilakukan pengujian kepekaan antiseptik terhadap *MRSA*.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Infeksi Nosokomial**

Infeksi nosokomial merupakan infeksi yang didapat penderita ketika penderita tersebut dirawat di rumah sakit, atau pernah dirawat di rumah sakit. Infeksi nosokomial tidak hanya terjadi pada penderita tetapi juga setiap orang yang kontak dengan rumah sakit, termasuk petugas kesehatan, sukarelawan, pengunjung, dan pengantar makanan. Infeksi nosokomial yang sering terjadi antara lain infeksi saluran kencing, terutama pada pasien yang harus menggunakan kateter, infeksi di bagian tubuh yang harus dilukai ketika operasi, infeksi saluran pernafasan (pneumonia), dan infeksi saluran cerna (Cahtim & Suharto, 1993).

Di Amerika Serikat (1999) diperkirakan 3-7% penderita yang masuk rumah sakit mendapatkan infeksi nosokomial. Di Inggris prevalensi infeksi nosokomial sebesar 5-20%. Menurut survei WHO 2002, prevalensi infeksi nosokomial di Asia Tenggara sekitar 10 %. Hal ini menunjukkan bahwa infeksi nosokomial merupakan masalah kesehatan yang penting (Klein, *et al.*, 2005). Di Indonesia belum ada angka terpadu yang dapat menunjukkan besar prevalensi infeksi nosokomial, tetapi masalah yang digambarkan diatas relevan dengan keadaan Indonesia. Hal ini diperkirakan ada hubungannya dengan keadaan rumah sakit di Indonesia belum seperti yang diharapkan sehingga angka kematian dan penyebaran penyakit akibat infeksi nosokomial tinggi (Cahtim & Suharto, 2003).

Organisme penyebab infeksi nosokomial dapat berupa bakteri, virus, jamur atau parasit. Kebanyakan masalah infeksi nosokomial disebabkan oleh bakteri dan virus. Beberapa bakteri yang diketahui sebagai penyebab infeksi nosokomial antara lain *Pseudomonas aeruginosa* (33%), *Staphylococcus aureus* (21,7%), *Klebsiella sp.* (16,7%), *Escherichia coli* (11,7%), *Atypical coliform* (6,7%), *Proteus sp.* (6,7%), *Streptococcus pyogenes* (1,7%), dan *Enterococcus faecalis* (1,7%) (Oguntibeju & Nwobu, 2004). Pada saat ini sekitar 40% bakteri *S. aureus* yang dapat diisolasi di rumah sakit, diketahui resisten terhadap beberapa jenis antibiotik turunan  $\beta$ -laktam dan sefalosporin, tetapi masih sensitif terhadap antibiotik vankomisin dan klindamisin (Aguilar, *et al.*, 2003).

## **2.2 *Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus* berasal dari kata Yunani yaitu "staphyle" yang berarti sekelompok anggur. Bakteri ini umumnya hidup pada kulit dan membran mukosa manusia. *Staphylococcus aureus* merupakan jenis bakteri yang paling penting dalam menyebabkan infeksi pada manusia. Hampir setiap orang akan mengalami beberapa tipe infeksi *S. aureus* sepanjang hidupnya, dari infeksi kulit ringan, keracunan makanan, sampai infeksi berat (Jawetz, *et al.*, 1996; Stanway, 2007).

### **2.2.1 Klasifikasi**

*Staphylococcus aureus* memiliki klasifikasi sebagai berikut (Todar, 2005):

Dunia : Prokariota

Divisi : Firmicutes

Kelas : Bacilli

Ordo : Bacillales

Family : Micrococcaceae

Genus : *Staphylococcus*

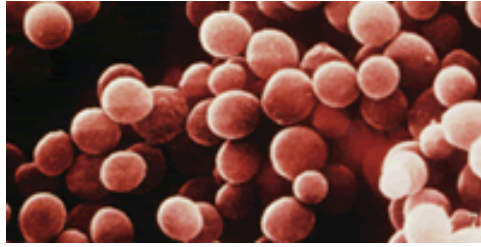
Species : *S. aureus*

Terdapat 23 spesies *Staphylococcus* dan dua belas diantaranya merupakan flora normal bagi manusia dan yang terpenting secara klinis ada tiga spesies yaitu *S. aureus*, *S. pidermidis*, *S. saprophyticus*. Ciri utama yang paling mudah dan penting untuk membedakan antara *S. aureus* dengan spesies *Staphylococcus* lainnya yaitu produksi enzim koagulase, enzim yang dapat menggumpalkan plasma. Sekitar 97% *S. aureus* yang diisolasi menghasilkan enzim ini (Jawetz, *et al.*, 1996).

### 2.2.2 Karakteristik

*S. aureus* merupakan bakteri Gram positif, berbentuk bola dengan garis tengah sekitar 1  $\mu\text{m}$ , tidak bergerak, tidak membentuk spora, tersusun dalam kelompok tidak beraturan, dan menghasilkan katalase positif. Bakteri ini tahan pada suhu 50<sup>0</sup>C, dan pada lingkungan dengan konsentrasi garam yang tinggi, mudah membentuk pigmen pada suhu kamar (20-25 C). Koloni *S. aureus* pada perbenihan padat berbentuk bundar, halus menonjol, dan berwarna abu-abu sampai kuning emas tua (Tolan, 2008).

Gambaran *S. aureus* secara mikroskopik dapat dilihat pada gambar di bawah ini:



Gambar 2.1 *Staphylococcus aureus* (Todar, 2005)

### 2.2.3 Struktur Antigen

*Staphylococcus* mengandung polisakarida dan protein yang bersifat antigen yang merupakan substansi penting di dalam struktur dinding sel. Peptidoglikan, suatu polimer polisakarida yang mengandung subunit yang terangkai, merupakan eksoskeleton kaku pada dinding sel. Struktur antigen yang diproduksi oleh *S. aureus* diantaranya (Jawetz, *et al.*, 1996):

1. Asam teikoat merupakan polimer gliserol berikatan dengan peptidoglikan dan menjadi bersifat antigenik.
2. Protein A merupakan komponen dinding sel kebanyakan strain *S. aureus* dan merupakan reagen penting dalam imunologi dan teknologi diagnostik laboratorium.

### 2.2.4 Toksin dan Enzim

*S. aureus* dapat menimbulkan penyakit melalui pembentukan zat ekstraselular yang dibentuk yaitu berupa toksin dan enzim. Toksin dan enzim ini akan menyebabkan penyakit menyebar luas ke dalam jaringan. Beberapa toksin dan enzim yang dihasilkan oleh *S. aureus* antara lain (Jawetz, *et al.*, 1996; Wannet, *et al.*, 2005) :

1. Katalase, merupakan suatu enzim yang dihasilkan oleh *S. aureus* yang dapat mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Tes katalase dapat membedakan antara *Staphylococcus* dengan *Streptococcus* yang menunjukkan hasil negatif untuk *Streptococcus*.
2. Koagulase, merupakan suatu enzim yang dapat menggumpalkan plasma. Hasil koagulase ini dianggap sinonim dengan potensial patogenik invasif .
3. Enzim lain yang dihasilkan yaitu hialuronidase Enzim ini yang mempermudah penyebaran bakteri dalam menginvasi suatu penyakit sehingga disebut faktor penyebar. Selain itu juga, dihasilkan stafilokinase yang mengakibatkan fibrinosis tetapi kerjanya lebih lambat daripada streptokinase, proteinase, dan  $\beta$  laktamase.
4. Eksotoksin, meliputi beberapa toksin yang mematikan jika disuntikkan pada hewan, menyebabkan nekrosis pada kulit, dan mengandung hemolisin yang dapat larut dan dipisahkan dengan elektroforesis.
5. Leukosidin, merupakan suatu toksin yang dapat mematikan sel-sel darah putih apabila toksin tersebut masuk ke dalam jaringan.
6. Toksin eksfoliatif meliputi sekurangnya dua protein yang mengakibatkan pengelupasan menyeluruh pada sindroma kulit lepuh. Antibodi spesifik dapat melindungi terhadap kerja toksin eksfoliatif ini.
7. Toksin Sindroma Syok Toksik (TSST-1) dapat menstimulasi pelepasan sitokin dan memiliki efek langsung juga terhadap sel endotel. Pada sel endotel toksin ini menyebabkan kebocoran kapiler, hipotensi, demam dan syok. Gen TSST-1 ditemukan pada 20 % isolat *S. aureus*.

### 2.2.5 Epidemiologi

Epidemi di rumah sakit yang disebabkan oleh *S. aureus* merupakan masalah yang sering terjadi berulang. Terjadinya wabah biasanya berhubungan dengan pasien yang telah menjalani pembedahan atau tindakan invasif lainnya. Sumber wabah dapat berasal dari pasien dengan infeksi *S. aureus* yang terbuka atau tertutup, menyebar ke pasien lain melalui perantara udara tapi biasanya melalui tangan paramedis. *S. aureus* sebagai flora normal kulit sering menimbulkan infeksi pada luka bedah karena berpindah dari tempat semestinya ke organ atau jaringan lainnya (Djafar, 1993).

### 2.2.6 Patogenesis

*S. aureus* dapat menyebabkan terjadinya berbagai jenis infeksi mulai dari infeksi kulit ringan, keracunan makanan sampai dengan infeksi sistemik. Infeksi kulit yang biasanya disebabkan oleh *S. aureus* yaitu impetigo, selulitis, folikulitis, abses. *S. aureus* menyebabkan keracunan makanan karena adanya enterotoksin yang dihasilkan oleh *S. aureus* yang terdapat pada makanan yang tercemar. Gejala yang muncul akibat keracunan makanan ini yaitu sakit kepala, mual, muntah, disertai diare yang muncul setelah empat sampai lima jam mengonsumsi makanan tersebut (Salmenlina, 2002). Enterotoksin lain yaitu Toksin Syok Sindroma Toksik (TSST-1) yang dihasilkan *S. aureus* juga dapat menyebabkan penyakit *Toxic Shock Syndrom* (TSS). Enterotoksin ini dapat tumbuh di tampon sehingga dapat memasuki aliran darah dan menyebabkan gejala TSS. Gejala yang muncul antara lain demam tinggi, muka memerah, pengelupasan kulit, dan

hipotensi. TSS merupakan penyakit yang serius yang dapat menyebabkan pembusukan jaringan (Salyers & Dixie, 1994; Salmenlina, 2002).

Infeksi sistemik dapat terjadi karena bakteri masuk ke dalam darah, dan berkembang menjadi bakteremia. Di dalam sirkulasi darah, bakteri dapat meluas ke berbagai bagian tubuh dan menyebabkan infeksi. Infeksi yang dapat terjadi yaitu endokarditis, osteomielitis, sindrom kulit melepuh, pneumonia (Ontengco, *et al.*, 2003). Osteomielitis merupakan infeksi yang terjadi pada tulang yang sedang tumbuh, biasanya terjadi pada anak-anak. Infeksi ini disebabkan karena adanya infeksi pada saat pembedahan tulang sehingga bakteri dapat berpenetrasi melalui luka yang terbentuk dan secara langsung menginfeksi tulang yang terluka. Berbeda dengan osteomielitis, endokarditis disebabkan karena bakteri masuk melalui penggunaan obat secara intravena atau penggunaan cateter yang kemudian masuk ke dalam aliran darah dan menginfeksi sel endotel (Salmenlina, 2002; Juuti, 2004). Bakteri dapat menempel dan merusak daerah endotelium, atau secara langsung masuk ke sel endotel melalui fagositosis sehingga menyebabkan pelepasan respon inflamasi yang ditandai dengan demam yang tinggi (Todar, 2005).

Infeksi lainnya yaitu sindrom kulit melepuh yang disebabkan oleh toksin eksfoliatif. Toksin ini menyebabkan lapisan kulit luar mengelupas. Biasanya risiko terjadinya meningkat pada anak-anak karena memiliki antibodi pelindung yang lemah terhadap eksotoksin dan enterotoksin yang merespon terjadinya sindrom klinik tersebut. Pneumonia jarang terjadi namun jika terjadi akan



menyebabkan kerusakan sel paru-paru yang dapat berakibat kematian (Juuti, 2004).

Berbagai infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus* dimediasi oleh faktor virulen dan respon imun sel inang. Secara umum bakteri menempel ke jaringan sel inang kemudian berkoloni dan menginfeksi. Selanjutnya bertahan, tumbuh, dan mengembangkan infeksi berdasarkan kemampuan bakteri untuk melawan peertahanan tubuh sel inang. Respons sel inang dimediasi oleh leukosit yang diperoleh dari ekspresi molekul adhesi pada sel endotel. Komponen dinding sel dari *S. aureus* yaitu peptidoglikan dan asam teikoat, memacu pelepasan sitokin. Leukosit dan faktor sel inang lainnya dapat dirusak secara lokal oleh toksin yang dihasilkan oleh bakteri tersebut. Selain itu adanya protein yang terdapat pada bakteri mengakibatkan respon anti inflamasi. Protein ini juga menghambat sekresi leukosit sel inang dengan cara berinteraksi langsung dengan protein sel inang, dan fibrinogen. Apabila tubuh tidak cukup berhasil mengatasi infeksi tersebut maka akan terjadi inflamasi lokal (Todar, 2005).

### **2.2.7 Pengobatan *S. aureus***

Pengobatan infeksi *S. aureus* biasanya menggunakan antibiotik turunan penisilin seperti metisilin, dan oksasilin. Namun sebagian besar strain *S. aureus* ditemukan telah resisten terhadap antibiotik penisilin sehingga antibiotik turunan penisilin sudah jarang digunakan. Pemilihan antibiotik lain yang sekarang digunakan untuk mengobati *S. aureus* yang telah resisten terhadap turunan penisilin yaitu vankomisin dan teikoplanin. Kedua antibiotik ini digunakan

sebagai pilihan utama dalam mengobati infeksi yang disebabkan oleh MRSA. Selain kedua antibiotik tersebut, juga digunakan klindamisin, sulfametoksazole-trimetoprim, gentamisin sebagai pilihan lain untuk mengobati infeksi *S. aureus* yang telah resisten (Lowy, 2003)

### 2.2.8 Resistensi Antibiotik

Sebagian besar galur *S. aureus* yang berasal dari rumah sakit diketahui telah resisten terhadap berbagai jenis antibiotik. Hal ini dapat disebabkan karena *S. aureus* mampu mengkode enzim  $\beta$ -lactam dari antibiotik yang dapat memediasi terjadinya resistensi terhadap beberapa antibiotik.

Beberapa antibiotik yang telah resisten terhadap MRSA yaitu:

#### 1. Penisilin

Saat ini diketahui lebih dari 90 isolat *S. aureus* memproduksi penisilinase. *Staphylococcus* yang resisten terhadap penisilin dimediasi oleh *blaZ*. Gen ini mengkode enzim yang disintesis ketika *Staphylococcus* diberikan antibiotik  $\beta$ -lactam. Enzim ini mampu menghidrolisis cincin  $\beta$ -lactam, yang menyebabkan terjadinya inaktivasi  $\beta$ -lactam (Lowy, 2003).

#### 2. Metisilin

Resistensi metisilin terjadi karena adanya perubahan protein pengikat penisilin (PBP). Hal ini disebabkan karena gen *mecA* mengkode 78 –kDa penicilin pengikat protein 2a (PBP2a) yang memiliki afinitas yang kecil terhadap semua antibiotik  $\beta$ -lactam. Hal ini memudahkan *S. aureus* bertahan pada konsentrasi yang tinggi dari zat tersebut, resistensi terhadap metisilin menyebabkan

resistensi terhadap semua agen  $\beta$ -lactam, termasuk cephalosporin (Juuti, 2004).

### 3. Kuinolon

Fluorokuinolon pertama kali dikenalkan untuk pengobatan infeksi bakteri gram positif pada tahun 1980. Resistensi terhadap fluorokuinolon sangat cepat dibandingkan dengan resisten terhadap metisilin. Hal ini menyebabkan kemampuan fluorokuinolon sebagai anti bakteri menurun. Resistensi terhadap fluorokuinolon berkembang sebagai hasil mutasi kromosomal spontan dalam target terhadap antibiotik atau dengan induksi pompa effluks berbagai obat (Lowy, 2003).

### 4. Vankomisin

Vankomisin menjadi meningkat penggunaannya untuk mengobati Infeksi yang disebabkan oleh MRSA. Pada tahun 1997, laporan pertama vankomisin Intermediet Resisten *S. aureus*, dilaporkan di Jepang, dan berkembang di negara lain. Penurunan sensitifitas vankomisin terhadap *S. aureus* terjadi karena adanya perubahan dalam biosintesis peptidoglikan bakteri tersebut (Lowy, 2003).

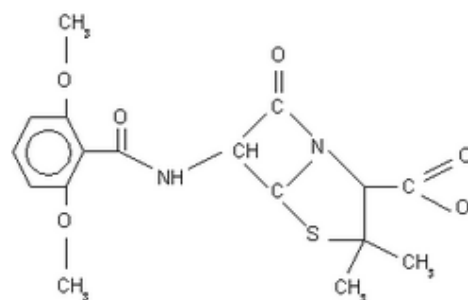
### 5. Kloramfenikol

Resistensi terhadap kloramfenikol disebabkan karena adanya enzim yang menginaktivasi kloramfenikol dengan mengkatalisis proses asilasi terhadap gugus hidroksi dalam kloramfenikol menggunakan donor gugus etil berupa asetil koenzim A. Akibatnya dihasilkan derivat asetoksi kloramfenikol yang tidak mampu berikatan dengan ribosom bakteri (Lowy, 2003).

### 2.3 *Staphylococcus aureus* Resisten Metisilin (MRSA)

*S. aureus* pertama kali menjadi patogen penting rumah sakit pada tahun 1940-an. Pengobatan infeksi ini menggunakan penisilin G (benzil penisilin) merupakan antimikroba golongan  $\beta$ -lactam. Satu dekade kemudian muncul strain resisten penisilin. Strain ini menginaktivasi antimikroba yang memiliki cincin enzim  $\beta$ -lactam. Enzim ini menghidrolisis ikatan amida siklik yang berikatan dengan cincin  $\beta$ -lactam sehingga menimbulkan hilangnya aktivitas antibakterisidal antimikroba tersebut, oleh karena itu dikembangkanlah usaha untuk mendapatkan obat yang tahan terhadap  $\beta$ -lactamase (Salmenlina, 2002).

Metisilin merupakan penisilin modifikasi yang diperkenalkan pada tahun 1960-an. Antibiotik ini digunakan untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap sebagian besar penisilin. Pada tahun 1961 strain *S. aureus* yang resisten terhadap metisilin ditemukan (Juuti, 2004).



Gambar 2.2 Struktur metisilin (Juuti, 2004)

Mekanisme resistensi *S. aureus* terhadap metisilin dapat terjadi melalui pembentukan PBP lain yang sudah dimodifikasi, yaitu PBP<sub>2a</sub> yang mengakibatkan penurunan afinitas antimikroba golongan  $\beta$ -laktam. Suatu strain

yang resisten terhadap metisilin berarti akan resisten juga terhadap semua derivat penisilin, sefalosporin dan karbapenem. Penisilin bekerja dengan mengikat pada beberapa PBP dan membunuh bakteri dengan mengaktifasi enzim autolitiknya sendiri. Pembentukan PBP2a ini menyebabkan afinitas terhadap penisilin menurun sehingga bakteri tidak dapat diinaktivasi. PBP-2a ini dikode oleh gen *mecA* yang berada dalam transposon (Salmenlina, 2002 ).

## 2.4 Antiseptik

Antiseptik merupakan zat yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme yang hidup di permukaan tubuh. Mekanisme kerja antiseptik ini antara lain merusak lemak pada membran sel bakteri atau dengan cara menghambat salah satu kerja enzim pada bakteri yang berperan dalam biosintesis asam lemak (Isadiartuti & Retno, 2005). Zat aktif yang terkandung dalam antiseptik yang biasa digunakan antara lain :

### 1. Alkohol

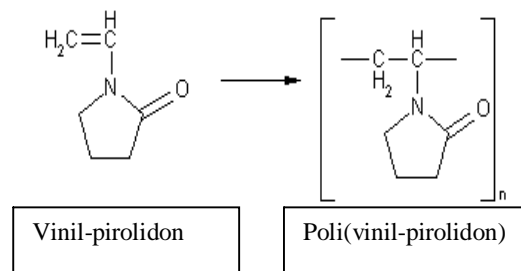
Alkohol merupakan zat yang memiliki aktivitas antimikroba spektrum luas dalam membunuh bakteri, virus, dan jamur tetapi tidak bersifat sporisidal. Mekanisme kerja alkohol dengan cara mendenaturasi protein dengan jalan dehidrasi dan juga melarutkan lemak. Kadar antiseptik alkohol yang paling baik yaitu 70%-90%, dan yang biasa dipakai sebagai antiseptik kulit yaitu yang mempunyai kandungan 70%, dengan kandungan 70% tersedia cukup molekul air yang akan mempercepat proses penguapan juga mempercepat proses penetrasi ke jaringan. Terdapat tiga macam alkohol yang digunakan

sebagai antiseptik kulit: etil (etanol), normal-propil, dan isopropil. Penggunaan alkohol 70% pada tangan dapat mengurangi jumlah bakteri sampai 99,7%. Oleh karena itu alkohol 70% merupakan konsentrasi yang baik sebagai antiseptik kulit (Ascenzi, 1996).

## 2. Klorheksidin glukonat

Klorheksidin glukonat (CHG) biasa dipakai di Eropa dan Kanada beberapa tahun yang lalu sebelum digunakan di USA pada tahun 1970. Klorheksidin mempunyai efek antibakteri dengan mengganggu sel membran bakteri dan menyebabkan presipitasi dari isi sel bakteri. CHG bersifat spektrum luas bakteri, dan bekerja lebih efektif terhadap bakteri gram positif daripada gram negatif. Penggunaan CHG terhadap makhluk hidup pada beberapa percobaan tidak menimbulkan efek toksik, bahkan bila digunakan pada bayi baru lahir sekalipun, karena penyerapannya pada kulit minimal. Bila digunakan pada mata akan menyebabkan kerusakan pada kornea mata. Sindroma urtikaria yang berlanjut menjadi reaksi anafilaksis pernah dilaporkan ( Ascenzi, 1996).

## 3. Iodin dan iodofor



Gambar 2.3 Povidon (Page, 1992)

Iodium tingtur telah lama digunakan sebagai antiseptik kulit sebelum prosedur operasi. Bersifat relatif lebih aman dan bekerja cepat, tapi tidak dianjurkan untuk mencuci tangan sehari-hari karena menyebabkan iritasi pada kulit (Page, 1992). Produk yang mengandung iodium yang digunakan untuk antiseptik tangan sebelum prosedur pembedahan adalah iodofor. Iodofor bersifat kompleks terdiri dari iodin dan povidon. Kombinasi tersebut meningkatkan kelarutan dari iodin. Iodin merupakan bahan kimia utama dan faktor bakterisidal dalam aktivitas iodofor yang akan berubah dengan adanya proses difusi. Aktivitas antibakteri iodofor sama dengan iodin yaitu dengan penetrasi dinding sel bakteri, oksidasi, dan mengganti kandungan bakteri dengan iodin bebas. Iodin dan iodofor mempunyai spektrum luas dalam membunuh bakteri gram positif dan gram negatif (Ascenzi, 1996).

#### 4. Heksaklorofen

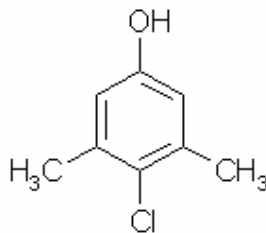
Heksaklorofen (HCP) merupakan bisfenol klorin dengan konsentrasi tinggi mengganggu dinding sel bakteri dan menyebabkan presipitasi protein sel. Pada konsentrasi rendah akan menginaktifkan sistem enzim pada bakteri. Pada konsentrasi yang biasa digunakan sebanyak 3% mempunyai efek bakteristatik untuk kokus gram positif tetapi mempunyai aktivitas rendah dalam melawan gram negatif, virus, atau jamur (Ascenzi, 1996).

HCP mempunyai efek lambat dalam hal membunuh bakteri. Keuntungan yang utama dari HCP ialah bahwa HCP bersifat persisten pada kulit. Kelemahan dari HCP ini yaitu jika digunakan dalam jangka waktu lama tanpa indikasi

yang jelas akan meningkatkan jumlah pertumbuhan flora normal kulit. (Ascenzi, 1996).

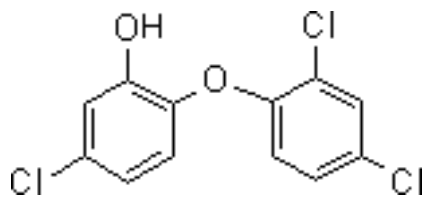
#### 5. Para-kloro-meta-silenol

Para-kloro-meta-silenol (PCMX) merupakan halogen yang disubstitusi silenol yang mempunyai aktivitas antibakteri dengan mengganggu dinding sel bakteri dan menginaktifkan enzim. Aktivitasnya kurang dari CHG dan mempunyai aktivitas yang baik dalam melawan bakteri gram positif tetapi kurang efektif untuk bakteri gram negatif. PCMX aktivitas khususnya melawan *Pseudomonas sp.* Senyawa ini juga mempunyai aktivitas yang baik terhadap virus, dan jamur. PCMX bekerja aktif pada suasana basa tetapi efeknya akan dinetralkan oleh surfaktan non ionik ( Ascenzi, 1996).



Gambar 2.4 Klorosilenol (Lund, 1994)

#### 6. Triklosan



Gambar 2.5 Triklosan (Kapoor, *et al.*, 2004)



Triklosan merupakan antiseptik bisfenol. Bisfenol yaitu gabungan dua fenol yang dihubungkan oleh rantai yang bermacam-macam. Triklosan mempunyai aktivitas antibakteri dengan merusak dinding sel bakteri. Triklosan memiliki spektrum yang luas, mempunyai daya antibakteri yang baik untuk bakteri gram positif dan kebanyakan gram negatif tetapi berefek lemah terhadap jamur dan virus. Triklosan dapat diabsorpsi melalui kulit dan bersifat non alergik non mutagenik pada penggunaan jangka pendek. Kadar triklosan yang direkomendasikan oleh FDA yaitu 0,2% ini merupakan kadar minimal yang baik yang akan bekerja maksimal sebagai antibakteri (Kapoor, *et al.*, 2004)

## 2.5 Metode Koefisien Fenol

Metode yang umum digunakan untuk menentukan aktivitas suatu antiseptik adalah metode koefisien fenol. Uji fenol merupakan uji standar yang digunakan untuk membandingkan suatu zat yang bersifat antiseptik dengan fenol sebagai zat pembanding, hasilnya dinyatakan dalam koefisien fenol (Lund, 1994). Uji fenol dilakukan dengan memasukkan suatu volume tetentu organisme uji ke dalam larutan fenol murni dan zat kimia yang akan diuji pada berbagai pengenceran. Setelah interval tertentu, suatu jumlah tertentu dari tiap pengenceran diambil dan ditanam pada media perbenihan lalu diinkubasi selama 18-24 jam. Setelah diinkubasi, dilakukan pengawasan pertumbuhan bakteri (Cahtim & Suharto, 1993).

Cara perhitungan Koefisien Fenol (Lund, 1994) adalah :

$$Pc = (Cat/Cbt + Cat'/Cbt') : 2$$

Keterangan:

Pc : Koefisien fenol

Cat : Pengenceran fenol waktu tercepat membunuh

Cbt : Pengenceran zat uji waktu tercepat membunuh

Cat' : Pengenceran fenol waktu tercepat membunuh

Cbt' : Pengenceran zat uji waktu terlama membunuh

## **BAB III**

### **TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN**

#### **3.1 Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Mengisolasi bakteri *S.aureus* dan *MRSA* dari rumah sakit.
- Mengetahui kepekaan bakteri *S.aureus* dan *MRSA* terhadap beberapa antiseptik yang beredar di pasaran.
- Menentukan nilai kosentrasi hambat minimum dari beberapa antiseptik yang beredar di pasaran terhadap bakteri *S.aureus* dan *MRSA*.
- Menentukan koefisien fenol dari beberapa antiseptik terhadap bakteri *S.aureus* dan *MRSA*.

#### **3.2 Manfaat Penelitian**

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan tambahan informasi apakah kosentrasi dari antiseptik yang beredar di pasaran masih efektif dalam menghambat/ membunuh bakteri *S.aureus* dan *MRSA*. Secara praktis diharapkan tenaga medis, laboratorium dan rumah sakit dapat menggunakan antiseptik dengan benar dan tepat.

Dalam tujuan jangka panjang dapat dibuat formulasi antiseptik dengan kosentrasi efektif yang khusus digunakan di rumah sakit yang dapat mencegah bakteri-bakteri penyebab infeksi nosokomial, sehingga dapat mengurangi resiko resistensi dari bakteri-bakteri tersebut.

## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4.1 Alat**

Autoklaf (Hirayama HL 42AE), bunsen (Propanagas), inkubator 37 °C (Sakura IF-4), kamera digital (OlympusC-160), lemari es (Nasional, GEA R-134a, General), mikropipet 40-200µl(Finnpipette), neraca analitis (SNUG IF-1500), oven (Handex 4), pinset (Renz), tip mikropipet 200µl, dan alat-alat gelas yang biasa digunakan digunakan di Laboratorium Mikrobiologi.

#### **4.2 Bahan**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari antiseptik uji, bakteri uji dan bahan kimia.

##### **4.2.1 Antiseptik Uji**

Antiseptik uji yang digunakan terdiri dari tiga jenis antiseptik yang beredar dipasaran di daerah Bandung yaitu antiseptik A yang mengandung triklosan, antiseptik B yang mengandung povidon iodin, dan antiseptik C yang mengandung klorosilenol.

##### **4.2.2 Bakteri Uji**

Bakteri Uji yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari Laboratorium Kesehatan Bandung dan

*Staphylococcus aureus* Resisten Metisilin (MRSA) hasil isolat klinik Rumah Sakit Hasan Sadikin, Bandung.

#### **4.2.3 Bahan Kimia**

Bahan Kimia yang digunakan yaitu agar nutrien (Oxoid), kaldu nutrien (Oxoid), agar Mueller Hinton (Oxoid), NaCl fisiologis (Merck), air suling steril, aseton (Brataco), media manitol (Merck), indikator metil merah (Merck), media MR-VP (Merck),  $\alpha$ -naftol (Merck), KOH (Merck), media urea (Merck), metisilin 10 $\mu$ g (Oxoid), eritromisin 15 $\mu$ g (Oxoid), ceftazidime 30 $\mu$ g (Oxoid), ciprofloksasin 5 $\mu$ g (Oxoid), cefoporazon 75  $\mu$ g (Oxoid), kloramfenikol 30  $\mu$ g (Oxoid), vankomisin 30  $\mu$ g (Oxoid), amoksisisilin 25  $\mu$ g (Oxoid).

#### **4.3 Metode Penelitian**

Metode penelitian yang dilakukan meliputi: isolasi dan identifikasi bakteri *S. aureus* sampel klinik, uji resistensi, uji konsentrasi hambat minimum, dan uji koefisien fenol.

##### **4.3.1 Isolasi dan Identifikasi Bakteri *S. aureus* Sampel Klinik**

Sampel klinik berupa nanah yang diperoleh dari usapan luka ditanamkan pada media agar darah dan diinkubasi selama 18-20 jam pada suhu 37°C. Koloni yang tumbuh diidentifikasi dengan uji tripton, manitol, Voges-Proskauer (VP), urea, dan uji koagulase.

1. Uji tripton

Suspensi bakteri yang akan diidentifikasi diambil menggunakan ose dan ditanamkan ke dalam dua media tripton. Salah satu media ditambahkan dengan parafin. Setelah itu kedua media diinkubasi pada suhu 37°C selama 20 jam. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi merah bata.

2. Uji manitol

Suspensi bakteri yang akan diidentifikasi diambil menggunakan ose. Setelah itu, satu ose koloni bakteri ditanamkan ke dalam media manitol. Media diinkubasi pada suhu 37°C selama 20 jam. Hasil positif ditunjukkan perubahan warna menjadi kuning..

3. Uji VP

Suspensi bakteri yang akan diidentifikasi diambil menggunakan ose. Setelah itu, satu ose koloni bakteri ditanamkan ke dalam media VP. Media diinkubasi pada suhu 37°C selama 20 jam. Hasil positif ditunjukkan dengan penambahan *α-Naphtol* dan KOH menghasilkan warna merah/ merah muda.

4. Uji urea

Suspensi bakteri yang akan diidentifikasi diambil menggunakan ose. Setelah itu, satu ose koloni bakteri digoreskan pada media urea dengan teknik gores zig-zag. Media diinkubasi pada suhu 37°C selama 20 jam. Hasil positif ditunjukkan dengan warna media menjadi merah muda.

5. Uji koagulase

Pada tes koagulase satu ose bakteri dicampurkan dengan plasma darah manusia kemudian diinkubasi pada suhu 37°C. Hasil dibaca tiap jam selama 4

jam, hasil positif bila ada penggumpalan. Apabila setelah 4 jam hasil tetap negatif, media diinkubasikan sampai 24 jam dan diamati hasilnya.

#### **4.3.2 Uji Resistensi**

*S. aureus* disuspensikan dalam 2 ml larutan NaCl fisiologis, lalu dibandingkan kekeruhannya dengan tabung Mc Farland 0,5 tingkat III. Suspensi biakan murni diambil menggunakan mikropipet sebanyak 20  $\mu$ L dan disebarakan ke permukaan Mueller Hinton agar dalam cawan petri secara merata. Medium uji tersebut didiamkan pada suhu kamar selama 15 menit untuk adaptasi bakteri dalam medium. Setelah itu pada permukaan medium diletakkan cakram antibiotik uji metisilin, amoksilin, eritromisin, ceftazidime, cefoporazon, kloramfenikol, vankomisin, ciprofloksasin, dan cefditrom secara aseptis menggunakan pinset, lalu inkubasi pada suhu 37<sup>o</sup>C selama 18-20 jam. Zona hambat yang terbentuk disekitar koloni diukur menggunakan jangka sorong. Data zona bening dibandingkan dengan data pada pustaka *Clinical and Laboratory Standards Institute*.

#### **4.3.3 Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)**

Penentuan KHM dilakukan dengan metode pengenceran agar. Antiseptik dicampurkan dengan medium agar nutrien yang masih cair dalam cawan petri dengan perbandingan tertentu sehingga diperoleh berbagai konsentrasi. Campuran dihomogenkan dan dibiarkan memadat. Pada masing-masing cawan petri tersebut dioleskan suspensi bakteri uji menggunakan kawat ose. Selanjutnya cawan-cawan

petri tersebut diinkubasikan di dalam inkubator pada suhu 37°C selama 18-20 jam. KHM ditentukan pada seri konsentrasi antiseptik terkecil yang masih mampu menghambat pertumbuhan mikroba uji yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri. Hasil tersebut dibandingkan dengan kontrol dengan perlakuan yang sama.

#### **4.3.4 Uji Koefisien Fenol**

Uji waktu kontak dilakukan dengan menggunakan enam konsentrasi pengenceran (A, B, C, D, E, F) pada 36 tabung reaksi kecil yang berisi NB. Untuk 6 tabung reaksi kecil baris pertama berisi NB yang diberi tanda a1, b1, c1, d1, e1, dan f1, dan untuk 6 tabung reaksi kecil baris kedua sampai keenam diberi tanda a2, b2, c2, d2, e2, dan f2 sampai a6, b6, c6, d6, e6, dan f6. Biakan *S. aureus* ataupun MRSA yang telah ditanamkan pada media NB diinkubasi pada 37°C selama 20 jam. Suspensi biakan diambil sebanyak 0,2 ml dan dimasukkan kedalam tabung A. Setelah 30 detik kemudian 0,2 ml suspensi biakan dimasukkan ke tabung B, dan seterusnya sampai tabung F. Pada waktu memasukkan suspensi bakteri ke tabung F, suspensi bakteri pada tabung A sebanyak satu ose dimasukkan ke tabung NB pertama tabung A yaitu a1, 30 detik kemudian tabung B sebanyak satu ose dimasukkan ke tabung NB pertama tabung B yaitu b1, dan seterusnya sampai terdapat enam buah tabung uji per konsentrasi. Tabung uji diinkubasi pada suhu 37°C selama 20 jam. Kekeruhan yang terjadi pada tabung uji dicatat sehingga didapatkan waktu kontak bakteri *S. aureus* dan MRSA terhadap sediaan. Uji



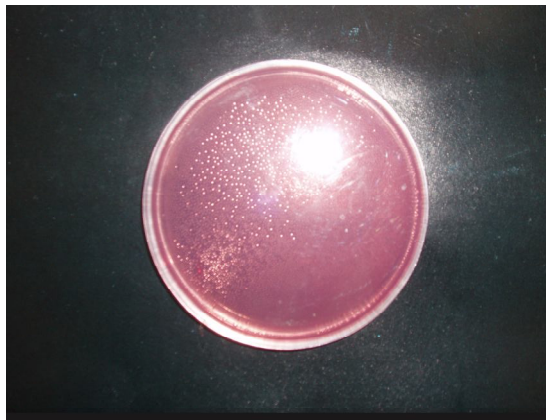
waktu kontak dilakukan terhadap fenol dan beberapa sediaan antiseptik yang mengandung zat aktif triklosan, povidon iodin, klorosilenol.

## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 5.1 Hasil Isolasi dan Identifikasi *S. aureus* Sampel Klinik

Hasil isolasi bakteri *S. aureus* pada medium agar darah memperlihatkan pertumbuhan beberapa koloni yang berwarna putih kuning dan memiliki zona bening hemolisis yang merupakan koloni-koloni dari *S. aureus* (Gambar 5.1) Medium untuk isolasi dan identifikasi bakteri berupa medium agar darah yang merupakan medium diferensial untuk pertumbuhan bakteri gram positif. Terbentuknya zona hemolisis pada medium agar darah disebabkan oleh toksin hemolisin yang dihasilkan *S. aureus* yang mampu melisis sel darah merah manusia dan hewan mamalia.



Gambar 5.1 Biakan *S. aureus* pada agar darah

Koloni yang diduga *S. aureus* kemudian diidentifikasi melalui uji biokimia yaitu uji tripton, manitol, koagulase, *Voges-Proskauer* (VP), urea, dan koagulase. Gambar 5.2 di bawah ini merupakan hasil dari uji biokimia *S. aureus*.



Gambar 5.2 Uji biokimia *S. aureus*

Keterangan:

1. Uji tripton + parafin
2. Uji tripton
3. Uji manitol
4. Uji VP
5. Uji urea
6. Uji koagulase

Hasil uji tripton terhadap *S. aureus* menunjukkan hasil yang positif pada uji tripton yang ditambahkan parafin maupun yang tidak, hal ini ditandai dengan terbentuknya warna merah kecoklatan. Uji ini bertujuan untuk dapat membedakan bakteri yang aerob dan anaerob. *S. aureus* bersifat anaerob fakultatif sehingga menunjukkan hasil positif untuk kedua uji tripton.

Uji fermentasi manitol yang positif pada *S. aureus* yaitu terjadi perubahan warna medium menjadi kuning menunjukkan bahwa *S. aureus* meragikan manitol yang menghasilkan asam laktat, sehingga dapat mengubah pH medium menjadi

asam. Uji Voges- Proskauer (VP) positif pada *S. aureus* ditandai dengan adanya pembentukan warna merah muda setelah penambahan reagen Barrit. Reagen Barrit ini terdiri dari  $\alpha$ -naftol dan KOH. Pembentukan warna ini untuk mendeteksi adanya asetil metil dan karbinol yang merupakan produk dari fermentasi dengan pH netral dari fermentasi glukosa.

Hasil uji urease pada *S. aureus* dapat memberikan hasil yang positif maupun negatif . Uji urease ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memproduksi enzim urease, yaitu enzim hidrolitik yang menyerang ikatan nitrogen dan karbon dalam senyawa amida seperti urea dan membentuk produk akhir berupa amonia yang bersifat alkali. Hasil urease menunjukkan hasil yang negatif. Hal ini disebabkan medium uji yang mengandung glukosa yang diragikan bakteri tersebut menjadi asam dan merubah pH medium kembali menjadi asam sehingga hasil ini kurang akurat untuk mengidentifikasi *S. aureus*. Hasil uji koagulase pada *S. aureus* memberikan hasil yang positif yang ditandai dengan terbentuknya gumpalan. Hal ini disebabkan karena *S. aureus* memproduksi enzim koagulase yang dapat menggumpalkan fibrin.

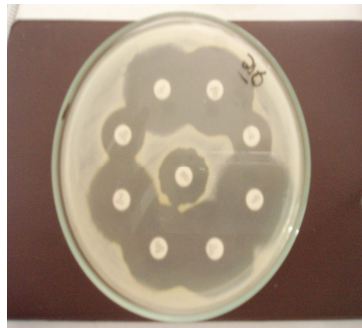
## **5.2 Hasil Uji Resistensi**

Isolat *S. aureus* yang diperoleh kemudian diuji resistensinya terhadap antibiotik metisilin untuk memperoleh isolat *MRSA*. Hasil uji resistensi dapat dilihat pada Gambar 5.3



Gambar 5.3 Uji resistensi *MRSA* terhadap metisilin

. Pada gambar tersebut dapat dilihat bahwa *S. aureus* yang diperoleh dari isolat klinik tidak memiliki zona hambat terhadap antibiotik metisilin. Hal ini berarti *S. aureus* yang diisolasi merupakan *S. aureus* yang telah resisten terhadap metisilin (*MRSA*). *S. aureus* standar ATCC 253923 juga diuji resistensinya untuk memperoleh *S. aureus* yang sensitif. Uji ini dilakukan terhadap sembilan antibiotik yaitu metisilin, amoksilin, eritromisin, ceftazidime, cefoporazon, kloramfenikol, vankomisin, ciprofloksasin, dan cefditrom yang hasilnya dapat dilihat pada Gambar 5.4 dibawah ini:



Gambar 5.4 Uji resistensi *S. aureus* terhadap sembilan antibiotik

Berdasarkan uji tersebut diperoleh hasil bahwa zona bening antibiotik yang terbentuk menunjukkan *S. aureus* yang diuji masih sensitif terhadap sembilan antibiotik setelah zona hambatnya dibandingkan dengan *Clinical and Laboratory Standards Institute*.

### 5.3 Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) pada penelitian ini menggunakan metode MIC padat. Untuk menentukan KHM ini dibuat beberapa variasi konsentrasi triklosan, povidon iodin, dan klorosilenol. Variasi konsentrasi yang pertama yaitu sampel A yang mengandung triklosan.

Tabel 5.1 Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum Triklosan terhadap *S. aureus* dan *MRSA*

Triklosan	<i>S. aureus</i>	<i>MRSA</i>
0,001%	-	-
0,0009%	-	-
0,0008%	-	-
0,0007%	-	-
0,0006%	-	-
0,0004%	-	-
0,0002%	-	+
0,0001%	-	+
0,00005%	-	+
0,000025%	+	+
0,0000125%	+	+
0,00000625%	+	+

Keterangan: + : Ada pertumbuhan bakteri  
- : Tidak ada pertumbuhan bakteri

Penentuan KHM sampel A diperoleh hasil pada konsentrasi 0,00005% sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*, sedangkan untuk bakteri *MRSA* baru dapat menghambat pertumbuhan pada konsentrasi 0,0004%. Setelah itu, dilakukan pengujian KHM yang kedua yaitu sampel B yang mengandung povidon iodine. Variasi konsentrasi yang dibuat dapat dilihat pada Tabel 5.2

Tabel 5.2 Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum Povidon Iodin terhadap *S. aureus* dan *MRSA*

Povidon iodine	<i>S. aureus</i>	<i>MRSA</i>
2%	-	-
1%	-	-
0,5%	-	-
0,25%	-	-
0,125%	-	-
0,09%	-	-
0,08%	-	-
0,07%	-	-
0,06%	-	-
0,05%	+	+
0,04%	+	+
0,03%	+	+

Keterangan: + : Ada pertumbuhan bakteri  
- : Tidak ada pertumbuhan bakteri

Berdasarkan tabel diatas dapat dilihat bahwa pada konsentrasi yang sama yaitu 0,06% ternyata povidon iodine sudah dapat menghambat pertumbuhan kedua bakteri yaitu *S.aureus* dan *MRSA*. KHM yang diuji selanjutnya yaitu sampel C yang mengandung klorosilenol. Variasi konsentrasi yang diuji ditunjukkan pada Tabel 5.3. Pada Tabel 5.3 terlihat bahwa pada konsentrasi 0,005% klorosilenol sudah dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* maupun *MRSA*.

Tabel 5.3 Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum Klorosilenol terhadap *S. aureus* dan *MRSA*

Klorosilenol	<i>S. aureus</i>	<i>MRSA</i>
0,048%	-	-
0,024%	-	-
0,012%	-	-
0,006%	-	-
0,005%	-	-
0,004%	+	+
0,003%	+	+

Keterangan: + : Ada pertumbuhan bakteri  
- : Tidak ada pertumbuhan bakteri

#### 5.4 Hasil Penelitian Koefisien Fenol Sampel terhadap *S. aureus* dan *MRSA*

Penentuan waktu bunuh rata-rata fenol terhadap *S. aureus* dilakukan agar dapat memperoleh perbandingan daya bunuh sampel dengan standar sehingga akan diperoleh nilai koefisien fenolnya. Berdasarkan Tabel 4.4 daya bunuh fenol terhadap *S. aureus* pada waktu tercepat dan terlama yaitu 2,5' dan 15' membunuh pada pengenceran yang sama yaitu 1/70.

Tabel 5.4 Waktu Bunuh Rata-rata Fenol terhadap *S. aureus*

Fenol	2,5'	5'	7,5'	10'	12,5'	15'
1/50	-	-	-	-	-	-
1/60	-	-	-	-	-	-
1/70	-	-	-	-	-	-
1/80	+	+	+	+	+	+
1/90	+	+	+	+	+	+
1/100	+	+	+	+	+	+

Keterangan: + : Ada pertumbuhan bakteri  
- : Tidak ada pertumbuhan bakteri



Waktu bunuh rata-rata fenol kemudian dibandingkan dengan ketiga sampel yang diuji pada bakteri yang sama. Pengenceran yang pertama yaitu sampel A dengan variasi pengencerannya dapat dilihat pada Tabel 5.5.

Tabel 5.5 Waktu Bunuh Rata-rata Sampel A terhadap *S. aureus*

A	2,5'	5'	7,5'	10'	12,5'	15'
1/100000	-	-	-	-	-	-
1/200000	-	-	-	-	-	-
1/300000	-	-	-	-	-	-
1/400000	+	+	-	-	-	-
1/500000	+	+	+	-	-	-
1/600000	+	+	+	+	+	+

Keterangan: + : Ada pertumbuhan bakteri  
- : Tidak ada pertumbuhan bakteri

Pada menit ke 2,5' fenol mematikan bakteri pada pengenceran 1/70 sedangkan sampel A yang mengandung triklosan dengan waktu 2,5' sudah mampu mematikan bakteri dengan pengenceran 1/300000. Pada menit terlama yaitu menit ke 15 fenol mematikan bakteri pada pengenceran 1/70 sedangkan sampel A pada pengenceran 1/500000. Koefisien fenol sampel A terhadap *S. aureus* adalah 5714.

Tabel 5.6 Waktu Bunuh Rata-rata Sampel B terhadap *S. aureus*

B	2,5'	5'	7,5'	10'	12,5'	15'
1/1000	-	-	-	-	-	-
1/2000	-	-	-	-	-	-
1/3000	-	-	-	-	-	-
1/4000	+	+	-	-	-	-
1/5000	+	+	+	+	+	+
1/6000	+	+	+	+	+	+

Keterangan: + : Ada pertumbuhan bakteri  
 - : Tidak ada pertumbuhan bakteri

Berdasarkan tabel di atas, dapat dilihat bahwa sampel B yang mengandung povidon iodine pada menit ke 2,5' sudah mampu mematikan bakteri dengan pengenceran 1/3000 berbeda dengan fenol yang pada menit ke 2,5' baru dapat mematikan bakteri pada pengenceran 1/70. Koefisien fenol sampel B terhadap *S. aureus* adalah 50.

Tabel 5.7 Waktu Bunuh Rata-rata Sampel C terhadap *S. aureus*

C	2,5'	5'	7,5'	10'	12,5'	15'
1/5000	-	-	-	-	-	-
1/6000	-	-	-	-	-	-
1/7000	-	-	-	-	-	-
1/8000	+	+	+	-	-	-
1/9000	+	+	+	+	+	+
1/10000	+	+	+	+	+	+

Keterangan: + : Ada pertumbuhan bakteri  
 - : Tidak ada pertumbuhan bakteri

Pada menit ke 2,5' sampel C yang mengandung klorosilenol dengan waktu 2,5' membunuh bakteri dengan pengenceran 1/7000, sedangkan fenol membunuh pada pengenceran 1/70. Berdasarkan hasil tersebut diperoleh nilai koefisien fenol sampel C terhadap *S. aureus* adalah 107. Uji yang selanjutnya yaitu uji waktu bunuh rata-rata fenol dan tiga jenis antiseptik terhadap bakteri *MRSA*.

Tabel 5.8 Waktu Bunuh Rata-rata Fenol terhadap *MRSA*

B	2,5'	5'	7,5'	10'	12,5'	15'
1/50	-	-	-	-	-	-
1/60	-	-	-	-	-	-

1/70	-	-	-	-	-	-
1/80	+	-	-	-	-	-
1/90	+	+	+	-	-	-
1/100	+	+	+	+	-	-

Keterangan: + : Ada pertumbuhan bakteri  
- : Tidak ada pertumbuhan bakteri

Pada tabel di atas dapat dilihat fenol dengan waktu tercepat 2,5' dapat membunuh *MRSA* pada pengenceran 1/70, nilai ini sama dengan nilai bunuh tercepat fenol terhadap *S. aureus*. Akan tetapi, waktu terlama fenol membunuh *MRSA* berbeda dengan *S. aureus* yang membunuh pada pengenceran 1/70, dan untuk *MRSA* membunuh pada pengenceran 1/100.

Tabel 5.9 Waktu Bunuh Rata-rata Sampel A terhadap *MRSA*

A	2,5'	5'	7,5'	10'	12,5'	15'
1/100000	-	-	-	-	-	-
1/200000	+	+	+	+	+	+
1/300000	+	+	+	+	+	+
1/400000	+	+	+	+	+	+
1/500000	+	+	+	+	+	+
1/600000	+	+	+	+	+	+

Keterangan: + : Ada pertumbuhan bakteri  
- : Tidak ada pertumbuhan bakteri

Pada sampel A dengan berbagai variasi pengenceran, pada waktu tercepat yaitu menit 2,5' sampel A mematikan bakteri pada pengenceran 1/100000, dan untuk fenol mematikan bakteri pada pengenceran 1/70. Pada menit terlama yaitu 15' fenol membunuh *MRSA* dengan pengenceran 1/100, dan untuk sampel A dengan pengenceran 1/100000 sudah dapat membunuh bakteri tersebut. Nilai koefisien fenol sampel A terhadap *MRSA* adalah 1214.

Tabel 5.10 Waktu Bunuh Rata-rata Sampel B terhadap *MRSA*

B	2,5'	5'	7,5'	10'	12,5'	15'
1/1000	-	-	-	-	-	-
1/2000	-	-	-	-	-	-
1/3000	-	-	-	-	-	-
1/4000	+	+	-	-	-	-
1/5000	+	+	+	-	-	-
1/6000	+	+	+	+	+	+

Keterangan: + : Ada pertumbuhan bakteri  
- : Tidak ada pertumbuhan bakteri

Berdasarkan tabel diatas, povidon iodine dengan waktu tercepat yaitu 2,5' dapat membunuh bakteri dengan pengenceran 1/3000, sedangkan untuk fenol mematikan bakteri pada pengenceran 1/70. Nilai koefisien fenol sampel B yang diperoleh terhadap *MRSA* adalah 46. Pengujian yang selanjutnya yaitu sampel C yang mengandung klorosilenol. Variasi pengencerannya dapat dilihat pada Tabel 5.11.

Tabel 5.11 Waktu Bunuh Rata-rata Sampel C terhadap *MRSA*

C	2,5'	5'	7,5'	10'	12,5'	15'
1/5000	-	-	-	-	-	-
1/6000	-	-	-	-	-	-
1/7000	+	+	+	-	-	-
1/8000	+	+	+	+	-	-
1/9000	+	+	+	+	+	-
1/10000	+	+	+	+	+	+

Keterangan: + : Ada pertumbuhan bakteri  
- : Tidak ada pertumbuhan bakteri

Berdasarkan data diatas, sampel C pada menit ke 2,5' mematikan bakteri pada pengenceran 1/6000 dan pada waktu yang sama fenol mematikan bakteri

pada pengenceran 1/70. Pada waktu terlama yaitu 15' klorosilenol mematikan bakteri pada 1/9000, sedangkan untuk fenol baru dapat mematikan bakteri pada pengenceran 1/100. Nilai koefisien fenol sampel C terhadap *MRSA* adalah 88.

Koefisien fenol ketiga sampel diatas terhadap *S. aureus* dan *MRSA* berturut-turut adalah 5714 dan 1214 untuk sampel A, 50 dan 46 untuk sampel B, 107 dan 88 untuk sampel C. Koefisien fenol yang diperoleh tersebut memiliki nilai koefisien yang lebih dari satu. Hal ini berarti ketiga jenis antiseptik yang diuji memiliki daya antiseptik yang lebih baik dibandingkan dengan fenol. Berdasarkan nilai koefisien fenol diatas sampel A bila dibandingkan dengan dengan sampel B dan C memiliki efek antibakteri yang paling baik. Hal ini dibuktikan sampel A memiliki nilai koefisien fenol paling besar dalam membunuh bakteri *S. aureus* maupun *MRSA*.

Sampel A lebih baik dalam menghambat bakteri dapat disebabkan karena kemampuan triklosan dalam membunuh mikroorganisme lebih besar dibandingkan dengan povidon iodine dan klorosilenol. Hal ini dapat dilihat dari kemampuan triklosan dalam membunuh mikroorganisme. Triklosan bekerja membunuh bakteri dengan cara merusak dinding sel, mempengaruhi membran sitoplasma serta sintesis RNA melalui penghambatan kerja enzim *enoyl-acyl carrier protein reductase (ENR)*. Enzim ini berfungsi untuk membentuk asam lemak dan fungsi vital lainnya. Sampel B memiliki mekanisme yang berbeda dengan triklosan dalam membunuh bakteri yaitu dengan berpenetrasi ke dinding sel dan memproses untuk memodifikasi gugus fungsi protein. Hal ini berbeda pula dengan sampel C yang mengandung klorosilenol membunuh bakteri dengan

merusak fungsi membran sel, merusak sitoplasma dan mengendapkan materi sel. Pada sampel A terjadi penurunan efektifitas yang cukup besar terhadap *MRSA*, meskipun demikian sampel A masih efektif terhadap *MRSA*.

## BAB VI

### SIMPULAN DAN SARAN

#### 6.1 Simpulan

Pada penelitian yang telah dilakukan diperoleh hasil konsentrasi hambat minimum sampel A, B, C terhadap *S. aureus* yaitu 0,00005 %; 0,06 %; 0,005 % dan terhadap MRSA yaitu 0,0004 %; 0,06 %; 0,005 %. Nilai koefisien fenol sampel A, B, C terhadap *S. aureus* dan MRSA berturut-turut yaitu 5714 dan 1214; 50 dan 46; 107 dan 88. Ketiga sampel antiseptik yaitu A (triklosan), B (povidon iodine), dan sampel C (klorosilenol) masih memiliki kepekaan terhadap *S. aureus* dan MRSA.

#### 6.2 Saran

Sampel yang mengandung triklosan, povidon iodine, dan klorosilenol dapat digunakan sebagai antiseptik untuk mencegah terjadinya infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus* dan MRSA. Selain itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai daya antibakteri dari antiseptik lain terhadap *S. aureus* dan MRSA.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aguilar, G., W. A Hammerman, R. Edward and S. L. Kaplan. 2003. Clindamycin treatment of invasive infections caused by community-acquired, methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in children. *Pediatr Infect Dis J.* 22:593–8.
- Ascenzi, J.M. 1996. Handbook of disinfectants and antiseptics. Available at: <http://books.google.com/books> [Diakses 30 Maret 2008].
- Brien, F. G., T. T. Lim, F. N. Chong, G. W. Coombs, M. C. Enright, D. A. Robinson and A. Monk. 2004. Diversity among community isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Australia. *J Clin Microbiol.* p. 3185–3190.
- Cahtim, A., dan Suharto. 1993. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Bina Aksara Rupa. hal.39-52.
- Djafar, Z. A. 1993. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Telinga, Hidung Dan Tenggorok*. Edisi 2. Jakarta: FKUI. hal 56-59.
- Isadiartuti, D. dan S. Retno. 2005. Uji efektifitas sediaan gel antiseptik tangan yang mengandung etanol dan triklosan. *Majalah Farmasi Airlangga*.5 (3): 8
- Jawetz, E., J. L. Melnick, E. A. Adelberg, G. F. Brooks, J. S. Butel and L. N. Orston. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 20. Diterjemahkan oleh E. Nugroho & R.F. Maulany. Jakarta: Buku Kedokteran EGC. hal. 211-215.
- Juuti, K. 2004. Surface protein PIs of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* role in adhesion, invasion and pathogenesis, and evolutionary aspects. [Disertation]. Helinski: Department of Biological and Environmental Sciences Faculty of Biosciences. p. 61-63.
- Kapoor, M., J. Gopalakrishnapai, N. Surolia, and A. Surolia. 2004. Mutational analysis of the triclosan-binding region of enoyl-ACP reductase from *Plasmodium falciparum*. [Disertation]. India: Molecular Biophysics Unit, Indian Institute of Science. p.21.
- Klein, E., D. L. Smith, and Laxminarayan. 2007. Hospitalizations and deaths caused by methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, United States, 1999–2005. *Emerg Infect Dis.* 13(12): 1840–6.



- Lowy, F. 2003. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest.* 111(9): 1265-1273.
- Lund, W. 1994. Desinfektan and antiseptic In : *Pharmaceutical Codex : Principles and Practice of Pharmaceutics*. 12<sup>th</sup> Edition. London: The Pharmaceutical Press. p. 115.
- Noguchi, N., J. Suwa, K. Narui, M. Sasatsu, T. Ito, and K. Hiramatsu. 2005. Susceptibilities to antiseptic agents and distribution of antiseptic-resistance genes *qacA/B* and *smr* of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated in Asia during 1998 and 1999. *J Med Microbiol.* 54. 557–565.
- Oguntibeju, O. O. and R. A. U. Nwobu. 2004. Occurrence of *Pseudomonas aeruginosa* in post operate wound infection. *Park J Med Sci ;20*(3):187-191.
- Ongtengco, D. C., L. A. Baltazar, R. S Santiago, R. R Matias, and C. A. Isaac. 2003. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from Filipino patients (1999-2003). *Phil J Microbiol Infect Dis.* 17(1):4-8.
- Page, T. K. 1992. Method for preparing finely divided nylon-4 complex with iodine and antiseptic preparation made therefrom. Tersedia di: <http://www.patentstorm.us/patents/5128125-description.html>. [Diakses 28 Februari 2008].
- Salmenlina, S. 2002. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Finland [Disertation]. Helsinki: The National Public Health Institute. p. 88-92.
- Salyers, A. A. and D. W. Dixie. 1994. *Bacterial Pathogenesis A Molecular Approach*. Washington, D.C: ASM Press. p. 84
- Stanway, A. 2007. Staphylococcal skin infections Available at: <http://dermnetnz.org/bacterial/staphylococci.html> [Diakses 6 Februari 2008].
- Todar, K. 2005. *Staphylococcus*. Available at: <http://www.textbookofbacteriology.net/staph.html> [Diakses tanggal 1 Februari 2008].
- Tolan, R. W. 2008. *Staphylococcus aureus* infection. Available at: <http://www.emedicine.com/ped/topic2704.htm> [Diakses 3 Februari 2008].

- Wahid, M. H. 2007. MRSA Update: Diagnosis dan tatalaksana. 4<sup>th</sup> *Symposium of Indonesia Antimicrobial Resistance Watch (IARW)*. Dalam: Andra. Jakarta, 29 Juni-1 Juli. Jakarta: Farmacia. hal 64.
- Wannet, W. J., E. Spalburg, M. O. Heck, N. Pluster, E. Tiemersma, and R.J. Willem. 2005. Emergence of virulent methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* strains carrying panton-valentine leucocidin genes in the Netherlands. *J Clin Microbiol.* p. 3341–3345.