

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimal dan Konsentrasi Bunuh Minimal Larutan Povidon Iodium 10% Terhadap *Staphylococcus Aureus* Resisten Metisilin (MRSA) dan *Staphylococcus Aureus* Sensitif Metisilin (MSSA)

Ahmad Affandi¹, Fauzia Andrini², Suri Dwi Lesmana³

ABSTRACT

Povidone iodine was usually used as topical antiseptic in surgery. Povidone iodine 10% could decreased bacteria population until 85%. This was used to decreased nosocomial infections after surgery. With discovering of genes that involved in antiseptic resistancy occurs a doubt on the effectiveness of povidone iodine 10%. This was descriptive research to find out the Minimal Inhibitory Concentration (MIC) and Minimal Bactericidal Concentration (MBC) for Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* and Methicillin-Sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) in Microbiology Laboratory Faculty of Medicine University of Riau. This research shows that povidone iodine MIC for MRSA was 0.006% while for MSSA was 0.003% and povidone iodine MBC for MRSA was 0.012% while for MSSA was 0.006%. From this research we can conclude that MRSA more resistant than MSSA against povidone iodine .

Keywords: Povidone Iodine, MRSA, MSSA, *Staphylococcus aureus*

Infeksi nosokomial masih merupakan masalah kesehatan penting di seluruh dunia terutama di negara berkembang seperti di Indonesia. Pada tahun 1987, suatu survei prevalensi meliputi 55 rumah sakit di 14 negara berkembang pada 4 wilayah WHO (Eropa, Mediterania Timur, Asia Tenggara, dan Pasifik Barat) menemukan rata-rata 8,7% dari seluruh pasien rumah sakit menderita infeksi nosokomial.¹ Tingkat infeksi nosokomial pada tahun 1997 berkisar kurang dari 1% di beberapa negara di Eropa dan Amerika sampai lebih dari 40% di Asia, Amerika latin dan Afrika sub-sahara.¹

Salah satu penyebab infeksi nosokomial yang sering ditemukan adalah infeksi luka pasca bedah. Kebanyakan infeksi akibat luka sayatan atau luka dalam pasca bedah disebabkan oleh mikroorganisme yang ditemukan pada kulit pasien atau selaput lendir

yang berdekatan dengan lokasi pembedahan.¹ *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) merupakan bakteri penyebab sepsis yang paling banyak dijumpai dalam pembedahan. *S.aureus* merupakan bakteri yang hidup komensal di kulit dan dapat bertahan lama di lingkungan kering. Selain itu, *Staphylococcus* juga dapat berperan sebagai flora transien yang dipindahkan ke kulit penderita melalui sumber pencemaran.²

Menurut Prof. DR. Herdiman T. Pohan, SpPD-KPTI, Kepala Divisi Penyakit Tropik dan Infeksi RSCM, pasien yang mengalami pembedahan berisiko tinggi mengalami infeksi *S. aureus* yang resisten terhadap metisilin atau *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).³ Beberapa dekade belakangan, insidensi infeksi MRSA terus meningkat di berbagai belahan dunia. Tahun 2006 prevalensi infeksi MRSA mencapai 70% di Asia, sementara di Indonesia prevalensi berkisar 23,5%.³ Kecenderungan peningkatan insidensi tersebut makin diperparah dengan kian meluasnya penyebaran MRSA. MRSA ditemukan tidak lagi terbatas di rumah sakit, tetapi juga mulai muncul di komunitas.³

¹ FK Universitas Riau

² Bagian Mikrobiologi FK Universitas Riau

³ Penulis untuk korespondensi: Bagian Parasitologi FK Universitas Riau. Jl.Diponegoro No.1, Pekanbaru.
Email: dr_soerie@yahoo.co.id

Untuk mengurangi infeksi nosokomial pasca bedah, tindakan antiseptik diperlukan guna membatasi jumlah dan jenis mikroorganisme pada kulit, selaput lendir atau jaringan tubuh lain dan mengurangi masuknya mikroorganisme ke dalam luka selama pembedahan. Salah satu tindakan antiseptik yang penting adalah penggunaan antiseptik pada kulit pasien sebelum operasi yang dilakukan dengan benar. Hal tersebut secara efektif akan menurunkan jumlah flora kulit baik yang bersifat sementara maupun menetap begitu pula dengan tingkat infeksi yang terjadi .¹

Povidon iodium merupakan bahan yang sering digunakan sebagai antiseptik topikal pada tindakan pembedahan. Povidon iodium 10% dapat mengurangi populasi kuman sampai 85%.⁴ Selain sebagai antimikroba spektrum luas, povidon iodium juga tidak menyebabkan iritasi kulit dan selaput lendir.¹ Namun, penelitian Gocke *et al* (2006) menunjukkan dari 95 isolat Stafilokokus yang diuji, hanya 18 isolat (19%) yang dapat dibunuh secara sempurna dengan menggunakan 10% povidon iodium dengan lama paparan 15 detik, sedangkan 81% isolat lainnya dapat dihambat dengan waktu yang bervariasi. Kontaminasi povidon iodium juga telah dilaporkan seperti pada tahun 1980, *P. cepacia* ditemukan pada kultur darah dari 52 pasien di 4 rumah sakit di New York dalam kurun waktu 7 bulan, dari penyelidikan didapat povidon iodium 10% merupakan sumber kontaminasinya. Pada bulan Maret 2000, dilakukan penarikan produk termasuk povidon iodium dimana perusahaan yang memproduksi mengkonfirmasi bahwa terdapat kontaminasi produk oleh *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus*.⁵

Tidak semua mikroba rusak dalam konsentrasi dan waktu paparan yang sama. Jenis yang sensitif lebih mudah dan lebih cepat rusak dibanding yang resisten. ⁶ Kampf G dalam El-Din *et al* (2003) melaporkan bahwa MRSA secara signifikan mempunyai daya tahan yang lebih kuat dibandingkan MSSA. Selain itu, pada MRSA juga terdapat gen *qacA* dan *qacB* yang mengkode protein yang dapat mengurangi sensitifitas MRSA terhadap antiseptik dan hal ini menambah keraguan mengenai efektivitas penggunaan povidon iodium 10% dalam membunuh MRSA .⁷

Efektivitas antiseptik dapat ditentukan dengan mengetahui Konsentrasi Hambat Minimal (KHM),

Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM), dan lama pemaparannya.⁸ Dari permasalahan diatas peneliti tertarik melakukan penelitian mengenai Konsentrasi Hambat Minimal dan Konsentrasi Bunuh Minimal antiseptik povidon iodium dengan berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Resisten Metisilin (MRSA) dan *Staphylococcus aureus* Sensitif Metisilin (MSSA).

METODE

Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif untuk mengetahui KHM dan KBM povidon iodium terhadap MRSA dan MSSA. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau pada bulan April 2008. Sampel yang digunakan adalah bakteri MRSA dan MSSA yang merupakan kultur murni dan diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas yang kemudian dilakukan subkultur di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Riau.

Alat yang digunakan adalah jarum ose, tabung reaksi, inkubator, lampu pijar, pipet takar, autoklaf, larutan standar Brown III, laminar flow. Sedangkan bahan yang digunakan adalah: isolat MRSA, isolat MSSA, povidon iodium, cakram antibiotik cefoxitin, aquades, agar Mueller-Hinton, NaCl 0,9%.

Cara kerja sebagai berikut:

1. Sterilisasi alat

Semua alat yang terbuat dari kaca terlebih dulu dicuci dan dikeringkan. Selanjutnya sterilisasi dilakukan dengan autoklaf pada suhu 121°C pada tekanan 1 atm selama 15 menit, sedangkan jarum ose disterilkan dengan pemijaran.

2. Pembuatan suspensi bakteri

Pada MRSA dan MSSA dilakukan subkultur pada agar Mueller-Hinton, diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Satu ose koloni bakteri selanjutnya diencerkan dalam 10 ml NaCl 0,9% sampai kekeruhannya sama dengan kekeruhan standar larutan Brown III. Bila kekeruhannya kurang dari standar maka dapat ditambah bakteri, bila kekeruhannya melebihi standar maka ditambahkan NaCl (WHO, 2006).

3. Uji kepekaan *S. aureus* .⁶

Uji kepekaan *S. aureus* dilakukan untuk membedakan bakteri MRSA dan MSSA dengan menggunakan prosedur *Kirby-bauer disk diffusion test*.

Medium Mueller-Hinton dengan ketebalan 5 mm diletakkan dalam inkubator 37°C selama 15 menit untuk penyesuaian.

Kapas lidi steril dimasukkan ke dalam suspensi dan ditekan perlahan ke dinding tabung bagian dalam untuk mengeluarkan inokulum yang berlebih. Kapas lidi yang berisi suspensi bakteri dioleskan ke seluruh permukaan agar secara horizontal, vertikal dan di sekeliling pinggir bagian paling luar

dari permukaan agar. Kemudian medium dibiarkan selama lima menit.

Cakram antibiotik cefoxitin dipindahkan ke medium berisi suspensi bakteri dengan pinset steril. Cakram ditekan dengan hati-hati untuk memastikan seluruh bagian cakram menempel pada permukaan medium dengan pinset steril tetapi jangan sampai masuk ke dalam agar. Medium diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dalam posisi cakram menghadap keatas.

Interpretasi uji kepekaan *S. aureus* terhadap antibiotik cefoxitin dengan cara difusi cakram pada media Mueller-Hinton agar berdasarkan *The Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)* tahun 2007 terlihat pada tabel 1.

Tabel 1. Interpretasi uji kepekaan *S.aureus* terhadap cefoxitin

5. KHM dan KBM Povidon Iodium .^{9,10}

KHM antiseptik povidon iodium terhadap MRSA dan MSSA ditentukan dengan menggunakan metode pengenceran secara serial. Povidon iodium 10% diencerkan dalam tabung dengan menggunakan aquades secara serial sehingga didapat povidon iodium dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, 0,78%, 0,39%, 0,195%, 0,097%, 0,048%, 0,024%, 0,012%, 0,006%, 0,003%, 0,0015%, 0,00076%, 0,00038%, dan 0,00019%. Sebanyak 1 ml suspensi kuman selanjutnya dimasukkan ke dalam masing-masing tabung sehingga didapat konsentrasi akhir adalah 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, 0,78%, 0,39%, 0,195%, 0,097%, 0,048%, 0,024%, 0,012%, 0,006%, 0,003%, 0,0015%, 0,00076%, 0,00038%, 0,00019%, dan 0,0000953%. Kontrol positif (K+) adalah 2 ml suspensi bakteri tanpa povidon iodium dan kontrol negatif (K-) adalah 2 ml larutan povidon iodium 10% tanpa suspensi bakteri. Selanjutnya tabung diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Pada tabung yang keruh menandakan adanya pertumbuhan bakteri dan pada tabung yang bening

menandakan tidak adanya pertumbuhan bakteri. Kemudian ditentukan konsentrasi terkecil yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri disebut KHM.

Selanjutnya untuk menentukan KBM, seluruh tabung diuji pertumbuhannya dengan cara dari masing-masing tabung diambil 1 ose dan ditanam pada agar Mueller-Hinton. Semua biakan tersebut diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Setelah diinkubasi selama 24-48 jam maka dapat dibaca hasilnya. Konsentrasi yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri dinyatakan sebagai KBM, yaitu konsentrasi terkecil yang mampu membunuh bakteri uji. Semua aktivitas mulai dari pembuatan suspensi bakteri sampai penentuan KHM dan KBM povidon iodium dilakukan di *laminar flow*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan KHM povidon iodium dengan metode pengenceran terhadap bakteri MRSA dan MSSA dapat dilihat dari tabel berikut:

Tabel 2. Hasil pengamatan KHM povidon iodium dengan metode pengenceran terhadap bakteri MRSA dan MSSA

Pengenceran Povidon iodium (%)	MRSA			MSSA			K-	K+
	1	2	3	1	2	3		
50	-	-	-	-	-	-	-	+
25	-	-	-	-	-	-	-	+
12,5	-	-	-	-	-	-	-	+
6,25	-	-	-	-	-	-	-	+
3,125	-	-	-	-	-	-	-	+
1,56	-	-	-	-	-	-	-	+
0,78	-	-	-	-	-	-	-	+
0,39	-	-	-	-	-	-	-	+
0,195	-	-	-	-	-	-	-	+
0,097	-	-	-	-	-	-	-	+
0,048	-	-	-	-	-	-	-	+
0,024	-	-	-	-	-	-	-	+
0,012	-	-	-	-	-	-	-	+
0,006	-	-	-	-	-	-	-	+
0,003	+	+	+	-	-	-	-	+
0,0015	+	+	+	+	+	+	-	+
0,00076	+	+	+	+	+	+	-	+
0,00038	+	+	+	+	+	+	-	+
0,00019	+	+	+	+	+	+	-	+
0,0000954	+	+	+	+	+	+	-	+

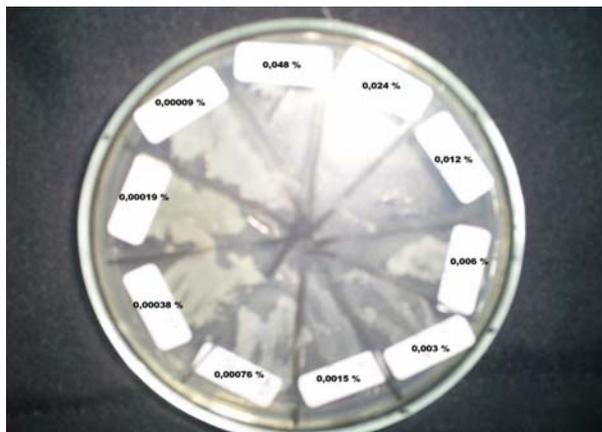
Keterangan (+) : ada pertumbuhan

(-) : tidak ada pertumbuhan

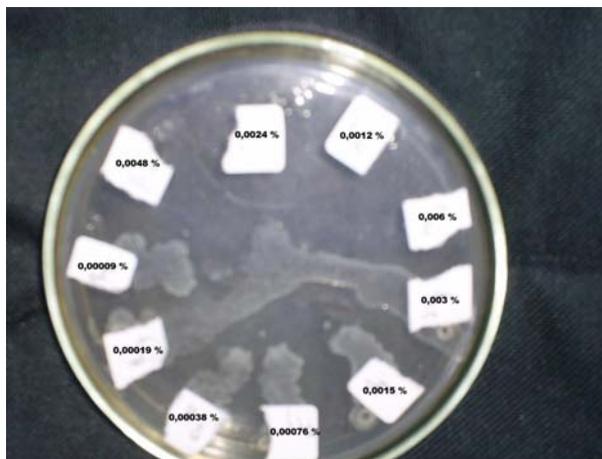
Hasil pengamatan secara visual pada metode pengenceran suspensi povidon iodium terhadap MRSA menunjukkan kejernihan media dimulai dari konsentrasi 0,006% sampai konsentrasi 50% dan menunjukkan kekeruhan dimulai pada konsentrasi 0,0000954% sampai pada konsentrasi 0,003%. Hal ini menunjukkan KHM povidon iodium terhadap MRSA terdapat pada konsentrasi 0,006% dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali namun tetap mendapatkan hasil yang sama. Sedangkan terhadap kuman MSSA kejernihan media dimulai dari konsentrasi 0,003% sampai konsentrasi 50% dan menunjukkan kekeruhan dimulai pada konsentrasi 0,0000954% sampai pada konsentrasi 0,0015%. Hal ini menunjukkan KHM povidon iodium terhadap MSSA terdapat pada konsentrasi 0,003% dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali namun tetap mendapatkan hasil yang sama. Pada konsentrasi tersebut larutan povidon iodium bersifat bakteriostatik.

Penentuan KBM dilakukan dengan penanaman ulang pada medium agar Mueller Hinton untuk melihat pertumbuhan bakteri. Dari hasil tanam ulang ini didapatkan pada konsentrasi 0,006% untuk bakteri MRSA terdapat pertumbuhan bakteri seperti yang terlihat pada gambar 1.3, sedangkan konsentrasi 0,012% sampai konsentrasi 50% tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri. Hal ini menunjukkan pada konsentrasi 0,012% sampai konsentrasi 50% povidon iodium dapat membunuh koloni bakteri MRSA, berarti KBM pengenceran povidon iodium terhadap MRSA terdapat pada konsentrasi 0,012%. Pada penelitian ditemukan pertumbuhan kuman yang lebih banyak pada konsentrasi 0,006% dibandingkan pada konsentrasi 0,003%, hal ini mungkin disebabkan adanya kontaminasi pada pertumbuhan kuman tersebut. Pada bakteri MSSA, konsentrasi 0,003% masih terdapat pertumbuhan bakteri seperti yang terlihat pada gambar 4, sedangkan konsentrasi 0,006%

sampai konsentrasi 50% tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri. Hal ini menunjukkan pada konsentrasi 0,006% sampai konsentrasi 50% povidon iodium dapat membunuh koloni bakteri MSSA, berarti KBM pengenceran povidon iodium terhadap MSSA terdapat pada konsentrasi 0,006%.



Gambar 1. Pertumbuhan bakteri MRSA mulai dari konsentrasi povidon iodium 0,006 %



Gambar 2. Pertumbuhan bakteri MSSA mulai dari konsentrasi povidon iodium 0,003%

Semua bakteri MSSA mati pada konsentrasi 0,006% sedangkan semua bakteri MRSA mati pada konsentrasi 0,012% setelah inkubasi selama 24 jam dan pada konsentrasi ini larutan povidon iodium bersifat bakterisid. Hasil tersebut menunjukkan MRSA memiliki daya tahan yang lebih kuat dibandingkan MSSA terhadap povidon iodium. Hal ini sesuai dengan pendapat Kampf G dalam El-Din *et al* (2003) melaporkan bahwa MRSA secara

signifikan mempunyai daya tahan yang lebih kuat dibandingkan MSSA.¹³

Cappucino & Sherman (2001) menyatakan bahwa tidak semua mikroba mati dalam konsentrasi dan waktu pemaparan yang sama. Jenis yang lebih sensitif lebih cepat dan lebih mudah dirusak dibandingkan yang resisten. Pada MRSA terdapat gen *qacA* dan *qacB*, yaitu suatu gen yang mengkode protein *14-transmembrane-segment* yang dapat mengurangi sensitifitas MRSA terhadap antiseptik.^{6,7}

Antiseptik adalah zat yang digunakan untuk membunuh atau mencegah pertumbuhan mikroorganisme, biasanya merupakan sediaan yang dipergunakan pada jaringan hidup.⁴ Povidon iodium merupakan antiseptik yang paling sering digunakan dan memiliki efek antimikrobia spektrum luas.¹ Penelitian Haley *et al* (1985) menunjukkan bahwa povidon iodium dapat membunuh bakteri MSSA dan MRSA. Cara kerja iodium membunuh bakteri belum dapat diketahui dengan pasti, namun diduga iodium dapat mempresipitasi protein.^{6,14}

Antiseptik berbeda dengan antimikroba yang aktif secara sistemik karena zat ini tidak memiliki toksisitas selektif sehingga zat-zat tersebut tidak saja bersifat toksik terhadap mikroorganisme tetapi juga terhadap sel inang. Meskipun MRSA dan MSSA sudah dapat dibunuh dengan larutan povidon iodium 0,012 %, penggunaan povidon iodium dengan konsentrasi yang lebih rendah dengan pengenceran tidak dianjurkan karena dapat meningkatkan konsentrasi dari iodium bebas yang dilepaskan dan meningkatkan derajat iritasi kulit.¹

KESIMPULAN

KHM larutan povidone iodium terhadap MRSA adalah 0,006% sedangkan terhadap MSSA adalah 0,003%. KBM larutan povidone iodium terhadap MRSA adalah 0,012 % sedangkan terhadap MSSA adalah 0,006%. MRSA memiliki daya tahan yang lebih kuat dibandingkan MSSA.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada Dekan Fakultas Kedokteran Unri, rekan-rekan di laboratorium

Mikrobiologi yang telah membantu penelitian ini serta teman-teman semua yang tidak dapat disebutkan satu-persatu.

DAFTAR PUSTAKA

1. Tietjen L, Bossemeyer D, McIntosh N. Panduan Pencegahan Infeksi Untuk Fasilitas Pelayanan Kesehatan Dengan Sumber Daya Terbatas. Jakarta: Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo; 2004.
2. Sjamsuhidajat R, Wim De Jong. Pembedahan. Dalam: Buku Ajar Ilmu Bedah. Edisi 2. Jakarta: EGC; 2005. h.265-88.
3. Nita. 8th Jakarta Antimicrobial. Kapan Harus Mulai Terapi Empiris MRSA? Majalah Farmacia 2007 [cited 27 Agustus 2007]. Diakses dari: <http://www.majalah-farmacia.com>.
4. Ganiswara SG, Setiabudy R, Suyatna FD, Purwaniyastusi, Nafrialdi. Antiseptik dan Desinfektan. Dalam: Farmakologi dan Terapi. Edisi 4. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 1995. h.517-9.
5. Lang JM. Sterile Antimicrobial: The case of sterility [cited 23 Mei 2008]. Diakses dari: <http://www.aplicare.com/faq-sterile-pvp-i.htm>.
6. Cappucino JG, Sherman N. Microbiology a Laboratory Manual. San Fransisco: Pearson Education Inc; 2001. h.263-9.
7. Nakaminami H *et al.* Transduction of the Plasmid Encoding Antiseptic Resistance Gene *qacB* in *Staphylococcus aureus*. Biol. Pharm. Bull. 2007; 30(8): 1412-15.
8. Erlin E. Uji Daya Antiseptik Klorheksidin Glukonat Terhadap Petumbuhan *Staphylococcus aureus* Resisten Metisilin (MRSA) dan *Staphylococcus aureus* Sensitif Metisilin (MSSA). Medika Kartika 2004; 2:1-10.
9. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. Stafilocokus. Dalam: Jawetz, Melnick, & Adelberg's Mikrobiologi Kedokteran. Jakarta: Salemba Medika; 2005. h.317-26.
10. Endriani R, Supardi I, Sudigdoadi S, Wartadewi. Penentuan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM), Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) Dan Waktu Kontak Ekstrak Bawang Putih (*A. sativum*) Dibandingkan Dengan Eugenol Terhadap *S. mutans* Secara In Vitro. JIK 2007; 1:30-5.
11. Winn WS *et al.* Gram-Positive Cocci. Dalam: Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th Edition. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins; 2006. h.623-70.
12. WHO. Monitoring of Antimicrobial Resiatance. Project: ICP BCT 001. Report of an Intercountry Workshop Vellore, Tamil Nadu, India, 2006.
13. El-Din SAS, El-Shafey EI, El-Hadidy MR, El-Din AB, El-Hadidy AM, Zaghoul HA. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: A problem in the Burns unit. Egypt Journal of Plastic, Reconstructive and Surgery 2003;27:1-20.
14. Haley CE, Marling-Cason M, Smith JW, Luby JP, Mackowiak PA. Bactericidal Activity of Antiseptics Against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol 1985; 21:991-2.