

EFEK SINERGIS KOMBINASI CHLORHEXIDINE DAN ALKOHOL TERHADAP DAYA HAMBAT PERTUMBUHAN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Yosi Kusuma¹, Komang Januartha Putra Pinatih², Made Agus Hendrayana²

¹Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana

²Departement Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana

ABSTRAK

Antiseptik merupakan suatu zat kimia yang memiliki kerja untuk menghancurkan mikroorganisme ataupun menghambat kerjanya, sehingga dapat mencegah terjadinya suatu infeksi. Salah satu contoh antiseptik adalah *chlorhexidine* dan alkohol. *Chlorhexidine* dengan alkohol memiliki mekanisme yang mirip, yaitu bekerja mengganggu struktur membran bakteri, sehingga mengakibatkan lisis. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan aktifitas antiseptik *chlorhexidine*-alkohol dengan alkohol dan *chlorhexidine* pada bakteri Gram positif dan negatif, serta apakah terjadi aktivitas yang sinergis antara kedua antiseptik tersebut. Penelitian menggunakan metode eksperimental, *post-test only design*, melalui uji *disk-diffusion* Kirby-Bauer, menggunakan zona hambat pertumbuhan bakteri pada media Mueller-Hinton. Zona hambat rerata *chlorhexidine*-alkohol ($19,56 \pm 0,88SB$) dengan alkohol (0) dan *chlorhexidine* ($18 \pm 0,71SB$) pada bakteri *Staphylococcus aureus* lebih besar secara signifikan, $p=0,002$ untuk *chlorhexidine*; sedangkan pada bakteri *Escherichia coli*, zona hambat rerata *chlorhexidine*-alkohol $16,22 \pm 0,83SB$, *chlorhexidine* $17,22 \pm 2,05SB$, alkohol $13,22 \pm 4,08SB$. Perbedaan diameter hanya signifikan untuk alkohol ($p=0,019$), tapi tidak untuk *chlorhexidine* ($p=0,387$). Dapat disimpulkan bahwa terdapat aktivitas antiseptik sinergis pada kombinasi *chlorhexidine*-alkohol untuk bakteri *Staphylococcus aureus*, tetapi tidak pada bakteri *Escherichia coli*.

Kata Kunci: Chlorhexidine, alkohol, antiseptik, *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

Antiseptic are chemical substance that have the activity to eradicate microorganism or inhibit their activity, so that to prevent infection. One of the examples of antiseptic are chlorhexidine and alcohol. Chlorhexidine and alcohol have a similar mechanism, which is to disturb bacterial membrane resulting in lysis. The purpose of this research is to know whether there is a difference in antiseptic activity of chlorhexidine-alcohol combination with chlorhexidine or alcohol towards Gram positive and negative, and also weather there is a synergetic activity between those antiseptics. This research uses an experimental method, *post-test only design*, through disk diffusion test. The resulting data are inhibitory zone of alcohol, chlorhexidine, and chlorhexidine-alcohol combination for *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The mean inhibitory zone for chlorhexidine-alcohol ($19.56 \pm 0.88SD$) with alcohol (0) and chlorhexidine ($18 \pm 0.71SD$) for *Staphylococcus aureus* is significantly larger, with a $p= 0.002$ for chlorhexidine; meanwhile for *Escherichia coli*, mean inhibitory zone for chlorhexidine-alcohol $16.22 \pm 0.83SD$, chlorhexidine $17.22 \pm 2.05 SD$, and alcohol $13.22 \pm 4.08SD$. The difference in diameter is only significant for alcohol ($p=0.019$), but not for chlorhexidine ($p=0.387$). Conclusion can be made that antiseptic activity are synergetic to chlorhexidine-alcohol combination for *Staphylococcus aureus*, but not to *Escherichia coli*.

Keywords: chlorhexidine, alcohol, antiseptic, combination

PENDAHULUAN

Antiseptik merupakan suatu zat kimia yang memiliki kerja untuk menghancurkan mikroorganisme ataupun menghambat kerjanya, sehingga dapat mencegah terjadinya suatu infeksi.¹ Antiseptik dapat dibedakan dengan disinfektan dari tempat kerjanya, di mana antiseptik digunakan pada sesuatu yang hidup dan disinfektan digunakan untuk benda yang mati. Antiseptik juga dapat dibedakan dengan antibiotik, di mana kerja dari antibiotik adalah spesifik dengan mikroorganisme tertentu, dan antiseptik kerjanya lebih umum.¹

Chlorhexidine merupakan salah satu jenis antiseptik. *Chlorhexidine* umumnya digunakan dalam antiseptik kumur, tapi terkadang dapat juga diberikan dalam sabun antiseptik.² *Chlorhexidine* merupakan suatu bakterisida yang bekerja dengan cara merusak dinding sel dan membran luar sel, sehingga mengakibatkan kebocoran intraseluler, dan pada akhirnya koagulasi sitosol.¹ Alkohol merupakan contoh lain dari antiseptik. Alkohol bersifat sebagai bakterisida, dengan cara merusak membran sel dari bakteri, sehingga komponen intraseluler akan keluar. Alkohol juga bekerja dengan cara mendenaturasi protein-protein yang berada dalam sel, sehingga kinerja dari enzim bakteri akan terhambat, mengakibatkan proses metabolisme terganggu.³

Chlorhexidine dan alkohol memiliki mekanisme kerja yang mirip, sehingga terdapat kombinasi antiseptik antar kedua zat tersebut. Mekanisme kerja yang mirip seharusnya menghasilkan hasil yang sinergis. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah kombinasi *chlorhexidine*-alkohol memberikan suatu efek yang sinergis pada kedua jenis Gram bakteri.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental yang akan membandingkan efek antiseptik dari *chlorhexidine* dan alkohol, dengan campuran *chlorhexidine*-

alkohol terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300) dan *Escherichia coli* (ATCC 8739), yang merepresentasikan jenis bakteri Gram positif dan negatif. Menggunakan tipe *post-test only design*. Aktivitas antiseptik diketahui melalui uji *disk-diffusion*.

Chlorhexidine (*1,6-bis(4-chlorophenylbiguanido)hexane*) yang digunakan memiliki konsentrasi 0,5% (b/v), yang didapat dari antiseptik komersial bermerek OneMed™ dengan konsentrasi 4% (b/v) yang diencerkan dengan aquades hingga konsentrasi 0,5% (b/v) tercapai. Alkohol 70% (v/v) yang digunakan merupakan jenis etil alkohol C₂H₅OH, didapat dari antiseptik komersial bentuk larutan. Campuran *chlorhexidine* 0,5% dan alkohol 70% diperoleh dari antiseptik komersial dengan konsentrasi masing-masing yang sama, yaitu dari OneMed™.

Data telah diolah melalui uji normalitas dan homogenitas. Kemudian dilakukan uji signifikansi antar rerata zona hambat kombinasi *chlorhexidine*-alkohol dengan *chlorhexidine* dan alkohol. Signifikansi dinyatakan jika $p < 0,05$. Efek sinergis didefinisikan jika perbedaan rerata zona hambat kombinasi *chlorhexidine*-alkohol lebih besar signifikan dengan *chlorhexidine* dan alkohol.

HASIL

Nilai zona hambat rerata dari masing-masing antiseptik terpapar pada tabel 1. Alkohol pada *Staphylococcus aureus* tidak menghasilkan zona hambat, sedangkan *chlorhexidine* dan kombinasi menghasilkan zona hambat. Pada *Staphylococcus aureus*, *chlorhexidine* memiliki distribusi normal ($p=0,338$) dan kombinasi *chlorhexidine*-alkohol memiliki distribusi tidak normal ($p=0,049$). Zona hambat kombinasi *chlorhexidine*-alkohol memiliki rerata zona yang hambat yang signifikan lebih besar ($p=0,002$) dari pada *chlorhexidine*.

Pada *Escherichia coli*, alkohol dan *chlorhexidine* berdistribusi normal ($p=0,176$ dan $p=0,063$) sedangkan kombinasi

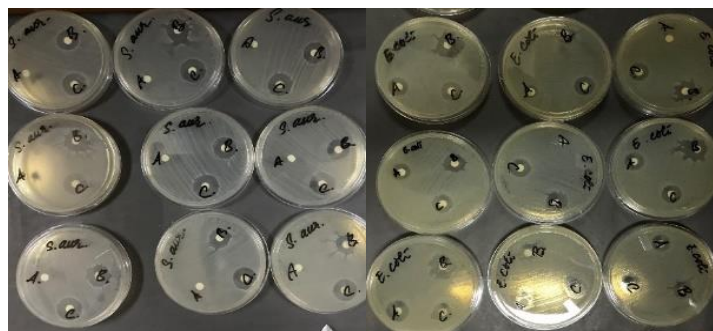
chlorhexidine-alkohol berdistribusi tidak normal ($p=0,014$). Kemudian dilakukan uji *Kruskal wallis*, yang menghasilkan nilai $p=0,014$. Nilai rerata zona hambat

kombinasi chlorhexidine-alkohol memiliki nilai signifikan lebih besar dari pada alkohol ($p=0,019$), tetapi tidak untuk chlorhexidine ($p=0,387$).

Tabel 1 Hasil Rerata Zona Hambat pada Bakteri SA dan EC terhadap Alk, CHX, dan Alk + CHX.

Antiseptik	RZH SA	RZH EC
Alk	0	13,22 ± 4,08SB
CHX	18 ± 0,71SB	17,22 ± 2,05SB
Alk + CHX	19,56 ± 0,88SB	16,22 ± 0,83SB

RZH: Rerata zona hambat, SA: *Staphylococcus aureus*, EC: *Escherichia coli*, Alk: Alkohol, CHX: Chlorhexidine, mm: millimeter, SB: Simpang Baku



Gambar 1: merupakan hasil akhir disk diffusi. Gambar kiri merupakan kelompok *Staphylococcus aureus* dan kanan adalah kelompok *Escherichia coli*. Disk A merupakan disk alkohol, disk B merupakan disk chlorhexidine, dan disk C merupakan disk kombinasi. Terlihat pada disk B kedua kelompok bakteri, terdapat pola menjulur yang tidak teratur

PEMBAHASAN

Penggunaan antiseptik kombinasi untuk bakteri *Staphylococcus aureus* menghasilkan zona hambat yang signifikan lebih besar dari pada alkohol atau *chlorhexidine*. Ini mengindikasikan bahwa terjadi hubungan sinergis antara alkohol dan *chlorhexidine*. Beberapa literature juga menghasilkan data yang konsisten, dengan penelitian ini. Kombinasi alkohol dengan *chlorhexidine* lebih ampuh dalam mencegah infeksi pada *umbilicus* bayi neonatus dibandingkan dengan alkohol saja.⁴ Kombinasi *chlorhexidine* 0,5% dengan alkohol jenis *isopropyl* alkohol 70% menghasilkan nilai faktor reduksi lebih

tinggi dibandingkan dengan *chlorhexidine* 0,5% atau *isopropyl* alkohol 70% saja pada *Staphylococcus epidermidis*.⁵

Perbandingan antara nilai zona hambat alkohol dengan *chlorhexidine* tidak konsisten dengan penelitian yang sudah ada. Faktor reduksi *isopropyl* alkohol 70% lebih tinggi dibandingkan dengan *chlorhexidine* 0,5%.⁵ Nilai minimal biocidal concentration pada alkohol juga lebih rendah dibandingkan dengan *chlorhexidine*.⁶ Data yang sudah ada mengindikasikan bahwa alkohol memiliki efek antiseptik lebih tinggi dibandingkan dengan *chlorhexidine*. Perbedaan antara hasil penelitian ini dengan hasil penelitian

yang sudah ada mungkin diakibatkan oleh glycerol pada alkohol yang digunakan, dimana glycerol mungkin menghambat difusi alkohol ke media Mueller-Hinton. Dapat juga diakibatkan oleh penguapan alkohol. Namun ini tidak menjelaskan mengapa tidak terbentuk zona hambat alkohol pada *Staphylococcus aureus*. Zona hambat tidak terbentuk mungkin dapat dijelaskan dengan penguapan alkohol yang lebih banyak pada *Staphylococcus aureus*, karena penetesan dengan paper disk lebih awal pada kelompok *Staphylococcus aureus*.

Penggunaan antiseptik kombinasi pada bakteri *Escherichia coli* hanya memiliki nilai signifikan jika dibandingkan dengan alkohol saja, tapi pada *chlorhexidine* tidak memiliki nilai yang signifikan. Ini mengindikasikan bahwa peningkatan nilai zona hambat antara alkohol ke kombinasi, hanya karena aktivitas *chlorhexidine* yang lebih tinggi pada kombinasi, dan tidak merupakan efek sinergis antara alkohol dan *chlorhexidine*. Hal ini dapat diakibatkan oleh penguapan alkohol, sehingga tidak menambah aktivitas antiseptik *chlorhexidine* secara signifikan. Dapat juga diakibatkan oleh lapisan LPS bakteri *Escherichia coli*, yang menghambat kerja *chlorhexidine*.³

Chlorhexidine diketahui memiliki aktivitas yang lebih tinggi pada bakteri Gram positif dibandingkan dengan Gram negatif.⁷ dan pada penelitian ini *chlorhexidine* memiliki nilai zona hambat lebih besar pada *Staphylococcus aureus* dari pada *Escherichia coli*, namun analisis *Mann-Whitney* antara hasil zona hambat *chlorhexidine* pada *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menghasilkan nilai yang tidak signifikan ($p=0,136$).

Hasil yang tidak signifikan ini dapat diakibatkan oleh pola zona hambat yang dihasilkan oleh *chlorhexidine* pada kedua bakteri. Pola zona hambat berbentuk menjulur dan tidak teratur (Gambar 1), yang dapat mengakibatkan pengukuran pada *chlorhexidine* kurang akurat. Pola zona hambat yang dihasilkan oleh *chlorhexidine* dapat diakibatkan oleh zat surfaktan yang terdapat pada *chlorhexidine* tersebut. Surfaktan akan menurunkan tegangan permukaan suatu cairan, sehingga mungkin dapat mengakibatkan pola menjulur dari zona hambat *chlorhexidine*.

SIMPULAN

Melalui penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa daya hambat kombinasi *chlorhexidine*-alkohol lebih kuat dibandingkan *chlorhexidine* dan alkohol saja terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Terdapat juga efek sinergis pada kombinasi *chlorhexidine*-alkohol pada bakteri *Staphylococcus aureus*.

Pada bakteri *Escherichia coli*, kombinasi *chlorhexidine*-alkohol memiliki peningkatan aktifitas dibandingkan dengan alkohol, namun tidak meningkat dibandingkan *chlorhexidine*. Kombinasi *chlorhexidine*-alkohol tidak menghasilkan efek sinergis pada bakteri *Escherichia coli*.

SARAN

Penelitian mengenai aktivitas antiseptik agar menggunakan bahan murni, dan tidak tercampur dengan zat lain. Untuk menghindari efek dari zat lain mempengaruhi hasil penelitian.

Penelitian selanjutnya menggunakan perhitungan *colony-forming unit* (CFU) untuk meningkatkan keakuratan dari hasil penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

1. Al-Adham I, Haddadin R, Collier P. Types of Microbicidal and Microbistatic Agents. In: FRAISE AP, MAILLARD J-Y, SATTAR SA, editors. Russell, Hugo & Ayliffe's Principles and Practice of Disinfection, Preservation and Sterilization. 5th ed. Blackwell Publishing; 2013. h. 5–70.
2. Foddai ACG, Grant IR, Dean M. Efficacy of Instant Hand Sanitizers against Foodborne Pathogens Compared with Hand Washing with Soap and Water in Food Preparation Settings: A Systematic Review. *J Food Prot.* 2016;79(6):1040–54.
3. Mcdonnell G, Russell AAD. Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance. 1999 [cited 2018 Jan 24];12(1):147–79. Diunduh dari: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC88911/pdf/cm000147.pdf>
4. Oishi T, Iwata S, Nonoyama M, Tsuji A, Sunakawa K. Double-blind comparative study on the care of the neonatal umbilical cord using 80% ethanol with or without chlorhexidine. *J Hosp Infect.* 2004;58(1):34–7.
5. Adams D, Quayum M, Worthington T, Lambert P, Elliott T. Evaluation of a 2% chlorhexidine gluconate in 70% isopropyl alcohol skin disinfectant. *J Hosp Infect.* 2005;61(4):287–90.
6. Narui K, Takano M, Noguchi N, Sasatsu M. Susceptibilities of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates to seven biocides. *Biol Pharm Bull [Internet].* 2007;30(3):585–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17329862>
7. O'Driscoll NH, Labovitiadi O, Cushnie TPT, Matthews KH, Lamb AJ. Potassium loss from chlorhexidine-treated bacterial pathogens is time- and concentration-dependent and variable between species. *Curr Microbiol.* 2014;68(1):6–11.