

## **Hambatan Kolonisasi *Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus* oleh Ekstrak Kulit Delima pada Luka Bakar Derajat-2 pada Tikus**

*(INHIBITION OF METHICILLIN RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS BACTERIA COLONIZATION ON SECOND DEGREE BURN WOUND IN WISTAR RAT BY USING POMEGRANATE PEEL EXTRACT)*

**Iswinarno Doso Saputro, Lobredia Zarasade, Revita Widya Prasanti**

Departemen Bedah Plastik Rekonstruksi dan Estetik  
Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga/Rumah Sakit Dr. Soetomo Surabaya  
Jln Mayor Jenderal Moestopo No 6-8 Surabaya, Jawa Timur, Indonesia 66284  
Telpon 031-5020091; Email: iswinarno@yahoo.com

### **Abstrak**

Bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) merupakan patogen yang menyebabkan infeksi nosokomial serta menyebabkan kematian pasien luka bakar. Pengobatan infeksi bakteri MRSA pada luka bakar saat ini masih menjadi masalah karena harganya yang terlalu mahal dan adanya kecenderungan peningkatan resistensi, sehingga perlu mencari alternatif untuk menangani masalah ini. Salah satunya adalah dengan menggunakan ekstrak kulit delima topikal. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan pemberian topikal ekstrak kulit buah delima dengan mupirosin sebagai terapi standar serta melihat efek pemberian kombinasi ekstrak kulit buah delima dengan mupirosin terhadap kolonisasi bakteri MRSA pada kulit tikus yang mengalami luka bakar derajat-2 yang dibuat dengan cara menempelkan logam ukuran 2x2 cm yang direbus dalam air mendidih (100°C selama 10 detik). Isolat bakteri MRSA diinokulasikan pada luka, dibagi menjadi tiga kelompok. Kelompok pertama diberikan mupirosin, kelompok kedua diberikan ekstrak kulit buah delima topikal, dan kelompok ketiga diberikan kombinasi mupirosin dengan ekstrak kulit buah delima topikal. Kultur *swab* diambil pada hari ketiga dan hari kelima setelah perlakuan. Spesimen dikirim ke Bagian Mikrobiologi, Universitas Airlangga, Surabaya. Didapatkan hasil pemberian ekstrak kulit buah delima dapat menghambat kolonisasi bakteri MRSA. Ekstrak kulit buah delima kombinasi dengan mupirosin mempunyai efek antibakterial lebih efektif secara signifikan daripada pemberian mupirosin saja.

Kata-kata kunci: ekstrak kulit delima; antibakteri; *methicillin resistant Staphylococcus aureus*; mupirosin

### **Abstract**

Bacterial of *Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus* (MRSA) is a pathogen that plays an important role as a nosocomial pathogen. The bacteria can cause outbreaks of nosocomial infection which is become serious problems in the management of burns patients because many strains have changed into multiresistant bacteria to several classes of antibiotics. Treatment of MRSA bacterial infection in burns is still a problem because its cost is relatively expensive and there is an increased trend of the bacteria resistance. Therefore, alternatives are needed to deal with these problems. One of the alternatives is by using topical pomegranate peel extract. This study was aimed to compare the topical administration of pomegranate peel extract with mupirocin and to evaluate the combination effect of pomegranate peel extract with mupirocin against bacterial colonization of MRSA on the burn wound rat skin. Second degree of burn was made by placing a nail with length 2 cm and width 2 cm. Before it used, the nail was boiled in boiling water for 10 seconds. Isolates of MRSA bacteria were inoculated on burn wound in male rats strain Wistar. The rats were divided into three groups, each group was treated six hours after bacterial inoculation. The first group was given mupirocin on the burn wound; the second group was given topical pomegranate peel extract, and the third group received a combination of mupirocin with pomegranate peel extract topically. Swab culture was taken on the third and fifth day post-treatment. The specimen was sent to the Microbiology Laboratory for microbiological examination to evaluate the efficacy of pomegranate peel

extract in inhibiting bacterial colonization of MRSA. Topical pomegranate fruit peel extract significantly inhibited MRSA bacterial colonization on the rat's burn wound (p sig.(2-tailed), 0,045,  $P < 0,05$ ). No significant result was found on bacterial count in topical pomegranate fruit peel extract administration compared to topical mupirocin administration or in combination between topical pomegranate and mupirocin. Topical pomegranate fruit peel extract has antibacterial effect, even though it is not more effective compared to mupirocin administration or combination between the pomegranate and mupirocin.

Keywords: pomegranate peel extract; antibacterial; *methicillin resistant staphylococcus aureus*; mupirocin

## PENDAHULUAN

Luka bakar merupakan masalah kesehatan di dunia. Kematian dan kecacatan menjadi problem terutama di negara yang sedang berkembang (Moenajat, 2001; Young, 2006). Luka bakar merusak fungsi kulit untuk mencegah invasi mikroorganisme sehingga pasien luka bakar menjadi rentan terhadap infeksi serta menyebabkan penurunan imunitas seluler dan humoral. (Sarabashi, 2010). Sebanyak 70% mortalitas pada luka bakar disebabkan karena infeksi, sedangkan 30% dihubungkan dengan penyebab lain (Naqvi, 2007).

*Methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) merupakan patogen yang penting sebagai penyebab infeksi pada luka bakar (Larson, 2010). Persentase pasien dengan infeksi MRSA, kini telah terbukti meningkat secara dramatis (Ward, 1992). Infeksi MRSA mempunyai karakteristik unik yaitu cepat menyebar di lingkungan rumah sakit, organisme ini dianggap sebagai patogen nosokomial, dan mengakibatkan wabah infeksi yang menyebabkan masalah serius dalam manajemen pasien, karena banyak strain menjadi multiresisten terhadap beberapa kelas antibiotik (Rao, 2006; Murray, 2008).

Penggunaan antibiotik yang sembarangan telah menyebabkan peningkatan resistensi mikroorganisme terhadap antibiotik, sehingga membutuhkan pengembangan antimikrob baru (Tiwari, 2010). Dalam beberapa tahun terakhir, telah muncul ketertarikan mengeksplorasi bahan-bahan alamiah untuk bahan antimikrob. Salah satunya adalah delima, yang mempunyai sifat antibakterial, sebagai antibiotik yang murah, tanpa efek samping, dan mempunyai keuntungan terhadap patogen resisten antibiotik (Parseh *et al.*, 2012). Peneliti-peneliti di Brazil mengevaluasi efek sinergis ekstrak metanol delima dan antibiotik terhadap 30 isolat klinis MRSA dan *methicillin sensitive S. aureus*. Laporan hasil penelitian mereka menunjukkan adanya efek sinergisme antara antibiotik yang diuji dengan ekstrak delima terhadap *S. aureus*.

Berdasarkan penelitian awal dan hasil studi ini, *ellagitanin* serta *punicalagin* yang terdapat dalam ekstrak buah delima diduga bertanggung-jawab terhadap efek antibakterial (Jurenka, 2008).

Studi *in vitro* tersebut menjadi acuan dalam melakukan penelitian ini dengan tujuan membandingkan pemberian ekstrak kulit buah delima dan mupirosin sebagai terapi standar terhadap MRSA saat ini, serta melihat efek pemberian kombinasi ekstrak kulit buah delima dengan mupirosin terhadap kolonisasi bakteri MRSA pada kulit tikus yang mengalami luka bakar.

## METODE PENELITIAN

### Metode Pembuatan Ekstrak Topikal

Bahan yang digunakan untuk perlakuan pada penelitian ini adalah ekstrak kulit buah delima terstandar berbentuk bubuk (produksi oleh Xi'an Bio Bio-Technology Co., Ltd. People Republic of China), yang tersedia dalam bentuk kapsul dan terstandarisasi mengandung 40% asam ellagik. Bubuk dimasukan ke tabung kaca dan disuspensikan dengan aquades serta *suspending agent sodium carboxy methyl cellulose* (CMC) 0,5%. Agen suspensi dibuat dengan cara merebus sodium CMC 0,5% ke dalam 100 mL aquades dan diaduk dengan bantuan *magnet stirrer* sampai larut.

### Protokol Hewan dan Eksperimental

Penelitian dilakukan pada 27 tikus jantan strain Wistar berusia tiga bulan dan dilakukan di Laboratorium Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga. Masing-masing tikus dipelihara dalam kandang yang berbeda di ruangan yang sama, serta diberi pakan dalam jumlah dan jenis yang sama. Tikus dibius dengan menggunakan ketamin 20 mg/kg bobot badan diberikan secara injeksi intramuskuler. Setelah terbius, tikus dicukur rambutnya pada bagian perut, berbentuk segi panjang ukuran panjang 5 cm dan lebar 4 cm, dan dibuat luka

bakar derajat II B dengan menempelkan kepala paku yang telah direbus dengan air mendidih (100 f C) selama 10 detik. Masing-masing luka diberikan bakteri MRSA sebanyak 10<sup>5</sup> CFU, dan ditutup dengan *transparent dressing* untuk mencegah kontaminasi ke area sekitarnya.

Setelah enam jam, dilakukan *swab* pada luka dengan teknik Levine sebagai kontrol, setelah itu dilakukan pengelompokan secara acak menjadi tiga. Kelompok ke-1 diberikan perlakuan dengan mupirosin topikal, kelompok ke-2 diberikan perlakuan ekstrak kulit buah delima topikal, dan kelompok ke-3 diberikan perlakuan berupa kombinasi ekstrak kulit buah delima dengan mupirosin.

Pada hari ke-3 dan hari ke-5 pascaperlakuan dilakukan *swab* ulang. Spesimen *swab* dikirim Laboratorium Mikrobiologi, Universitas Airlangga dan hasil dari setiap kultur *swab* dinyatakan dalam bentuk jumlah koloni kuman (CFU). Data yang dikumpulkan dianalisis menggunakan sidik ragam atau *analysis of variance*.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada kelompok pemberian mupirosin, perubahan jumlah bakteri MRSA pada hari ke-3 mengalami penurunan dibandingkan dengan hari ke-0. Tetapi, penurunan ini tidak bermakna (p>0,05), begitu juga pada hari ke-5 apabila dibandingkan dengan hari ke-3. Namun, penurunan jumlah bakteri hari ke-5 bermakna (p<0,05) apabila dibandingkan dengan hari ke-0.

Perubahan jumlah bakteri MRSA pada kelompok pemberian ekstrak kulit buah delima pada hari ke-3 mengalami penurunan dibandingkan dengan hari ke-0, dan jumlahnya menetap pada hari ke-5, penurunan ini dianggap bermakna (p<0,05). Penurunan jumlah bakteri

MRSA pada kelompok pemberian kombinasi mupirosin dan ekstrak kulit buah delima baru terlihat pada hari ke-5. Tetapi, penurunan ini dianggap belum bermakna ((p>0,05).

Pada hari ke-0, perbedaan jumlah bakteri MRSA antar ketiga kelompok tidak bermakna (p>0,05). Begitu juga pada hari ke-3 dan ke-5, dari 23 koloni, perbedaan jumlah bakteri MRSA antar ketiga kelompok tidak bermakna (p > 0,05).

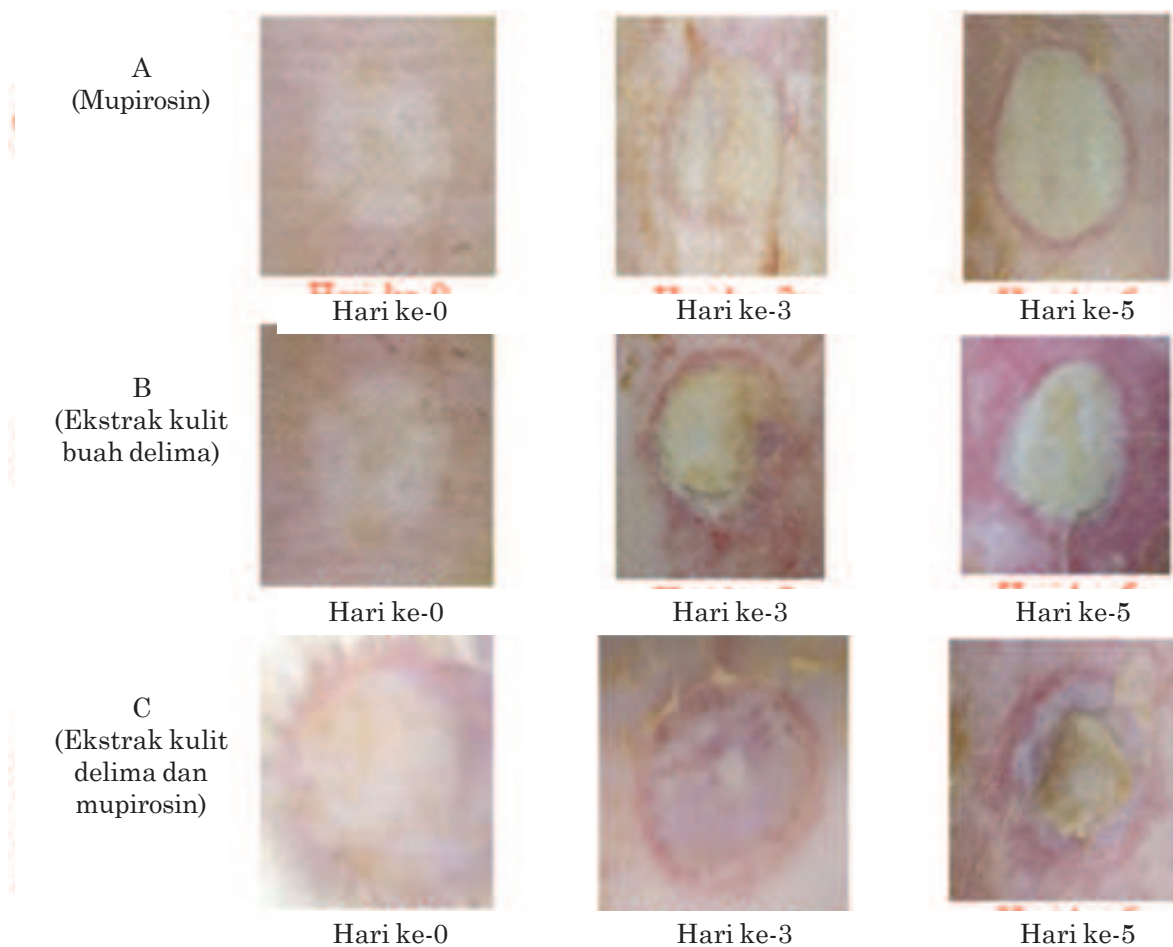
Pada pemberian ekstrak kulit buah delima topikal, penurunan jumlah bakteri MRSA setelah 3x24 jam (p=0,008). Hal ini sejalan dengan laporan Jurenka (2008) bahwa pemberian ekstrak kulit buah delima dapat menghambat pertumbuhan bakteri MRSA. Kandungan polifenol delima terutama asam ellagik dan punikalagin diduga bertanggungjawab untuk efek antimikrob (Jurenka, 2008). Mekanisme aktivitas antibakterial delima diduga melalui pengaruh pada dinding sel bakteri, hambatan enzim oleh agen oksidan, interaksi dengan protein dan mengganggu ko-agregasi mikroorganisme (Abdollahzadeh *et al.*, 2011).

Pada pemberian kombinasi antara ekstrak kulit buah delima dan mupirosin, jumlah bakteri MRSA menunjukkan penurunan yang tidak bermakna (p>0,05). Hal ini belum membuktikan bahwa pemberian kombinasi ekstrak kulit buah delima dan mupirosin dapat menghambat kolonisasi bakteri MRSA pada kulit luka bakar tikus putih. Adanya pola fluktuasi jumlah koloni bakteri mungkin disebabkan oleh antagonisme antar kedua bahan, yakni antara mupirosin dan ekstrak kulit buah delima. Kemungkinan salah satu komponen, mengurangi efektivitas komponen yang lain sehingga pemberiannya tidak mengurangi jumlah koloni bakteri MRSA. Jika dilakukan perbandingan penurunan jumlah bakteri MRSA antar ketiga kelompok maka didapatkan hasil analisis statistika yang tidak bermakna (p>0,05). Hal ini belum dapat

Tabel 1. Deskripsi jumlah koloni *methicillin resistant staphylococcus aureus* (MRSA) pada ketiga kelompok perlakuan ekstrak delima dan mupirosin

KelompokPerlakuan	Jumlah koloni MRSA (CFU)		
	Hari 0	Hari 3	Hari 5
Mupirosin	92,6±11,6	6,3±14,8	14,6±26,9
Mupirosin + Eks trak Delima *	23,1±43,8	88,2±13,6	39,8±81,7
Ekstrak Delima *	45,2 ± 80,9	0	0

Keterangan : \* Didapatkan kontaminasi kuman *Pseudomonas aeruginosa*



Gambar 1. Gambaran klinis hasil penelitian perlakuan ekstrak buah delima dan mupirosin terhadap luka bakar tipe-2.

Keterangan:

- A. Kelompok pemberian mupirosin: Pada pengamatan luka hari ke-3 pascapemberian mupirosin, luka tampak basah dan ditemukan *slough* yang makin bertambah pada hari ke-5 pascapemberian mupirosin.
- B. Kelompok pemberian ekstrak kulit buah delima: Pada pengamatan luka hari ke-3 pascapemberian mupirosin, luka tampak basah, tepi luka kemerahan dan ditemukan *slough* yang makin bertambah pada hari ke-5 pascapemberian mupirosin. Pada pemeriksaan mikroskopis, pada kultur *swab*, selain didapatkan bakteri MRSA juga ditemukan kontaminasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.
- C. Kelompok pemberian kombinasi ekstrak kulit buah delima dan mupirosin: Pada pengamatan luka hari ke-3 pascapemberian mupirosin, luka tampak basah, tepi luka kemerahan dan ditemukan *slough* yang bertambah pada hari ke-5 pascapemberian mupirosin. Pada pemeriksaan mikroskopis, pada kultur *swab*, selain didapatkan bakteri MRSA juga ditemukan kontaminasi bakteri *P. aeruginosa*.

membuktikan bahwa ekstrak kulit buah delima maupun kombinasi ekstrak kulit buah delima dengan mupirosin mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri MRSA lebih besar bila dibandingkan dengan pemberian mupirosin atau ekstrak kulit delima saja

**Pengamatan Luka Secara Klinis**

Pada semua kelompok perlakuan didapatkan warna kemerahan (eritema) yang bertambah seiring waktu. Hal Ini dapat disebabkan karena adanya kontaminasi bakteri *P. aeruginosa* pada sekitar luka. Ekstrak kulit

buah delima lebih sensitif terhadap bakteri Gram positif bila dibandingkan dengan bakteri Gram negatif. Sensitivitas yang cukup tinggi juga dilaporkan pada bakteri *Staphylococcus aureus*, sedangkan sensitivitas terhadap bakteri *P. aeruginosa* kurang bila dibandingkan dengan bakteri gram negatif lain (Dahham, 2010)

### SIMPULAN

Pemberian ekstrak kulit buah delima secara topikal pada luka bakar di kulit tikus dapat menghambat kolonisasi bakteri MRSA. Pemberian ekstrak kulit buah delima secara topikal yang dikombinasi dengan mupirosin pada luka bakar di kulit tikus lebih efektif dibandingkan hanya mupirosin dalam menghambat kolonisasi bakteri MRSA.

### SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut berkaitan dengan terapi ekstrak kulit buah delima terhadap berbagai bakteri yang menyebabkan infeksi luka bakar secara *in vivo*, untuk menentukan dosis yang efektif dan aman.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dekan Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga, Surabaya yang telah membantu mendapatkan sumber dana untuk penelitian ini melalui program Penelitian dan Pengabdian Masyarakat BOPTN tahun 2013.

### DAFTAR PUSTAKA

- Abdollahzadeh S, Mashouf RY, Mortazavi H, Moghaddam MH, Roozbahani N, Vahedi M. 2011. Antibacterial and Antifungal Activities of Punica Granatum Peel Extracts Against Oral Pathogens. *Journal of Dentistry* 8(1): 1-5.
- American Wound Management Association. 2011. Bacterial Impact on Wound Healing : From Colonization to Infection. Retrieved: Desember 31, 2012, from <http://www.awma.com.au>
- Church D, Elsayed S, Reid O, Winston B, Lindsay R. 2006. Burn Wound Infections. *Clinical Microbiology Reviews*. 19(2): 403-434.
- Dahham SS. 2010. Studies on Antibacterial and Antifungal Activity of Pomegranate (*Punica granatum* L). *Mediterranean-European J Agriculture & Environment Science* 9(3): 273-281
- Gallagher JJ, Bouyer NW, Villarreal C, Heggors JP, Herndon DN. 2007. Treatment of Infection in Burns. Dalam: Herndon DN (Ed). *Total Burn Care*. 3<sup>rd</sup> edition. Philadelphia. Saunders Elsevier. Hlm. 136-173.
- Glasser JS. 2010. Activity of topical antimicrobial agents against multidrug-resistant bacteria recovered from burn patients. *Burns*. 36(2): 1172-1184.
- Jurenka J. 2008. Therapeutic Applications Of Pomegranate (*Punica Granatum* L.): A Review', *Alternative Medicine Review*. 13(2): 128-141.
- Larson El, Cohen B, Ross B, Behta M. 2010. Isolation Precautions for Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus*: Electronic Surveillance to Monitor Adherence. *American Journal of Critical Care* 19(1): 16-24.
- Milyani R, Ashy N. 2012. Inhibitory some plant extract on clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *African Journal of Microbiology Research* 6(40): 6822-6829.
- Moenadjat Y. 2001. *Luka Bakar Pengetahuan klinis Praktis*. Edisi Kedua. Jakarta. BP-FKUI. Hlm. 1-7; 42-47.
- Nair D. 2010. Microbiology in Burns. Dalam: Sarabashi S (Ed). *Principle and Practice of Burn Care*. 1<sup>st</sup> edition. New Delhi. Jaypee Brothers Medical Publisher. Hlm. 79-100.
- Naqvi ZA, Hashmi K, Kharal SA. 2007. Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. (MRSA) In Burn Patients. *Pakistan Journal of Pharmacology* 24(2): 7-11.
- Parseh H. 2012, Antimicrobial properties of Pomegranate (*Punica granatum* L.) as a Tannin rich Fruit: a review. The 1<sup>th</sup> International and The 4<sup>th</sup> National Congress on Recycling of Organic Waste in Agriculture. 26-27 April 2012 in Isfahan, Iran.

- Rathinamoorthy, Udayakumar RS, Thilagavathi G. 2011. Antibacterial Efficacy Analysis of *Punica granatum* L. Leaf, Rind and *Terminalia chebula* Fruit Extract Treated Cotton Fabric Against Five Most Common Human Pathogenic Bacteria. *International Journal of Pharmacy & Life Sciences* 2: 1147-1153
- Rice LB. 2012. Mechanisms of Resistance and Clinical Relevance of Resistance to Lactams, Glycopeptides, and Fluoroquinolones. *Mayo Clinical Proceeding* 87: 198-208
- Sarabashi S. 2010. Anatomy of the Skin. Dalam: Sarabashi S (Ed). *Principle and Practice of Burn Care*. 1<sup>st</sup> edition. New Delhi. Jaypee Brothers Medical Publisher. Hlm. 18-24.
- Seeram NP. 2006. Pomegranate Phytochemical. Dalam: Seeram NP (Ed). *Pomegranates: Ancient Roots to Modern Medicine*. Hlm. 3-26.
- Tiwari VK, Sarabashi S. 2010. Burn Wound Infection' Shock'. Dalam: Sarabashi S (Ed). *Principle and Practice of Burn Care*. 1<sup>st</sup> edition. New Delhi. Jaypee Brothers Medical Publisher. Hlm. 241-260
- Vartak A. 2010. Patophysiology of Burn Shock. Dalam: Sarabashi S (Ed). *Principle and Practice of Burn Care*. 1<sup>st</sup> edition. New Delhi. Jaypee Brothers Medical Publisher. Hlm. 37-41.
- Ward CG. 1992. Infection in burn patients. Dalam: Raylah LTA (Ed). *Critical Care of the Burned Patient*. 1<sup>st</sup> edition. Cambridge. Cambridge University Press. Hlm. 120-133
- Weber J, McManus A. 2004. Infection Control In Burn Patients. *Burns*. 30: A16-A24.
- Young MD. 2006. Burn and Electrical Injury Dalam: Mathes SJ. Ed. *Plastic Surgery*. 2<sup>nd</sup> edition. Philadelphia. Saunders Elsevier. Hlm. 811-834.