

Studi Evaluasi Mekanisme *Hand Rub (Hand Sanitizer)* Berbasis Alkohol Terhadap *Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus (MRSA)* Dengan Metode Pengamatan *Scanning Electron Microscope (SEM)*

Ahmad Subhan¹, Wasmen Manalu², Min Rahminiwati³, Huda Salahudin Darusman⁴

¹Apoteker Farmasi Klinik RSUP Fatmawati Jakarta

^{2,3&4}Prodi Ilmu Faal dan Khasiat Obat IPB – Bogor

*Email korespondensi : apt.asubhan@gmail.com

ABSTRACT

The current pandemic caused by the current Corona Virus Infection Disease (Covid 19), as well as those caused by Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) clones in the previous period, have seriously threatened human life. These conditions require materials that can break the chain of transmission from human to human and the environment to human. Alcohol-based hand rubs/hand sanitizers are widely used, generally containing ethanol, isopropanol or n-propanol, or a combination of the two types. Alcohol has excellent germicidal activity in vitro against gram-positive and gram-negative vegetative bacteria (including multidrug-resistant pathogens such as MRSA and VRE) as well as against viruses. This study aimed to determine the effect of alcohol-based hand rub (hand sanitizer) on Methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA) using the scanning electron microscope (SEM) observation method. The hand rub product used in this study is a modified version of the WHO standard formula, which is the best formula based on formulation stability tests in previous studies. Methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA) used in this study was the result of swab wounds of patients undergoing treatment at the research hospital. The SEM examination was carried out at the Indonesian Institute of Sciences (LIPI) Serpong using the SEM JSM IT200. The results showed that at 5,000X magnification, it was seen that MRSA underwent a lysis colony at each of the cell wall structure with the occurrence of colony deformation which caused the separation of each cell from the main colony. At 10,000X magnification, Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) colonies appeared to be lysed in the cell wall structure with deformation and coagulation in the main colonies of MRSA cells. In 10,000X observations of single cells showed a lysis of the MRSA cell wall structure and it damage the structures surrounding the cell, which caused cell death.

Keywords: *hand rub, alcohol base, IFO, Ahmad, Subhan, fatmawati, MRSA, SEM*

ABSTRAK

Pandemi yang terjadi baik oleh *Corona Virus Infection Disease* (Covid 19) saat ini terjadi, maupun yang disebabkan oleh klon *Methicillin-resistant staphylococcus aureus* (MRSA) pada periode sebelumnya, benar – benar telah mengancam kehidupan manusia. Kondisi tersebut membutuhkan material yang dapat memutus mata rantai penularan dari manusia ke manusia maupun lingkungan ke manusia. Antiseptik tangan (hand rub/hand sanitizer) dengan basis alkohol yang banyak digunakan, umumnya mengandung etanol, isopropanol atau n-propanol, atau kombinasi dua dari jenis tersebut. Alkohol memiliki aktifitas germisidal yang sangat baik secara in vitro terhadap gram positif dan bakteri vegetative gram negatif (termasuk multidrug-resistant pathogen seperti MRSA dan VRE) maupun terhadap virus. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek dari *hand rub*

(*Hand sanitizer*) berbahan dasar alkohol terhadap *Methicillin-resistant staphylococcus aureus* (MRSA) dengan menggunakan metode pengamatan *scanning electron microscope* (SEM). Produk *hand rub* yang digunakan dalam penelitian ini merupakan hasil modifikasi dari formula standar WHO, yang merupakan formula terbaik berdasarkan uji stabilitas secara formulasi pada penelitian sebelumnya. *Methicillin-resistant staphylococcus aureus* (MRSA) yang digunakan dalam penelitian ini merupakan hasil swab luka pasien yang menjalani perawatan di rumah sakit tempat penelitian. Pemeriksaan SEM dilakukan di Lembaga Ilmu Pengtahuan Indonesia (LIPI) serpong menggunakan SEM JSM IT200. Hasil pengamatan menunjukkan, pada perbesaran 5.000X terlihat bahwa MRSA secara koloni mengalami lisis pada struktur dinding sel dengan terjadinya deformasi koloni yang menyebabkan keterpisahan masing – masing sel dari koloni utamanya. Pada perbesaran 10.000X, koloni *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) tampak mengalami lisis pada struktur dinding sel dengan terjadinya deformasi dan koagulasi pada koloni utama sel MRSA. Pada pengamatan 10.000X terhadap sel tunggal menunjukkan tampak lisis pada struktur dinding sel MRSA dan mengalami kerusakan pada struktur di sekeliling sel, yang menyebabkan kematian sel.

Kata kunci: *hand rub, alcohol base, IFO, Ahmad, Subhan, fatmawati, MRSA, SEM*

Pendahuluan

Pada saat ini, pandemi yang sedang terjadi secara meluas telah benar-benar mengancam kehidupan manusia di dunia. Infeksi Corona virus atau yang diperkenalkan oleh Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) dengan nama COVID-19 (*Coronavirus infection disease 2019*) telah menyebabkan kematian secara massif di seluruh dunia (WHO 2020; Kemenkes RI 2020). Kasus pandemi juga pernah terjadi pada klon *S. aureus*. Patogen ini resistan terhadap penisilin pada fag tipe 80/81 yang merupakan klon paling banyak dan luar biasa menyebabkan epidemi selama tahun 1950-an. Klon ini dengan cepat muncul, menjadi dominan di Australia, Inggris, Amerika, dan Kanada yang menyebabkan infeksi kulit yang parah, sepsis, dan atau pneumonia. Pada awalnya, wabah ini terbatas hanya pada lingkungan rumah sakit, akan tetapi, secara bertahap infeksi menyebar ke zona di luar rumah sakit. Pandemi MRSA ini berlangsung sekitar 10 tahun (Lakhundi dan Zhang, 2018).

Berdasarkan laporan tahunan *surveillance* infeksi (KPPI 2020), kejadian infeksi *Methicillin-Resistant Staphylococcus*

aureus (MRSA) selama periode tahun 2019 di RSUP Fatmawati sebanyak 54 kasus. Sebanyak 30% (15 kasus) temuan dari kultur darah, 38% (19 kasus) dari swab luka, sebanyak 20% (19 kasus) dari kultur urin, 20% (10 kasus) dari swab sputum dan tenggorokan, dan sebanyak 10% (5 kasus) dari sumber lainnya. Dari 30% kasus temuan MRSA pada kultur darah, sebanyak 45% menyebabkan kematian pasien dan sebanyak 55% mengalami perpanjangan masa rawat. Kematian umumnya disebabkan oleh kejadian sepsis akibat MRSA (87%) dan sebanyak 13% karena *comorbid* dan faktor risiko lainnya (KPPI. 2020).

Menurut WHO (2009), transmisi (penularan) patogen pada perawatan kesehatan dapat terjadi melalui kontak langsung dan tidak langsung, *droplet*, dan udara yang terkontaminasi. Transmisi melalui tangan yang terkontaminasi adalah pola yang paling umum di sebagian besar pelayanan kesehatan. Untuk itu, WHO (2009) mencanangkan 5 (lima) keadaan yang mewajibkan petugas kesehatan untuk mencuci tangan, yaitu: (1) setelah melakukan kontak dengan pasien: karena organisme yang ada di kulit pasien dapat berpindah ke

tangan petugas pada saat terjadi kontak; (2) setelah terkena cairan tubuh: organisme patogen pada cairan tubuh dapat mengkontaminasi tangan petugas sehingga dapat bertransmisi pada pasien atau sebaliknya; (3) setelah kontak dengan lingkungan perawatan pasien: hal ini dilakukan karena di lingkungan pasien kemungkinan telah terjadi cemaran yang berasal dari droplet atau cairan tubuh pasien; (4) sebelum kontak dengan pasien: untuk mencegah transmisi patogen dari tangan petugas ke pasien; (5) sebelum melakukan tindakan steril: organisme patogen mampu bertahan setidaknya selama beberapa menit di tangan petugas sehingga sebelum melakukan tindakan steril harus melakukan *hand rub*.

Hand rub sebagai antiseptik dan disinfektan digunakan secara luas di rumah sakit dan di fasilitas perawatan kesehatan lainnya untuk berbagai tujuan guna melindungi area permukaan benda-benda dan lingkungan. Secara khusus, tindakan ini merupakan bagian penting dari upaya pengendalian infeksi dan merupakan bentuk nyata dalam pencegahan infeksi nosokomial. Munculnya kekhawatiran akan adanya potensi kontaminasi mikrob dan risiko infeksi pada makanan serta bahan konsumsi lainnya, telah menyebabkan peningkatan penggunaan antiseptik dan disinfektan oleh masyarakat secara luas. Berbagai macam agen kimia aktif (atau *biocides*) ditemukan dalam produk-produk ini, dan banyak yang telah digunakan selama ratusan tahun sebagai antiseptik, disinfeksi, dan preservasi. Meskipun demikian, hanya sedikit yang diketahui tentang cara kerja zat aktif ini jika dibandingkan dengan antibiotik. Secara umum, *biocide* memiliki spektrum aktivitas yang lebih luas dibanding antibiotik, di samping itu antibiotik cenderung memiliki target intraseluler spesifik, sementara *biocide* mungkin memiliki banyak target. Untuk itu WHO mengeluarkan formulasi standar *hand*

rub berbahan dasar alkohol atau etanol (WHO 2010).

Efek bakterisidal *hand rub* terhadap mikroba seharusnya dapat ditunjukkan secara nyata. Teknik *Scanning Electron Microscopy* (SEM) dapat digunakan untuk pengamatan yang dimaksudkan. SEM menggunakan berkas terfokus elektron berenergi tinggi untuk menghasilkan berbagai sinyal di permukaan spesimen padat. Sinyal yang berasal dari interaksi antara sampel dan elektron mengungkapkan informasi tentang sampel, termasuk morfologi eksternal (tekstur), komposisi kimia, dan struktur kristal, serta orientasi bahan penyusun sampel. Di sebagian besar aplikasi SEM, data dikumpulkan di area tertentu dari permukaan sampel, dan gambar dalam bentuk 2 dimensi dihasilkan yang menampilkan variasi spasial pada SEM. Area dengan lebar sekitar 1 cm hingga 5 mikron dapat dicitrakan dalam mode pemindaian menggunakan teknik SEM konvensional (perbesaran mulai dari 20X hingga sekitar 30.000X, resolusi spasial 50 hingga 100 nm). SEM juga mampu melakukan analisis lokasi titik terpilih pada sampel; pendekatan ini sangat berguna secara kualitatif atau semi-kuantitatif untuk menentukan komposisi kimia, struktur kristal, dan orientasi kristal (Egerton 2005).

Untuk itu, perlu dilakukan penelitian sebagai upaya pengendalian *pathogen* MRSA dengan melakukan studi evaluasi mekanisme *hand rub* terhadap MRSA, dengan harapan mengetahui efek secara nyata *hand rub* berbasis alkohol terhadap MRSA.

***Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus* (MRSA)**

Staphylococcus aureus berubah menjadi resistan terhadap metisilin karena mendapat sisipan suatu elemen DNA berukuran besar antara 20-100 kb yang disebut SCCmec. SCCmec selalu mengandung *mecA*, yaitu gen yang

menyandi PBP2a yang mendasari terjadinya resistansi MRSA. Resistansi MRSA terhadap metisilin dan terhadap semua antimikrob golongan betalaktam disebabkan oleh perubahan pada *penicillin binding protein* (PBP) yang normal, yaitu PBP2 menjadi PBP2a. PBP2a memiliki afinitas yang sangat rendah terhadap betalaktam sehingga sekalipun bakteri ini dibiakkan pada media yang mengandung konsentrasi tinggi betalaktam, MRSA tetap dapat hidup dan mensintesis dinding sel. Pengamatan pada struktur PBP2a menunjukkan adanya perubahan pada tempat pengikatan yang mengakibatkan rendahnya afinitas. Faktor genetik lain seperti gen betalaktamase dan faktor eksternal seperti temperatur, tekanan oksigen, kandungan ion, osmolaritas, dan cahaya juga mempengaruhi ekspresi resistansi (Zhang *et al.* 2005).

Penicillin binding Protein (PBP) ikut berperan dalam biosintesis peptidoglikan, yaitu mengkatalisis reaksi transpeptidasi. Peptidoglikan tersebut merupakan tempat di mana antibiotik betalaktam bekerja. PBP 1, 2, dan 3 memiliki aktivitas transpeptidase primer, sedangkan PBP4 memiliki aktivitas transpeptidase sekunder. Resistansi terhadap antibiotik dapat terjadi karena diproduksi enzim betalaktamase, seperti pada galur *Staphylococcus aureus* penghasil betalaktamase dan perubahan struktur PBP seperti yang terjadi pada MRSA. Selain berperan dalam reaksi transpeptidasi, PBP2 juga memiliki aktivitas transglukolasi. Reaksi transglukolasi tersebut tidak berhubungan dengan aktivitas reseptor penisilin. Afinitas PBP2a yang rendah terhadap betalaktam menyebabkan antibiotik betalaktam tidak dapat mempengaruhi reaksi transpeptidasi sehingga sintesis dinding sel tidak terganggu. Reaksi transglukolasi tidak terpengaruh oleh aktivitas betalaktam sehingga reaksi transglukolasi PBP2a ini tetap utuh, dan hal tersebut juga menentukan adanya resistansi MRSA (Daum *et al.* 2002).

Gen *mecA* memiliki struktur dan mekanisme yang serupa dengan gen *blaZ* pada plasmid *Staphylococcus aureus* penghasil betalaktamase. Regulator pada gen *blaZ* adalah *blaI* dan *blaR1*. Gen regulator *blaI* menyandi DNA binding protein yang berfungsi menekan transkripsi gen betalaktamase, sedangkan *blaR1* merupakan PBP yang akan menginduksi transkripsi jika ada betalaktam. Mekanisme ini analog dengan yang terjadi pada gen *mecA* yang dikendalikan oleh *mecI* dan *mecR1*. Gen *mecI* akan menekan transkripsi *mecA* dan *mec* complex (kompleks *mecR1 – mecI*) pada keadaan tidak terinduksi, sedangkan pada saat terinduksi akan terjadi transkripsi *mecA* dan *mec* complex. Antibiotik yang dapat menginduksi transkripsi tersebut di antaranya adalah metisilin dan antibiotik betalaktam lainnya. Induksi *mecI* juga dapat terjadi karena proses autolitik yang disebabkan oleh enzim protease pada membran sel. Enzim tersebut juga mengkatalisis pembentukan septum yang diperlukan untuk pertumbuhan dan pembelahan *Staphylococcus aureus*. Antibiotik betalaktam bekerja dengan menghambat enzim autolitik tersebut. MRSA dengan derajat resistansi tinggi mengalami aktivasi gen *lytH* yang mengkode enzim autolitik, oleh karena itu derajat resistansi dapat meningkat apabila aktivitas autolitik meningkat (Chongtrakool *et al.* 2006).

Resistansi methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) terhadap berbagai antimikrob terutama didasari adanya insersi mobile genetic elements yang disebut *Staphylococcal cassette chromosome mec* (SCCmec) pada kromosom *Staphylococcus aureus*. SCCmec tersusun atas gen rekombinase (*ccr*), gen kompleks *mec*, gen resistansi tambahan, dan *insertion sequences*. Struktur gen rekombinase memungkinkan SCCmec dapat berpindah dari satu bakteri ke bakteri lainnya. Identifikasi dan analisis SCCmec sangat diperlukan untuk mengetahui dasar genetik

resistansi dan memperkirakan penyebaran bakteri ini (Sudigdoadi 2010).

Nama lain MRSA, yaitu *healthcare acquired MRSA* atau *healthcare associated MRSA (HA-MRSA)*, menyebar cepat keseluruh rumah sakit di dunia dan memiliki fenotip multiresistan, yaitu resistan terhadap semua antimikroba betalaktam dan dua atau lebih antimikroba non betalaktam (Lowy 2003). Obat pilihan untuk terapi infeksi MRSA adalah vankomisin, tetapi pada tahun 1996 ditemukan penyebaran MRSA yang menurunkan kepekaannya terhadap vankomisin (Trakulsomboon *et al.* 2001).

Formula Handrub

Pada penelitian ini, dilakukan modifikasi kadar (perbandingan kadar) dari formula WHO, dan formula yang terpilih digunakan sebagai bahan uji terhadap MRSA (Subhan *et al.*, 2021). Nilai volume total adalah 500 ml setiap sediaan, dimana kadar etanol dibuat gradasi meningkat guna menjaga kadar akhir alkohol >80%, kadar perhidrol dan gliserol dibuat dengan gradasi menurun, sedangkan air steril dibuat tetap (konstan). Berikut ini adalah perbandingan kadar formulasi antara standar *handrub* WHO (2009), dengan modifikasi kadar untuk volume total 500 ml untuk penelitian:

Tabel 1. Perbandingan formula WHO dan modifikasi kadar *handrub* dalam volume total 500 mL (WHO, 2010; Subhan *et al.*, 2021)

No	Zat Aktif	Formula WHO	Formula Penelitian MD.4	Sat.
1	Etanol 96%	417	439,30	mL
2	H ₂ O ₂ 3%	21	5	mL
3	Gliserol 98%	7	0,25	mL
4	Aq. steril ad.500mL	55	55	mL
	TOTAL	500	500	mL

Sumber Bahan Baku

Sumber bahan baku pada penelitian ini adalah dari PT.Brataco Indonesia. Syarat dari bahan baku tersebut telah memenuhi grade farma atau mempunyai keamanan terjamin jika digunakan pada manusia. Syarat lain, bahan baku tersebut telah dilengkapi dengan keterangan *material safety data sheet* (MSDS)

Metode Pengujian SEM

Teknik pengujian menggunakan Standar Prosedur Operasional (SPO) pengoperasian alat SEM tipe ST200. Diketahui, *Scanning electron microscopy* (SEM) adalah mikroskop elektron yang dapat digunakan untuk pengamatan mikrostruktur suatu bahan. Pada pengamatan morfologi, bentuk dan ukuran sel bakteri, diperlukan suatu metode preparasi agar sampel bakteri tersebut dapat dibaca dengan jelas. Tahapan persiapan sampel sebelum diamati dengan SEM sangat penting untuk bisa mendapatkan hasil pengamatan yang berkualitas serta untuk bisa memberikan analisis yang tepat. Seluruh perlakuan yang diberikan pada saat persiapan sampel tidak boleh merubah struktur asli dari sampel tersebut agar hasil pengamatan SEM merepresentasikan struktur asli dari sampel (LIPI, 2020).



Gambar 1. Set alat SEM JSM IT200
(Jeol,2021)

Sampel yang diamati adalah *pathogen* MRSA yang telah dilakukan perlakuan dengan paparan *hand rub* MD.4. Teknik paparan MRSA dengan *hand rub* MD.4 dilakukan dengan: menempatkan sebanyak 2 (dua) mL suspensi MRSA yang telah dibuat dengan Mc.Farland I (Populasi bakteri $3,0 \times 10^8$ cfu/mL) dalam tabung *vacutainer* kemudian ditambahkan sebanyak 1 (satu) mL *hand rub* MD.4, didiamkan selama lima menit, kemudian ditambahkan *glutaraldehyde* 2 (dua) mL, kemudian sampel dikirim ke LIPI untuk dilakukan pengamatan dengan SEM tipe ST200. Uji *scanning electron Microscope* (SEM) pascapaparan dilakukan untuk menilai visualisasi dampak paparan *hand rub* MD.4 pada *pathogen Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Pengujian SEM dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Serpong, Tangerang Selatan, Banten, Indonesia (Subhan, *et al.*, 2021)

Pada pengamatan morfologi sel bakteri dengan *Scanning electron microscopy* (SEM) maka diperlukan suatu metode preparasi agar sampel bakteri tersebut dapat dibaca dengan jelas. Metode preparasi sampel organik pada umumnya adalah fiksasi, dehidrasi, pengeringan, dan pelapisan

emas. *Cacodylate buffer* dan *phosphate buffer* merupakan buffer yang sering digunakan pada preparasi bakteri dalam pengamatan SEM. Akan tetapi, *cacodylate buffer* mengandung arsen yang beracun dan dapat menyebabkan dermatitis. Selanjutnya pelapisan sampel dengan bahan konduktor, biasanya menggunakan emas (Nurhayati *et al.* 2019).

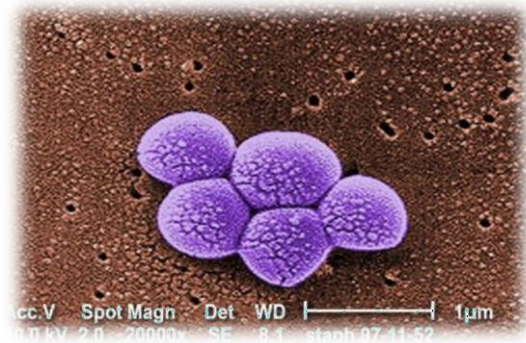
Mula-mula dilakukan preparasi terhadap sampel. pada tahapan ini dilakukan pembersihan terhadap sampel. Tujuandari langkah ini adalah untuk menghindarkan kontaminan yang dapat mengganggu originalitas hasil imaging. Pembersihan Sampel dilakukan dengan cara direndam dalam *cacodylate buffer* kurang lebih 2 jam, selanjutnya diagitasi dalam “*ultrasonic cleaner*” selama 5 menit. Langkah berikutnya adalah prefiksasi dan fiksasi. Tujuan tahapan ini adalah untuk menjaga struktur asli dari sampel agar tidak mudah Kempis atau hancur. Prefiksasi Sampel dilakukan dengan perendaman dalam larutan *glutaraldehyde* 2,5% selama beberapa jam hingga 2 (dua) hari. Sedangkan tahap Fiksasi dilakukan dengan perendaman dalam *tannic acid* 2% selama 6 jam hingga beberapa hari kemudian dicuci dengan *cacodylate buffer* selama 5 menit sebanyak 4 kali. Tahap berikutnya adalah dehidrasi, tujuan dari tahap ini adalah untuk menghilangkan kandungan air dari sampel. Dehidrasi dilakukan dengan proses perendaman dalam alkohol dengan tingkat konsentrasi yang bertambah secara bertahap hingga mencapai 100%. Pada penelitian ini tahap dehidrasi dilakukan dengan perendaman dalam alkohol 50% selama 5 menit sebanyak 4 (empat) kali, kemudian dilanjutkan dengan perendaman dengan alkohol 70% selama 20 menit, selanjutnya direndam dengan alkohol 85% selama 20 menit, kemudian direndam dengan alkohol 95% selama 20 menit (dan seterusnya pada suhu ruang), terakhir direndam dengan alkohol absolut selama 10 menit sebanyak 2

(dua) kali. Tahap selanjutnya adalah pengeringan. Pengeringan biasanya dilakukan menggunakan *critical point drying* (CPD) atau mengaplikasikan bahan kimia tertentu seperti hexamethyldisilazane yang bertujuan untuk menghilangkan kandungan cairan dari sampel tanpa membuat sampel menjadi kempis. Pada penelitian ini pengeringan dilakukan dengan perendaman sampel dalam tert butanol selama 10 menit sebanyak 2 (dua) kali, kemudian dibekukan dalam freezer sampai beku, selanjutnya dimasukkan ke Freezed Drier/Vacuum Drier hingga kering. Tahap selanjutnya adalah pelapisan dengan material konduktif dilakukan menggunakan sputtering machine dengan material konduktif yang digunakan pada umumnya adalah C, Au, Pt. Pada penelitian ini, sebelum proses pelapisan, dilakukan pemasangan specimen dengan direkatkan pada *specimens stub* dengan tingkat kekuatan sesuai kebutuhan/keinginan, kemudian dilakukan pelapisan spesimen dengan Au menggunakan alat *ion coater*. Setelah tahap preparasi selesai, maka tahap selanjutnya adalah pengamatan menggunakan SEM JSM IT200. Untuk SEM JSM IT200 perbesaran obyek dapat dilakukan hingga 20.000 kali. Berikut ini adalah diagram proses analisis dengan SEM *type* JSM IT200 di mana pemrosesan dilakukan pada suhu rendah, yaitu suhu 4°C (LIPI,2020).

Hasil Pengamatan SEM

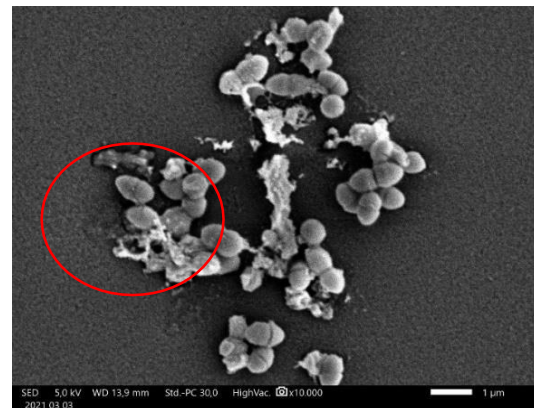
Profil kontrol eksternal.

Berasal dari isolat bakteri di U.S. (CDC 2019). Pada perbesaran 20.000X, pemindaian menggunakan *scanning electron microscope* (SEM) bakteri *methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) menunjukkan adanya gen resistansi yang ditandai dengan adanya peningkatan gumpalan pada dinding sel yang terlihat di permukaan organisme (CDC 2019).



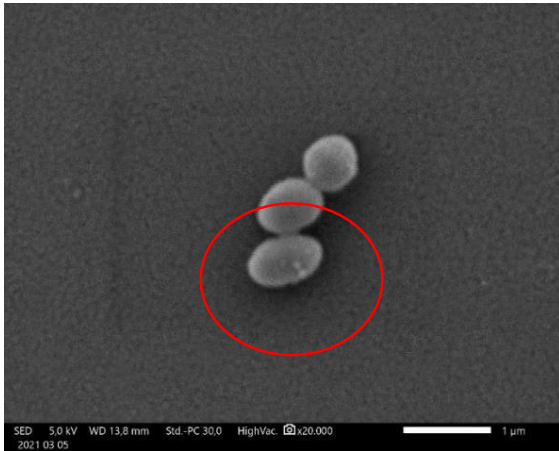
Gambar 2: *Methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) kontrol eksternal (CDC 2019)

Profil kontrol internal (tanpa perlakuan)
Hasil *imaging scan* menggunakan SEM tipe ST200 pada MRSA kontrol (tanpa perlakuan) pada penelitian ini, diketahui sebagai berikut:



Gambar 3: *Methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) Kontrol penelitian, bersumber dari swab luka pasien dengan pembesaran 10.000X

Pada Gambar3diatas .Profil sel *Methicillin resistant staphylococcus aureus* (MRSA) kontrol tanpa perlakuan dengan pembesaran 10.000X menunjukkan adanya bercak putih pada dinding sel bakteri. Hal ini menandakan adanya resistansi bakteri yang ditandai dengan adanya peningkatan bercak pada dinding sel yang terlihat di permukaan organisme.



Gambar 4: Profil sel *Methicillin resistant staphylococcus aureus* (MRSA) kontrol penelitian, bersumber dari swab luka pasien, pada pembesaran 20.000X

Pada Gambar 4, Profil sel *Methicillin resistant staphylococcus aureus* (MRSA) kontrol tanpa perlakuan dengan pembesaran 20.000X, menunjukkan adanya bercak putih pada dinding sel bakteri. Hal ini menunjukkan adanya resistansi bakteri yang ditandai dengan adanya peningkatan bercak pada dinding sel yang terlihat di permukaan organisme.

Staphylococcus aureus membentuk koloni berwarna abu-abu sampai kuning emas tua. *Staphylococcus aureus* membentuk pigmen lipochrom yang menyebabkan koloni tampak berwarna kuning keemasan dan kuning jeruk. Pigmen kuning tersebut membedakannya dari *Staphylococcus epidermidis* yang menghasilkan pigmen putih (Todar 2002).

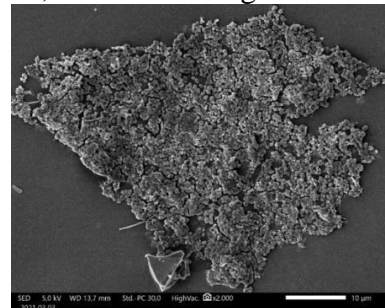
Staphylococcus mengandung polisakarida dan protein yang bersifat antigenik dan merupakan substansi penting di dalam struktur dinding sel. Peptidoglikan merupakan suatu polimer polisakarida yang mengandung subunit-subunit yang tergabung, merupakan eksoskeleton yang kaku pada dinding sel. Peptidoglikan dirusak oleh asam kuat atau lisozim. Hal tersebut penting dalam patogenesis infeksi, yaitu merangsang pembentukan interleukin-1

(pirogen endogen) dan antibodi opsonik, juga dapat menjadi penarik kimia (kemotaktan) leukosit polimorfonuklear, mempunyai aktivitas mirip endotoksin dan mengaktifkan komplemen (Jawetz *et al.* 2005).

Peptidoglikan dan polimer polisakarida bersama asam teikoat membentuk dinding sel yang rigid, dalam hal ini asam teikoat berfungsi menghubungkan peptidoglikan dan antigen. Protein A termasuk dalam komponen permukaan pada kebanyakan *S. aureus* yang virulen. Mikro kapsul polisakarida pada beberapa galur *S. aureus* yang berfungsi sebagai antifagosit yang mempunyai kemampuan mencegah bakteri dari respons peradangan oleh zat asing. Pada permukaan sel *S. aureus* juga terdapat pigmen karoten yang memberi warna orange atau kuning (Carter dan Wise 2004).

Hasil imaging SEM – MRSA pascapaparan *hand rub*

Pada hasil *imaging scan* menggunakan SEM tipe ST200 pada MRSA perlakuan dengan *hand rub* pada penelitian ini, diketahui sebagai berikut:

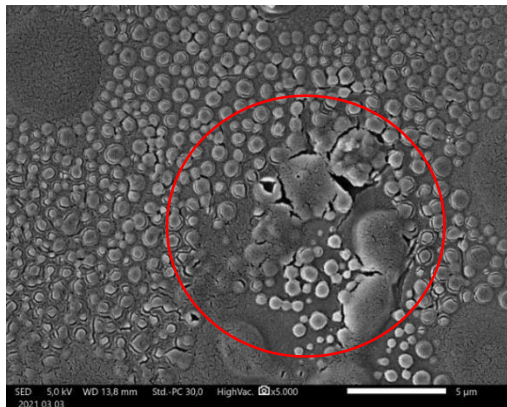


Gambar 5: Profil *methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), MRSA efek pascapaparan dengan MD.4 pada pembesaran 2.000X.

Pada Gambar 5. Menunjukkan hasil pasca terpapar dengan *hand antiseptic (hand rub) alkohol base MD.4* pada perbesaran 2.000X, secara koloni tampak lisis pada struktur dinding sel MRSA.

Diketahui *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif dan berbentuk kokus. Bakteri tersebut berbentuk menyerupai bola dengan garis tengah $\pm 1 \mu\text{m}$ yang tersusun dalam kelompok-kelompok tidak teratur (menyerupai buah anggur), dapat pula tersusun empat-empat (tetrad), membentuk rantai (3-4 sel), berpasangan atau satu-satu (Omoe *et al.* 2002).

Pada Gambar 6. merupakan profil MRSA pascapaparan dengan *hand rub* MD.4, pada perbesaran 5.000X menunjukkan bahwa MRSA secara koloni mengalami lisis pada struktur dinding sel bakteri dengan terjadinya deformasi koloni yang menyebabkan keterpisahan masing – masing sel dari koloni utama sel. Deformasi dalam koloni terjadi secara merata pada seluruh bagian sel MRSA. Hal ini menunjukkan adanya dampak lisis dinding sel secara merata. Lisis sel dapat dilihat pada sebagian gambar yang menunjukkan adanya pecahnya (terbuka) struktur sel MRSA. Lisis sel juga ditunjukkan adanya gumpalan sel dalam penampang besar, lebih besar dari rata-rata ukuran sel MRSA pada umumnya.



Gambar 6: Profil *methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), efek pascapaparan dengan MD.4 pada pembesaran 5000X

Pada Gambar 7. *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), pascapaparan dengan *hand rub* MD.4 menunjukkan, pada perbesaran 10.000X

MRSA sel tunggal menunjukkan tampak lisis pada struktur dinding sel MRSA dan mengalami kerusakan pada struktur di sekeliling sel, yang menyebabkan kematian sel.



Gambar 7: Profil *methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRS), efek pascapaparan dengan MD.4 pada sel tunggal, dengan pembesaran 10.000X



Gambar 8. Profil *methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRS), efek pascapaparan dengan MD.4 pada koloni sel, dengan pembesaran 10.000X

Pada Gambar 8. Koloni *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), mengalami lisis pada struktur dinding sel dengan terjadinya deformasi dan koagulasi pada koloni utama sel. *Hand rub* berbasis

alkohol MD.4 menyebabkan protein sel menggumpal (denaturasi) sehingga menyebabkan kehilangan fungsinya, mengakibatkan membran sel kehilangan strukturnya dan rusak (runtuh). Kerusakan membran dan denaturasi protein sel terjadi secara cepat (4 hingga 30 detik), mengakibatkan kegagalan metabolisme, lisis sel serta kematian sel.

Menurut Fanning (2011) secara spesifik mekanisme kerja etanol masih sangat terbatas, namun berdasarkan peningkatan efikasinya, efektivitasnya sangat terkait dengan kadar air dalam etanol. Secara umum bahwa etanol menyebabkan kerusakan membran dan denaturasi protein, dengan selanjutnya menyebabkan gangguan metabolisme dan lisis protein.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil *scanning electron Microscope* (SEM) menunjukkan efek secara umum berupa lisis pada dinding sel MRSA, akibat paparan *hand rub* berbahan dasar alkohol.

DAFTAR PUSTAKA

[CDC] Centers for Disease Control and Prevention, 2019. *Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases (NCEZID), Division of Healthcare Quality Promotion (DHQP),* <https://www.cdc.gov/mrsa/community/photos/photo-mrsa-1.html>

Carter, G.R and Wise, D.J. (2004) *Essentials of veterinary bacteriology and mycology, sixth Edition. Iowa State Press. Iowa, USA.*

Coulthard, C. E., and G. Skyes., 1936. Germicidal effect of alcohol. *Pharm. J.* 137:79-81

Chongtrakool P, Ito T, Ma XX, Kondo Y, Trakulsomboon S, Tiensasitorn C, dkk.2006. *Staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) typing of methicillin-resistant Staphylococcus aureus*

*strains isolated in 11 Asian Countries: a proposal for a new nomenclature for SCCmec elements. Antimicrob Agents Chemother.*2006;50:1001-12.

Daum RS, Ito T, Hiramatsu K, HussainF, Mongkolrattanothai K, Jamklang M, dkk. 2002. *Novel methicillin-resistant cassette in community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolates of diverse genetic backgrounds. J Infect Dis.*2002;186:1344-7.

Egerton, R. F. (2005). *Physical principles of electron microscopy : an introduction to TEM, SEM, and AEM.* Springer, 202.

Fanning S 2011. *basic medical key – disinfectants and antiseptics modes of action mechanisms of resistant and testing regimens;* www.basicmedicalkey.com

Jawetz, E., Melnick, J.L. and Adelberg, E.A.2005. *Mikrobiologi kedokteran.* Buku 1. Penerbit Salemba Medika. Jakarta.

Jeol, 2021, *JSM-IT200 In Touch Scope Scanning Electron Microscope* <https://www.jeol.co.jp/en/products/detail/JS-M-IT200.html>

Klein, M.A., Deforest., 1983. *Principles of viral inactivation.* In S. S. Block (ed.), *Disinfection, sterilization and preservation,* 3rd ed. Lea & Febiger, Philadelphia, Pa; p. 422-434

Kemendes RI. 2020, *Corona Virus Update.,* <https://COVID19.kemkes.go.id/>

[KPPI] Komite Pencegahan dan Pengendalian Infeksi. 2020, *Laporan surveilnace HAIs periode 2019.* Komite Pencegahan dan Pengendalian Infeksi (KPPI), RSUP Fatmawati, Jakarta

Lakhundi, S., dan Zhang, K. 2018. *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology.* *Clinical Microbiology Reviews,* 31(4), 1–103.

[LIPI] Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, 2020, *Standar Operasional Prosedur (SPO) tahapan preparasi*

pengamatan sampel dengan SEM tipe JSM IT200, LIPI, Serpong

Nurhayati R *et al.* 2019. Preparasi Bakteri Menggunakan Cacodylate Buffer Dan Phosphate Buffer Pada Pengamatan Scanning Electron Mikroskopi (SEM). No. Arsip : LIPI-20191118.,

Omoe, K., Ishikawa, M, Shimoda, Y., Hu, D.L., Ueda, and Shinagawa, K. (2002) *Detection of seg, seh, and sei genes in isolates and determination of the enterotoxin productivities of S. aureus isolates harbouring seg, seh, and sei genes.* J. Clin. Microbiol. 40: 857-862.

Subhan A, Manalu W, Huda SD, Rahminiwati M, 2021., *Evaluation of a Hand Antiseptic with WHO-Recommended Formulation and Its Efficacy in Killing Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus (MRSA)*, Indonesian Journal Of Pharmacy (IJP); VOL 32 NO 1, 2021., <https://journal.ugm.ac.id/v3/IJP/article/view/1252>

Sudigdoadi S. 2010., *Analisis Tipe Staphylococcal Cassette Chromosome mec (SCCmec) Isolat Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)*., Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran.

Trakulsomboon S, Danchai vijitr S, Rongrungruang Y, Dhiraputra C, Susaemgrat W, Ito T, 2001. *First report of methicillin resistant Staphylococcus aureus reduced susceptibility to vancomycin in Thailand.* J Clin Microbiol. 2001; 39:591-5.

Todar, K. (2002). *Staphylococcus Bacteriology at UW-Bacteriology 330* Home Page 1-7.

[WHO] World Health Organisation., 2010. *WHO guide to local production; WHO-recommended hand rub formulations.* WHO revise April 2010

[WHO] World Health Organisation., 2009. *WHO guidelines in hand hygiene in health care.* WHO/IER/PSP/2009.07, World

Health Organisation, Geneva , Switzerland. 2009

[WHO] World Health Organization (2020)., *Coronavirus disease 2019 (COVID-19) Situation Report – 43.*,

<https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports>

Zhang K, McClure J, Elsayed S, Louie T, Conly J. 2005. *Novel multiplex PCR assay for characterization and concomitant subtyping of staphylococcal cassette chromosome mec types I to Vin methicillin-resistant Staphylococcus aureus.* J Clin Microbiol. 2005;43:5026-33.