

**PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIMIKROBA ISOPROPANOL,
CHLOROXYLENOL, DAN TRICLOSAN TERHADAP
Staphylococcus aureus IN VITRO**

Meili Wati, Fanny Rahardja², Winsa Husin³

¹*Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha,*

²*Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha,*

³*Bagian Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha,
Jl. Prof. drg. Suria Sumantri MPH No.65 Bandung 40164 Indonesia*

ABSTRAK

Infeksi *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan berbagai macam penyakit baik secara langsung maupun tidak langsung seperti infeksi dan keracunan makanan. Menjaga tangan agar tetap bersih adalah salah satu cara untuk mencegah penyebaran bakteri *Staphylococcus aureus* dan penyakitnya. Berbagai macam produk cuci tangan dapat mengandung bahan aktif yang memiliki aktivitas antimikroba. Kandungan bahan aktif yang paling sering ditemukan adalah alkohol, *chloroxylenol*, dan *triclosan*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan aktivitas antimikroba isopropanol, *chloroxylenol* dan *triclosan*.

Penelitian bersifat *true experimental* dengan metode *disc diffusion*. Cakram yang masing-masing sebelumnya sudah dicelupkan ke dalam isopropanol, *chloroxylenol*, dan *triclosan* diletakkan pada *Müller Hinton Agar* (MHA) yang sudah diinokulasikan 100µL suspensi *Staphylococcus aureus*. MHA kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Analisis data menggunakan ANOVA dengan $\alpha=5\%$ dilanjutkan dengan uji *Multiple Comparison Fisher Least Significant Difference (LSD)*. Berdasarkan uji *Multiple Comparison LSD*, rerata diameter zona inhibisi pada *chloroxylenol* 4.8% (41,863 mm) dan *triclosan* 0.05% (40,717 mm) menunjukkan perbedaan yang sangat bermakna terhadap isopropanol 62% (20,216 mm) dengan $p=0,000$. Tetapi rerata diameter zona inhibisi *chloroxylenol* 4.8% dan *triclosan* 0.05% menunjukkan perbedaan tidak bermakna dengan $p=0,572$. Isopropanol, *chloroxylenol*, dan *triclosan* memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus* secara in vitro. Namun isopropanol memiliki potensi yang lebih rendah dibandingkan dengan *chloroxylenol* yang potensinya setara dengan *triclosan*.

Kata kunci: keracunan makanan, antiseptik, *Staphylococcus aureus*

**ANTIMICROBIAL ACTIVITY COMPARISON OF ISOPROPRANOL,
CHLOROXYLENOL, AND TRICLOSAN AGAINST
Staphylococcus aureus IN VITRO**

ABSTRACT

The infection of Staphylococcus aureus can cause many kind of diseases either directly by infection, or indirectly by food contamination. Keeping hands clean is one of the best way to prevent the spread of Staphylococcus aureus and its diseases. There are many kind of hand washing products which have active ingredients for antimicrobial activities. The most common active ingredients that can be found in hand washing products are alcohols, chloroxylenol, and triclosan. The purpose of this research was to compare the activity of isopropanol, chloroxylenol, and triclosan against Staphylococcus aureus in vitro. This research was true experimental research with disc diffusion method. Paper discs that already dipped into isopropanol, chloroxylenol, and triclosan were placed into Müeller Hinton Agar (MHA) inoculated by 100µL Staphylococcus aureus and incubated for 18-24 hours at 37°C. Data was analyzed using ANOVA test with $\alpha = 0.05$ then continued with Multiple Comparison Fisher Least Significant Difference (LSD). Based on Multiple Comparison LSD test, the average diameter of inhibition zone in chloroxylenol 4.8% (41,863mm) and triclosan 0.05% (40,717mm) are significantly different compared to isopropanol 62% (20,216mm) with $p=0.000$. But there are no differences between average diameter of inhibition zone in chloroxylenol and triclosan with $p=0.572$. Isopropanol, chloroxylenol, and triclosan were effective against Staphylococcus aureus in vitro. But isopropanol has lower potential than chloroxylenol which has the same potential as triclosan.

Keywords: food poisoning, antiseptic, Staphylococcus aureus

Latar Belakang

Tangan adalah anggota badan yang paling sering digerakkan dan mengadakan kontak baik dengan benda mati maupun dengan makhluk hidup sehingga sering terkontaminasi mikroorganisme. Tangan yang terkontaminasi ini dapat menjadi salah

alat untuk menyebarkan suatu penyakit bergantung pada mikroorganisme apa yang menempel pada tangan.

Salah satu mikroorganisme yang dapat ditemukan pada tangan adalah *Staphylococcus aureus*. Transmisi bakteri ini melalui kontak

langsung/*direct contact* dan dapat juga melalui *airbone*. Bakteri ini merupakan salah satu mikroorganisme tetap yang dapat bersifat patogen apabila jumlahnya mencapai 10^6 per gram dan banyak ditemukan pada daerah mulut, hidung, telinga serta tangan.¹

Staphylococcus aureus juga dapat tumbuh dan berkolonisasi pada makanan yang mengandung garam seperti *ham*, keju, susu, *sandwich*, *salad*, dan beberapa jenis *pastrie*.² Semakin banyak bakteri yang tumbuh, maka akan semakin banyak toksin yang dihasilkan. Apabila kita memakan makanan yang sudah mengandung toksin *Staphylococcus aureus*, kita dapat terkena *food poisoning*.

Penyakit ini dapat bersifat toksik atau infeksius dan biasanya diderita oleh bayi, anak, lansia dan mereka yang kekebalan tubuhnya rendah.³ Gejala seperti mual, muntah dan atau tanpa diare muncul setelah 2-8 jam. Walaupun bersifat *self-limiting* dan perlahan akan sembuh setelah 24-48 jam, penyakit ini dapat menjadi berbahaya apabila mengenai kalangan yang rentan seperti bayi, anak dan lansia.⁴

Di Amerika Serikat terdapat 76 juta kasus yang dilaporkan ; 325.000 dirawat di rumah sakit dan sebanyak 5.000 kematian setiap tahunnya. Di Indonesia sendiri \pm 9.000 kasus *foodborne illness* dilaporkan dan sebanyak 36,7% disebabkan oleh mikrobiologi.

Pencegahan yang dapat dilakukan agar tidak terkena keracunan makanan adalah dengan mencegah kontaminasi kuman ke dalam makanan. Dalam hal ini jari-jari tangan memiliki peran yang penting. Untuk itu, menjaga kebersihan tangan merupakan salah satu aspek yang perlu diperhatikan. Salah satu cara paling mudah dan sederhana adalah dengan mencuci tangan. Mencuci tangan yang baik idealnya dengan menggunakan sabun dan air mengalir.

Selain menggunakan sabun, dapat juga digunakan bahan antiseptik. Membersihkan tangan dengan menggunakan antiseptik sudah dimulai sejak awal abad ke-19. Penggunaan bahan antiseptik sendiri terbukti mampu mengurangi angka kejadian infeksi dan keracunan makanan akibat *Staphylococcus aureus*.⁵ Selain menurunkan angka kejadian infeksi,

bahan antiseptik juga lebih cepat, tidak mengiritasi dan lebih praktis. Kandungan bahan aktif dalam antiseptik dapat dibedakan menjadi dua yaitu berbasis alkohol dan non alkohol.

Bahan antiseptik yang sering digunakan adalah isopropanol, *chloroxylonol* dan *triclosan*.⁶ Isopropanol adalah salah satu contoh bahan antiseptik yang berbasis alkohol. Antiseptik berbasis alkohol memiliki aktivitas yang lebih baik dalam menurunkan jumlah mikroba yang ada pada tangan pekerja kesehatan dibandingkan dengan sabun biasa dan antiseptik berbasis non alkohol lainnya.⁷ Sedangkan *chloroxylonol* dan *triclosan* adalah antiseptik berbasis bukan alkohol.

Maka dari itu, tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbandingan aktivitas antimikroba bahan antiseptik yang sering ditemukan dalam *hand washing products* yaitu isopropanol, *chloroxylonol* dan *triclosan* terhadap *Staphylococcus aureus* secara in vitro.

Bahan dan Cara

Bahan uji yang digunakan adalah isopropanol 62%, *chloroxylonol* 4,8%,

triclosan 0,05% yang terdapat pada produk kebersihan tangan yang beredar di pasaran. Objek penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus*.

Sehari sebelumnya, *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Kristen Maranatha akan diidentifikasi ulang dengan *Manitol Salt Agar* (MSA) dan dengan pewarnaan gram. Bakteri kemudian ditanam pada *Müeller Hinton Agar* (MHA). Setelah ditanam, medium akan diinkubasikan selama 18-24 jam pada suhu 37⁰C.

Pada hari penelitian, dilakukan pembuatan suspensi mikroba uji menggunakan tabung standar 0,5 McFarland yang setara dengan 1,5 x 10⁸ CFU (*Colony Forming Unit*)/ml sebagai pembanding kekeruhan. *Staphylococcus aureus* yang digunakan berasal dari hasil penanaman mikroba uji pada agar *Manitol Salt Agar* dan sudah dipindahtanamkan pada *Tripticase Soy Agar* (TSA) selama 18-24 jam pada suhu 37⁰C.

Pengujian ini menggunakan cawan petri yang berisi media *Mueller Hirnton*

Agar (MHA). Sebanyak 100 μ L suspensi mikroba uji yang sudah dibuat sesuai standar 0,5 McFarland ditanamkan pada medium MHA secara *spread plate* dengan menggunakan bantuan *spreader*. Setelah itu, diletakkan cakram yang masing-masing sebelumnya sudah dicelupkan selama 5 detik kedalam isopropanol 62%, *chloroxylenol* 4,8%, dan *triclosan* 0,05% ke dalam masing-

masing cawan petri. Kemudian cawan petri diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37⁰C. Pengamatan dilakukan pada zona inhibisi yang terbentuk pada medium agar Mueller Hinton yang sudah diinokulasikan dengan bakteri dan sudah diberi cakram. Pengukuran zona inhibisi menggunakan jangka sorong. Data kemudian dianalisis dengan metode ANOVA.

Hasil dan Pembahasan

Tabel 4.1 menunjukkan baik isopropanol, *chloroxylenol*, dan *triclosan* sama-sama membentuk zona inhibisi pada *Mueller Hinton Agar*. Hal ini membuktikan bahwa ketiganya memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus*.

Tabel 4.2 menunjukkan hasil uji homogenitas ketiga kelompok perlakuan mempunyai nilai $p > 0,05$, yang artinya data homogen. Tabel 4.3 menunjukkan hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk* berdistribusi normal sehingga analisis data dapat dilanjutkan dengan ANOVA.

Tabel 4.4 menunjukkan perbedaan diameter zona inhibisi antar kelompok

dilihat melalui ANOVA. Hasil ANOVA menunjukkan nilai $F=74,172$ dan $p=0,000$. Artinya terdapat perbedaan rerata diameter zona inhibisi yang sangat bermakna ($p < 0,01$) pada minimal sepasang kelompok perlakuan. Untuk melihat kelompok yang berbeda diameter zona inhibisi, dilanjutkan dengan uji *multiple comparisons Fisher's LSD*.

Tabel 4.5 menunjukkan pada hasil uji *multiple comparisons Fisher's LSD* didapatkan kelompok II (41,863 mm) dan kelompok III (40,717 mm) memiliki perbedaan rerata diameter zona inhibisi yang sangat bermakna ($p < 0,01$) terhadap kelompok I (20,216 mm). Hal ini

menunjukkan bahwa secara statistik *cloroxilenol* dan *triclosan* memiliki aktivitas antimikroba yang lebih baik dibandingkan dengan isopropanol terhadap *Staphylococcus aureus*. Hal ini ditandai dengan diameter zona inhibisi yang dibentuk oleh *cloroxilenol* dan *triclosan* lebih besar. Sedangkan

kelompok III (40,717 mm) memiliki perbedaan rerata diameter zona inhibisi yang tidak bermakna ($p=0,572$) terhadap kelompok II (41,863 mm). Hal ini menunjukkan bahwa *cloroxilenol* dan *triclosan* memiliki potensi antimikroba yang sama.

Tabel 4.1 Diameter zona inhibisi isopropanol, *chloroxilenol*, dan *triclosan* terhadap *Staphylococcus aureus* dalam milimeter (mm)

Replikasi (r=9)	Diameter zona inhibisi (mm)		
	Kel. I	Kel. II	Kel. III
	Isopropanol	<i>Chloroxilenol</i>	<i>Triclosan</i>
1	19,41	46,40	39,50
2	21,88	36,66	42,96
3	15,51	42,54	38,35
4	21,68	39,30	50,99
5	18,05	43,12	41,19
6	21,01	46,90	41,30
7	20,56	37,55	35,16
8	20,49	36,14	43,87
9	23,38	48,18	33,17
Rerata	20,21	41,86	40,71

Tabel 4.2 Hasil uji homogenitas

<i>Levene statistic</i>	df1	df2	<i>sig.</i>
2,334	2	24	0,118

Tabel 4.3 Hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk*

	<i>Faktor</i>	<i>Shapiro-Wilk</i>		
		Statistik	<i>df</i>	<i>sig</i>
<i>Anava</i>	Isopropanol	.940	9	.580
	<i>Chloroxylonol</i>	.907	9	.298
	<i>Triclosan</i>	.960	9	.798

Tabel 4.4 Hasil *One way ANOVA* terhadap rerata diameter zona inhibisi

	Jumlah kuadrat penyimpangan	Derajat kebebasan	Rerata jumlah kuadrat	F	<i>sig.</i>
Antar kelompok	2670,558	2	1335,279	74,172	0,000
Dalam kelompok	432,060	24	18,002		
Total	3102,618	26			

Tabel 4.5 Hasil uji *multiple comparison Fisher's LSD* rerata diameter zona inhibisi

Kelompok perlakuan (n=9)	Diameter zona inhibisi (mm)		
	<i>Triclosan</i>	<i>Chloroxylonol</i>	Isopropanol
	40,717	41,863	20,216
<i>Triclosan</i> 40,717		TB	**
<i>Chloroxylonol</i> 41,863			**
Isopropanol 20,216			

Keterangan :

Kel. I : Isopropanol 62%

Kel. II : *Chloroxylonol* 4,8%

Kel. III : *Triclosan* 0,05%

* : bermakna ($p < .05$)

** : sangat bermakna ($p < .01$)

TB : tidak bermakna ($p > .05$)

Terbentuknya zona inhibisi pada masing-masing kelompok perlakuan dikarenakan aktivitas antimikrobanya. Isopropanol dapat menyebabkan kerusakan pada struktur membran bakteri dan menyebabkan denaturasi protein. Digunakan dengan kadar 62% karena kadar optimal yang dibutuhkan untuk mengeliminasi mikroorganisme adalah 60-80%. Semakin tinggi kadar alkohol, justru akan menurunkan aktivitas alkohol itu sendiri. Hal ini disebabkan karena protein tidak mudah didenaturasi dalam keadaan tidak ada air.⁶

Banyak penelitian yang membuktikan aktivitas antimikroba alkohol secara *in vivo*. Secara umum, kuman pada tangan yang terkontaminasi akan hilang sebanyak $3,5 \log_{10}$ setelah pemakaian alkohol dalam bentuk gel selama minimal 30 detik. *Alcohol based products* lebih efektif dibandingkan dengan produk cuci tangan biasa atau dengan sabun antimikroba lainnya. Namun aktivitas produk berbahan alkohol ini dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti bentuk sediaan, tipe alkohol, konsentrasi, waktu kontak dan

volume alkohol yang digunakan.⁸ *Chloroxylonol* 4,8% dapat menyebabkan kerusakan pada dinding sel bakteri dan menyebabkan inaktivasi dari kerja enzim pada bakteri.⁶ *Cloroxylonol* memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri gram positif maupun negatif. Menurut sejumlah studi, *cloroxylonol* memiliki aktivitas anti mikroba yang potensinya lebih rendah dibandingkan dengan iodin dan *chlorhexidine* dalam menurunkan jumlah flora pada kulit⁶ tetapi 0,6% *cloroxylonol* mempunyai potensi yang tidak berbeda jauh dengan *triclosan* 0,3% .⁸

Triclosan berefek antimikroba dengan cara berikatan dengan *enol-acyl-carrier* protein reduktase sehingga menghambat proses biosintesis asam lemak.⁹ *Triclosan* memiliki aktivitas antimikroba yang luas namun lebih sering bersifat bakteriostatik. *Triclosan* lebih berefek terhadap bakteri gram negatif maupun positif daripada terhadap bakteri batang gram negatif terutama *Pseudomonas aeruginosa*.

Beberapa penelitian menyebutkan, dengan mencuci tangan menggunakan *triclosan* (0,1%) selama 1 menit dapat

mengurangi jumlah bakteri yang ada ditangan sebanyak 2,8 log₁₀. Penurunan jumlah bakteri dengan menggunakan *triclosan* lebih rendah dibandingkan dengan menggunakan alkohol. Aktivitas *triclosan* sendiri dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti pH, adanya emolien, dan *surfactants*.⁵

Menurut banyak penelitian sebelumnya, didapatkan hasil bahwa isopropanol memiliki potensi yang lebih besar daripada *chloroxlenol* dan *triclosan*. Kualitas antiseptik ditentukan oleh bentuk antiseptik yang digunakan dimana iopropanol yang digunakan pada penelitian ini adalah alkohol murni sedangkan bahan yang lain dalam bentuk sabun. perbedaan dikarenakan adanya perbedaan bentuk sediaan yang digunakan. Alkohol dalam bentuk cair akan mudah menguap.¹⁰ Pada saat dilakukan penelitian secara *in vitro* alkohol dapat menguap sebelum berdifusi secara sempurna sehingga zona inhibisi yang terbentuk akan lebih kecil. Sedangkan alkohol dalam bentuk gel tidak akan mudah menguap seperti dalam bentuk cair sehingga waktu kontak yang terjadi lebih lama. Dalam

penelitian ini tidak digunakan alkohol dalam bentuk gel karena bentuk gel sulit untuk berdifusi ke dalam cakram dan media agar. Hal ini mungkin dapat mempengaruhi hasil penelitian.

Simpulan

Isopropanol, *chloroxlenol* dan *triclosan* memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. Potensi isopropanol tidak lebih besar dibandingkan dengan *chloroxlenol* dan *triclosan* terhadap *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Rachmawati , F. J., & Triyana, S. Y. (2008, August). Perbandingan Angka Kuman pada Cuci Tangan dengan Beberapa. *Logika*, 5, 26-31.
2. CDC. (2006, March 29). *Centers for Disease Control and Prevention*. Retrieved October 20, 2014, from Centers for Disease Control and Prevention: http://www.cdc.gov/ncidod/DBM/d/diseaseinfo/staphylococcus_fo od_g.htm
3. WHO. (2006). Global Patient Safety Challenge 2005–

2006: "Clean Care is Safer Care".
WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care, 12.

4. Bennet, S. D., Walsh, K. A., & Gould, H. L. (2013). Foodborne Disease Outbreaks Caused by *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, and *Staphylococcus aureus*. *Clinical Infectious Diseases*, 425.
5. Boyce, J. M., & Pittet, D. (2002). Guideline for hand hygiene in health-care settings. *Morbidity and mortality weekly report*, 51: 1-45.
6. M.Jackson, M., & Marsik, F. J. (2006). Control of Microorganism. In D. C. Lehman, C. R. Mahon, & G. Manuselis, *Textbook of Clinical Microbiology* (pp. 73-92). USA: Elsevier.
7. G.Stimson, P. (2005). Precautionary Measures. In R. B. Dorion, *Bitemark Evidence* (p. 538). New York: Marcell Dekker.
8. Boyce, J. M., & Pittet, D. (2002). Recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force.

Centers for Disease Control and Prevention, 51.

9. A.D Russell, M. (2000). Triclosan and antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 11-18.
10. Sumbali, G., & Mehrotra, R. S. (2009). *Principles of Microbiology*. New Delhi: Tata McGraw Hill Education Private Limited.