

Penelitian Pendahuluan : Aktivitas Antibakteri *Cold Argon Plasma Jet* terhadap *Multi Drug Resistance (MDR) Bacteria*

Muhammad Evy Prastiyanto¹, Gita Rossa Maulida², Nia Salsabila^{3,5}, Sri Darmawati^{4,5}, Nasruddin^{4,5,6*}

¹ Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan,

Universitas Muhammadiyah Semarang

² Program Studi D-III Analisis Kesehatan, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Semarang

³ Program Studi D-IV Analisis Kesehatan, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Semarang

⁴ Program Studi Pascasarjana Sains Laboratorium Medis, Universitas Muhammadiyah Semarang

⁵ Muhammadiyah Research Network for Plasma Medicine (M-Plasmed), Semarang

⁶ Pusat Penelitian Penyembuhan Luka Eksperimental, Universitas Muhammadiyah Magelang
email: nasruddin@unimus.ac.id

Abstrak

Keywords:

Aktivitas
Antibakteri; *Cold Argon Plasma*;
MRSA; CRPA; ESBL
E.coli

Multi drug resistance (MDR) bacteria telah menjadi masalah kesehatan global diseluruh dunia dikarenakan penggunaan antibiotik yang tidak rasional. Tujuan dari penelitian ini untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri cold argon plasma jet terhadap Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA), Carbapenem Resistant Pseudomonas aeruginosa (CRPA), dan Extended Spectrum Betalactamase (ESBL) Escherichia coli.

Proses uji antibakteri dilakukan dengan alat cold argon plasma jet pada jarak 1 cm dengan variasi waktu 1, 2, 3, 4, dan 5 menit. Aktivitas antibakteri cold argon plasma jet menunjukkan zona hambat tertinggi pada menit ke 5 CRPA 6,5 mm, ESBL E.coli 6,5 mm, MRSA 4 mm. Kesimpulan: cold argon plasma jet memiliki potensial sebagai agen antibakteri .

1. PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang paling sering diderita oleh penduduk di negara berkembang, termasuk Indonesia. Salah satu mikroba patogen penyebab infeksi yakni bakteri [1]. Hasil penelitian Rosalina [2] menunjukkan bahwa sebanyak 42,1% penyakit infeksi disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*. Selain itu menurut Leach [3], 35-40% bakteri penyebab infeksi adalah *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*.

Penanganan penyakit infeksi umumnya menggunakan antibiotik, namun penggunaan antibiotik yang tidak sesuai akan mengakibatkan resistensi [4].

Sehingga dibutuhkan agen antibakteri baru [5]. Agen antibakteri dapat diperoleh secara biologi dan fisika. Secara biologi diperoleh dari jamur [6], bakteri [7] dan tumbuhan [8]. Secara fisika diperoleh dengan penerapan *cold plasma* (plasma dingin) [9].

Cold plasma merupakan salah satu jenis plasma, fase zat ke empat setelah zat padat, cair dan gas Dalam fase plasma, selain tersusun dari gas netral, juga terdapat partikel-partikel aktif yang dikenal *active species of plasma* [10].

Aktivitas antibakteri *cold argon plasma jet* perlu diteliti lebih lanjut untuk menunjukkan aktivitas antibakterinya

dalam menghambat pertumbuhan bakteri yang menyebabkan infeksi.

2. METODE

Penelitian dilakukan 1 bulan pada bulan April 2019. Penelitian mengenai peremajaan bakteri MRSA, CRPA, dan ESBL *E.coli* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Semarang. Sedangkan uji antibakteri *cold argon plasma jet* dilakukan di laboratorium plasma medicine Universitas Muhammadiyah Semarang.

Alat yang digunakan untuk uji antibakteri adalah *Autoclave* HIRAYAMA HICLAV HV-25), Kapas lidi steril, *freezer* (Electrolux), inkubator WRB BINDER serta satu set *cold argon plasma jet* [11].

Bahan yang digunakan untuk kultur sel dan uji antibakteri adalah media kultur MHA (*Mueller Hinton Agar*) OXOID, media BAP (*Blood Agar Plate*) OXOID, MC (*Mac Conkey Agar*) standart *McFarland 0,5*, dan NaCl fisiologis.

Subjek uji dalam penelitian ini adalah bakteri MRSA, CRPA, dan ESBL *E.coli*. Antibiotik *Oxacillin*, *Vancomycin* *Meropenem*, *Amikasin*, *Ampicilin* sebagai kontrol antibiotik standar.

Peremajaan Bakteri

Bakteri yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Semarang.

1. Bakteri uji CRPA dikultur pada media MC, kemudian diinkubasi pada suhu $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam lalu diuji dengan antibiotik. *Carbapenem resistant Pseudomonas aeruginosa* (CRPA) yang telah resisten terhadap

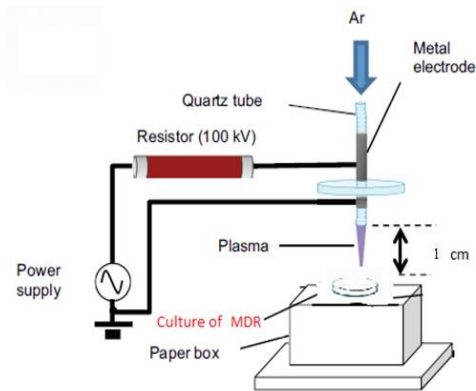
antibiotik *Meropenem* dan sensitif terhadap *Amikacin*

2. Bakteri uji ESBL *E.coli* dikultur pada media MC, kemudian diinkubasi pada suhu $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam lalu diuji dengan antibiotik. *Extended spectrum beta lactamases* (ESBL) *Escherichia coli* yang telah resisten terhadap antibiotik *Ampicilin* dan sensitif terhadap *Amikacin*.
3. Bakteri uji MRSA dikultur pada media BAP, kemudian diinkubasi pada suhu $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam lalu diuji dengan antibiotik. *Methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) yang telah resisten terhadap antibiotik *Oxacilin* dan sensitif terhadap *Vancomycin*.

Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri *cold argon plasma jet* dievaluasi menggunakan media *Muller Hinton Agar* (MHA). Pada uji ini, 100 µl kultur 24 jam organisme uji, setara dengan standar *Mc Farland 0,5* diinokulasi pada MHA dengan ketebalan 0,6 mm, kemudian disebar ke permukaan media menggunakan kapas lidi steril. Setelah 10 menit, dilakukan kontak *cold argon plasma* jarak 1 cm dengan waktu berbeda yakni 1, 2, 3, 4 dan 5 menit tanpa pengulangan, suhu 25°C pada kelembapan 72% .

Kemudian diinkubasi secara aerob pada suhu $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 16-20 jam. Aktivitas antibakteri *cold argon plasma jet* ditentukan dengan mengukur diameter zona hambat dan membandingkannya dengan hasil penghambatan menggunakan antibiotik standar. Zona hambat diukur pada sudut silang dan diambil sebagai rata-rata pengukuran independen.



Gambar 1. [11] Modikasi Gambar Digital rancangan penelitian Aktivitas Antibakteri *Cold Argon Plasma jet* terhadap MRSA, CRPA dan ESBL *E.coli*

Hasil

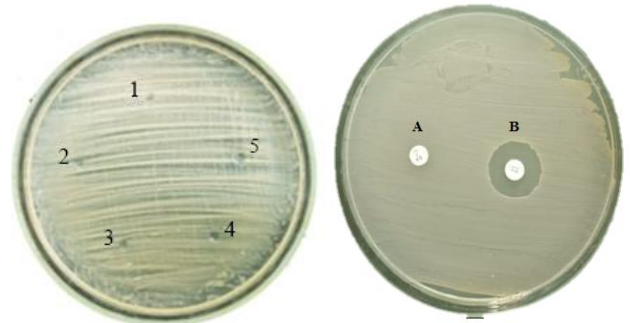
Hasil uji daya hambat dari *cold argon plasma jet* ditandai dengan terbentuknya daerah bening disekitar bekas lucutan. Berikut hasil uji daya hambat *cold argon plasma jet* terhadap tiga strain bakteri, disajikan pada gambar berikut ini:



Gambar 2

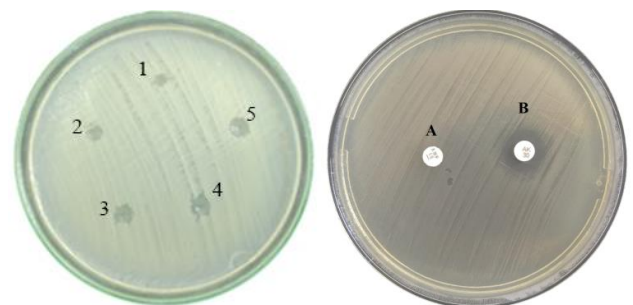
Hasil zona hambat *cold argon plasma jet* terhadap CRPA (1) : waktu kontak 1 menit, (2) : waktu kontak 2 menit, (3) waktu kontak 3 menit, (4) waktu kontak 4 menit, (5) waktu kontak 5 menit dan Kontrol (A): Kontrol - :

Meropenem, (B) Kontrol + : *Amikacin*



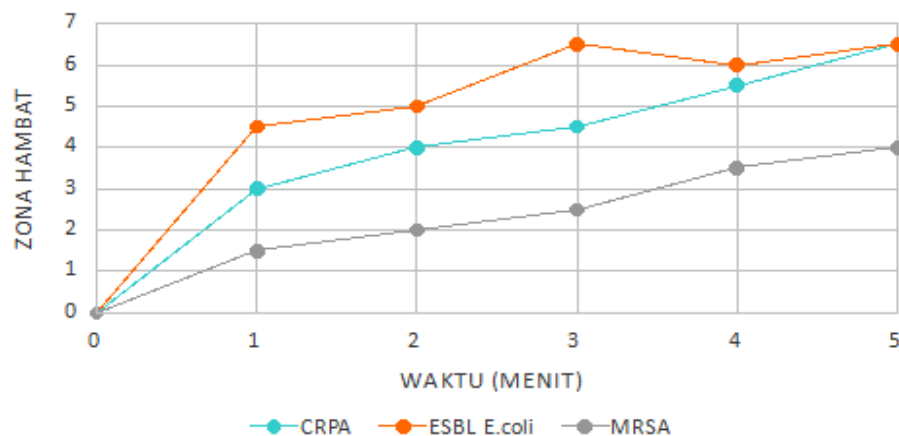
Gambar 3.

Hasil zona hambat Cold Argon Plasma Jet terhadap MRSA (1) : waktu kontak 1 menit, (2) : waktu kontak 2 menit, (3) waktu kontak 3 menit, (4) waktu kontak 4 menit, (5) waktu kontak 5 menit dan control : (A) Kontrol - : *Oxacilin*, (B) Kontrol + : *Vancomycin*



Gambar 4.

Hasil zona hambat *Cold Argon Plasma Jet* terhadap ESBL *E. coli* (1): waktu kontak 1 menit, (2) : waktu kontak 2 menit, (3) waktu kontak 3 menit, (4) waktu kontak 4 menit, (5) waktu kontak 5 menit dan Kontrol : (A) Kontrol - : *Ampicilin*, (B) Kontrol + : *Amikacin*



Grafik 1. Hasil pengukuran diameter zona hambat *Cold Argon Plasma Jet* Berdasarkan Variasi Waktu Paparan

Gambar 2, 3, 4 dan Grafik 1 menunjukkan bahwa *cold argon plasma jet* mampu menghambat pertumbuhan CRPA dengan diameter zona hambat terbesar pada menit ke 5 yakni 6,5 mm, ESBL *E.coli* dengan diameter zona hambat terbesar pada menit ke 5 yakni 6,5 mm dan menghambat pertumbuhan MRSA dengan diameter zona hambat terbesar 4 mm.

Pembahasan

Hasil uji daya hambat pada *cold argon plasma jet* ditandai dengan terbentuknya diameter zona hambat di sekitar bekas tembakan plasma. Pada Grafik 1 diperoleh hasil dari berbagai variasi waktu yang diuji, *cold argon plasma jet* mampu menghambat pertumbuhan CRPA, ESBL *E.coli* dan MRSA. Zona hambat diukur pada sudut silang dan diambil sebagai rata-rata pengukuran independen. Menurut Davis & Stout [12] kekuatan daya antibakteri dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu menghambat lemah (<5 mm), sedang (5-10 mm), kuat (10-20 mm) dan sangat kuat (>20 mm).

Dalam fase plasma, selain tersusun dari gas netral, juga terdapat partikel-partikel aktif yang dikenal spesies aktif plasma. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa spesies aktif ini mampu mempengaruhi kerja sel dan jaringan hidup [13]. Keberadaan partikel-partikel

tersebut menyebabkan plasma memiliki karakteristik yang berbeda jika dibandingkan dengan fase zat klasik (padat, cair dan gas). Gas terionisasi dalam fase plasma terdapat bagian yang stabil, yaitu berupa gas, dan terdapat pula bagian yang bersifat dinamis, yaitu ion dan radikal bebas. Bagian dinamis dalam plasma ini biasa dikenal dengan istilah *active species of plasma* [10].

Cold argon plasma jet berpotensi sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan CRPA, MRSA dan ESBL *E.coli* karena *cold argon plasma jet* memiliki kandungan terdiri dari campuran reaktif (*RONS*), spesies nitrogen reaktif (*RNS*) dan foton UV, semuanya dapat berkontribusi terhadap sifat antibakteri [14].

Aktivitas antibakteri terjadi melalui tiga mekanisme yang berbeda: (i) pemeabilisation langsung membran sel atau dinding yang menyebabkan kebocoran komponen seluler, termasuk potasium, asam nukleat, dan protein; (ii) kerusakan kritis protein intraseluler dari spesies oksidatif atau nitrosatif; dan (iii) kerusakan DNA kimia langsung. Sel-sel bakteri sebelum terjadi inaktivasi akan melalui serangkaian sekuensial perubahan fisiologi dan morfologi.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa setelah paparan *cold plasma* yang singkat, sel-sel memasuki keadaan yang

masih aktif tetapi sudah tidak dapat dikultur. Keadaan ini memiliki ciri-ciri sel yang memiliki membran utuh, aktivasi pernapasan, transkripsi gen dan sintesis protein, tetapi sudah tidak mampu membentuk koloni pada media agar [14].

Berdasarkan hasil penelitian, diketahui bahwa *cold argon plasma jet* mempunyai potensi sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri resisten.

4. KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah *cold argon plasma jet* memiliki potensi sebagai agen antibakteri terhadap MRSA, CRPA dan ESBL *E.coli* dengan uji daya hambat *cold argon plasma jet* terhadap CRPA menghasilkan diameter zona hambat sebesar 6,5 mm, ESBL *E.coli* menghasilkan diameter zona sebesar 6,5 mm, MRSA menghasilkan diameter zona sebesar 4 mm.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia yang telah membiayai penelitian ini melalui Program Penelitian Kompetitif Nasional Skema Penelitian Terapan, dengan judul Hilirisasi prototip teknologi plasma medis untuk terapi luka diabetes (nomor kontrak : 04/L6/AK/SP2H1/PENELITIAN/2019).

REFERENSI

- [1] Radji, Maksun & Manurung, Juli., 2011, *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mah-asiswa Farmasi Kedokteran*, 98, 99, 107, 153, Buku Kedokteran EGC, Jakarta
- [2] Rosalina D, Martodihardjo S, Listiawa -n MW, 2010. *Staphylococcus aureus* as the Most Common Cause of Secondary Infection in All Skin Lesions of Vesicobullous Dermatitis. *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit & Kelamin* Vol. 22 No. 2 Agustus 2010.
- [3] Leach R.M, 2014, Bacteremia, SIRS, and Sepsis, *Critical Care Medicine at a Glance*, Ed. 18, John Wiley & Sons Ltd., pp. 489.
- [4] El Sayed, K. A, et al. 2001 New Manzamine Alkaloids with Potent Againts Infect-ious Diseases. *J. Am. Chem. Soc*
- [5] Valle Jr. DL, Andrade JI, Puzon JJM Cabrera EC, Rivera WL. Antibacterial activ-ities of ethanol extracts of Philippine medicinal plants against multidrug-resistant bacteria. *Asian Pac J Trop Biomed* 2015; 5(7): 532-540
- [6] Prastiyanto ME, Darmawati S, Iswara A, Setyaningtyas A, Trisnawati.L, and Sya-fira A. 2016 Antimicrobial Activity and Identification The Compounds of Methanol Extract from The Pleurotus osterotus Fruiting Body. *El Hayah Journal Biologi*. 6(1): 29-34.
- [7] Purwestri YA, Kartikasari N, Putri SG, Wilson W, and Sembiring L. 2016 Metabo-Profiling of Endophytic Bacteria from Purwoceng (Pimpinella pruatjan Molkend) Root and Antibacterial Activity against *Stapylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*.; Toward the sustainable use of biodiversity in a changing environment: From basic to applied research. Doi: 10.1063/1.4953537
- [8] Nair, R. & Chanda, S.V. 2007. Antibacterial activities of some medicinal plants of Western Region of India. *Turkey J. Biol.* 31: 231-236
- [9] Darmawati S, Rohmani A, Nurani LH, et al., 2019, When plasma jet is effective for chronic wound bacteria inactivation, is it also effective for wound healing? *Clinical Plasma Medicine* 14, 100085.
- [10] Fridman, A., 2008, *Plasma Chemistry*. Cambridge, New York, Melbourne, Madri-d, Cape Town, Singapore, Sao Pãulo: Cambridge University Press

- [11] Nasruddin, Y. Nakajima, K. Mukai, E. Komatsu, et al. 2015. A simple technique to improve contractile effect of cold plasma jet on acute mouse wound by dropping water, *Plasma Process. Polym*; 12, pp. 1128-1138
- [12] Davis WW & Stout TR. 2009. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *Applied and Environmental Microbiology*. vol. 22 (4): 666-670.
- [13] Laroussi, M, 2009, *Low-Temperature Plasmas for Medicine ?*, *IEEE Transactions on Plasma Science*, Vol. 37, No. 6, pp 714-725
- [14] Nasruddin, Y. Nakajima, K. Mukai, et al, 2014. Cold plasma on full-thickness cutaneous wound accelerates healing through promoting inflammation, reepithelialization and wound contraction, *Clinical Plasma Medicine*. 2014; 2, 28-3

