

PENGARUH ASAP CAIR BERBAGAI KONSENTRASI TERHADAP VIABILITAS *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Reynata Adhiasiari¹, Oedijani Santoso², V. Rizke Ciptaningtyas³

¹Mahasiswa Program Pendidikan S-1 Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

²Staf Pengajar Ilmu Penyakit Gigi dan Mulut, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

³Staf Pengajar Ilmu Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

Jl. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang-Semarang 50275, Telp. (024)76928010

ABSTRAK

Latar Belakang : Plak gigi terbentuk melalui tiga tahap, yaitu proses pembentukan *pellicle*, kolonisasi primer, serta kolonisasi sekunder dan maturasi. Apabila dibiarkan, plak gigi dapat menyebabkan gingivitis dan periodontitis. Salah satu bakteri yang dapat melakukan kolonisasi pada *pellicle* gigi adalah *Staphylococcus aureus*. Disamping itu, *Staphylococcus aureus* juga dapat memperberat kejadian periodontitis dengan masuk ke dalam periodontal *pocket* yang terbentuk karena adanya kedalaman sulkus gingiva yang tidak normal. Peneliti menggunakan asap cair berbagai konsentrasi untuk mengetahui Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Kandungan fenol, asam asetat, dan karbonil diharapkan mampu menghambat maupun membunuh bakteri ini. **Tujuan :** Mengetahui pengaruh pemberian asap cair berbagai konsentrasi terhadap viabilitas *Staphylococcus aureus*. **Metode :** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan *post test only control group design*. Sampel yang digunakan adalah bakteri *Staphylococcus aureus* yang diberi perlakuan menggunakan lima macam konsentrasi asap cair (100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25%) dan dilakukan pengulangan sebanyak lima kali untuk masing-masing konsentrasi. Analisis data yang dilakukan adalah *Kruskal Wallis* dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*. **Hasil :** Uji *Kruskal Wallis* pada analisis data KHM menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($p=0,000$), begitu pula pada analisis data KBM ($p=0,000$). Selanjutnya dilakukan uji *Mann Whitney* yang menyatakan bahwa terdapat signifikansi pada kelompok P3 (25%) untuk uji KHM dan pada kelompok P2 (50%) untuk uji KBM. **Kesimpulan :** Nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) asap cair terhadap *Staphylococcus aureus* adalah 25%, sementara nilai Kadar Bunuh Minimum (KBM) asap cair terhadap bakteri ini adalah 50%.

Kata Kunci : Asap cair, *Staphylococcus aureus*, Plak, KHM, KBM

ABSTRACT

Background : Dental plaque is formed through three steps: pellicle formation, primary colonization, secondary colonization and maturation. If left untreated, dental plaque will cause gingivitis which can develop into periodontitis. *Staphylococcus aureus* is one of many bacteria that can colonize dental plaque. Moreover, *Staphylococcus aureus* can aggravate the incidence of periodontitis by penetrating the periodontal pocket formed due to the abnormal depth of the gingival sulcus. The purpose of this study is to understand the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of liquid smoke against *Staphylococcus aureus*. The presence of phenol, acetic acid, and carbonyl is expected to inhibit or to kill this bacteria. **Aim :** To understand the effect of liquid smoke in various concentrations on the viability of *Staphylococcus aureus*. **Methods :** This study was an experimental laboratory research with *post test only control group design*. The sample used

in this study was *Staphylococcus aureus* treated with five concentration of liquid smoke (100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%) and repeated five times for each concentration. Statistical test used in this study was Kruskal Wallis followed by Mann Whitney. **Result** : Kruskal Wallis test on MIC data analysis shows that there was a significant difference ($p=0,000$), as well as MBC data analysis ($p=0,000$). Next, Mann Whitney test was performed on this study and shows that there was significant difference on P3 (25%) for MIC and P2 (50%) for MBC. **Conclusion** : MIC and MBC of liquid smoke against *Staphylococcus aureus* in this study are 25% and 50% respectively.

Keywords : Liquid smoke, *Staphylococcus aureus*, Plaque, MIC, MBC

PENDAHULUAN

Rongga mulut merupakan salah satu jalur utama masuknya mikroorganisme yang dapat menyebabkan berbagai macam penyakit, baik di dalam rongga mulut itu sendiri maupun penyakit sistemik. Menurut Riset Kesehatan Daerah (RISKESDAS) tahun 2013, prevalensi penduduk Indonesia yang memiliki masalah kesehatan gigi dan mulut adalah sebesar 25,9%, dan dari jumlah tersebut, hanya 31,1% yang menerima perawatan medis gigi.^{1,2}

Lebih dari 300 spesies bakteri dapat ditemukan di dalam rongga mulut dan berperan sebagai flora normal, salah satu diantaranya adalah *Staphylococcus aureus*. Berdasarkan penelitian sebelumnya, dilaporkan bahwa *Staphylococcus aureus* dapat diisolasi dari 64% rongga mulut anak-anak sehat dan dari 24% rongga mulut orang dewasa sehat.³⁻⁵ Pada individu dengan keadaan *immunocompromised* bakteri ini ditemukan dengan jumlah yang

lebih tinggi di rongga mulut, bersama *Candida albicans* atau *Streptococcus pyogenes* berkaitan dengan berbagai macam penyakit di rongga mulut, seperti infeksi akut *dento-alveolar*, *angular cheilitis*, kista rahang (*jaw cysts*), mukositis oral, dan stomatitis.⁶

Antibiotik golongan penicillin seperti nafcillin, oxacillin, dan sebagainya memang dapat digunakan untuk mengobati infeksi *Staphylococcus aureus*, namun penggunaannya yang sudah semakin banyak dan bebas meningkatkan resistensi bakteri tersebut terhadap berbagai macam antibiotik.^{7,8} Selain itu banyaknya kejadian alergi akibat penggunaan antibiotik seperti reaksi anafilaksis maupun reaksi alergi lainnya pada sebagian orang juga harus menjadi pertimbangan sebelum memberikan terapi terhadap infeksi *Staphylococcus aureus*.⁹

Salah satu alternatif zat antibakteri yang dapat dikembangkan dengan

menggunakan hasil kekayaan alam di Indonesia adalah asap cair. Asap cair merupakan hasil kondensasi asap yang didapat melalui pembakaran tidak sempurna dari tempurung kelapa. Melalui tahap pirolisis, kondensasi, dan redestilasi, asap cair yang dihasilkan dapat digunakan sebagai antibakteri karena memiliki komponen utama asam asetat, derivat fenol, dan karbonil. Sebagai antibakteri, fenol dan turunannya memiliki mekanisme kerja meracuni protoplasma, merusak dan menembus dinding, serta menyebabkan denaturasi protein sel bakteri.¹⁰

Berdasarkan latar belakang di atas, penulis ingin melakukan penelitian untuk membuktikan pengaruh pemberian asap cair terhadap viabilitas *Staphylococcus aureus* sebagai penyebab berbagai infeksi rongga mulut dengan harapan bahwa asap cair akan dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan untuk mengurangi kejadian infeksi rongga mulut.

METODE PENELITIAN

Desain dan Sampel Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan *post test only control group design*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Sentral bagian Mikrobiologi Rumah Sakit Nasional Diponegoro (RSND), Universitas

Diponegoro, Semarang pada bulan April-Mei 2018.

Sampel penelitian ini meliputi koloni *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang serta memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi penelitian ini adalah koloni *Staphylococcus aureus* yang tumbuh pada media *Brain Heart Infusion Broth* (BHI-B) dan *Blood Agar Plate* (BAP) setelah diapaparkan dengan perlakuan dan diinkubasi pada lingkungan aerob dengan suhu 37°C selama 24 jam. Kriteria eksklusi penelitian ini adalah koloni *Staphylococcus aureus* yang tumbuh pada media *Brain Heart Infusion Broth* (BHI-B) dan *Blood Agar Plate* (BAP) dengan disertai pertumbuhan jamur atau kontaminan lain. Hasil kultur bakteri tersebut kemudian dibuat larutan suspensi yang selanjutnya ditanamkan pada masing-masing sediaan larutan asap cair dengan metode dilusi dalam media *Brain Heart Infusion Broth* (BHI-B) untuk menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM). Pada penelitian ini terdapat 5 kelompok perlakuan, yang terdiri dari 5 konsentrasi, yakni 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3 kelompok kontrol, yang terdiri dari kontrol sampel, kontrol +, kontrol -. Masing-masing kelompok perlakuan dan

kelompok kontrol dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali. Setelah itu, dilakukan uji Kadar Bunuh Minimum (KBM) dengan menggoreskan larutan pada sediaan uji KHM masing-masing sebanyak 2 µl ke media *Blood Agar Plate* (BAP).

Analisis Data

Data yang diperoleh akan diperiksa kelengkapan dan kebenaran datanya.

Selanjutnya data diolah menggunakan program komputer dan dianalisis dengan uji *Kruskal Wallis* yang dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*. Hasil uji dikatakan bermakna apabila $p < 0,05$.

HASIL PENELITIAN

Analisis Deskriptif

Tabel 1. Kadar Hambat Minimum Larutan Asap Cair Terhadap *Staphylococcus aureus*

PERCOBAAN	P5 (6,25%)	P4 (12,5%)	P3 (25%)	P2 (50%)	P1 (100%)
I	Keruh	Keruh	Jernih	Jernih	Jernih
II	Keruh	Keruh	Jernih	Jernih	Jernih
III	Keruh	Keruh	Jernih	Jernih	Jernih
IV	Keruh	Keruh	Jernih	Jernih	Jernih
V	Keruh	Keruh	Jernih	Jernih	Jernih

Tabel 2. Kadar Bunuh Minimum Larutan Asap Cair terhadap *Staphylococcus aureus*

PERCOBAAN	P5 (6,25%)	P4 (12,5%)	P3 (25%)	P2 (50%)	P1 (100%)
I	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh	Tidak Tumbuh	Tidak Tumbuh
II	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh	Tidak Tumbuh
III	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh	Tidak Tumbuh	Tidak Tumbuh
IV	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh	Tidak Tumbuh	Tidak Tumbuh
V	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh	Tidak Tumbuh	Tidak Tumbuh

Analisis Inferensial

Dari uji *Kruskal-Wallis* didapatkan nilai $p < 0.05$ yang berarti terdapat perbedaan bermakna atau signifikan baik pada Kadar Hambat Minimum maupun

Kadar Bunuh Minimum. Uji *Kruskal-Wallis* yang bermakna atau signifikan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan antar dua kelompok.

Tabel 3. Rekapitulasi Hasil Uji *Mann-Whitney* pada analisis KHM

Kelompok	P1	P2	P3	P4	P5	KS	K+	K-
P1	–	1,000	1,000	0,003*	0,003*	1,000	0,003*	1,000
P2		–	1,000	0,003*	0,003*	1,000	0,003*	1,000
P3			–	0,003*	0,003*	1,000	0,003*	1,000
P4				–	1,000	0,003*	1,000	0,003*
P5					–	0,003*	1,000	0,003*
KS						–	0,003*	1,000
K+							–	0,003*
K-								–

Keterangan : * Signifikan $p < 0,05$

Tabel 4. Rekapitulasi Hasil Uji *Mann-Whitney* pada analisis KBM

Kelompok	P1	P2	P3	P4	P5	KS	K+	K-
P1	–	0,317	0,003*	0,003*	0,003*	1,000	0,003*	1,000
P2		–	0,014*	0,014*	0,014*	0,317	0,014*	0,317
P3			–	1,000	1,000	0,003*	1,000	0,003*
P4				–	1,000	0,003*	1,000	0,003*
P5					–	0,003*	1,000	0,003*
KS						–	0,003*	1,000
K+							–	0,003*
K-								–

Keterangan : * Signifikan $p < 0,05$

Hasil analisis dengan menggunakan uji *Kruskal Wallis* pada data KHM dan KBM menunjukkan hasil $p < 0,000$ yang artinya terdapat perbedaan bermakna setidaknya pada dua kelompok konsentrasi

asap cair yang digunakan. Selanjutnya dilakukan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan antar masing-masing kelompok perlakuan. Hasil uji *Mann Whitney* pada data KHM

menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok P1 (100%) sampai dengan P3 (25%) yang berarti KHM dari penelitian ini adalah 25%. Analisis data juga tidak menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara kelompok P1 (100%) sampai dengan P2 (50%) pada data KBM sehingga dapat disimpulkan bahwa KBM penelitian ini adalah 50%.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) asap cair terhadap *Staphylococcus aureus* adalah 25% dan 50% secara berturut-turut. Hal ini disebabkan karena asap cair mengandung senyawa fenol, asam asetat, dan karbonil yang berfungsi sebagai antibakteri.¹⁰

Fenol dapat meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri sehingga senyawa tersebut akan terabsorpsi ke dalam sel bakteri dan menyebabkan presipitasi serta denaturasi protein sel bakteri. Protein sel bakteri yang telah terdenaturasi akan menyebabkan semua aktivitas metabolisme sel bakteri terhenti.¹¹ Selain itu, adanya perbedaan KHM dan KBM dari hasil penelitian sebelumnya dengan penelitian ini mungkin

disebabkan karena adanya perbedaan kadar fenol yang terkandung dalam asap cair yang digunakan.

Asam asetat yang terkandung dalam asap cair digolongkan sebagai asam lemah dan mampu menembus membran sel bakteri lebih baik daripada asam kuat sehingga dapat mempengaruhi gradien proton yang penting untuk sintesis ATP. Selanjutnya, pH sel bakteri yang cenderung lebih tinggi daripada asam asetat membuat sitoplasma bakteri menjadi lebih asam, sehingga akan terjadi kerusakan membran dan DNA bakteri. Selain itu, asam asetat juga mampu mencegah pembentukan *biofilm* dan menghilangkan *biofilm* yang sudah terbentuk dengan cara mengurangi kolonisasi bakteri.^{10,12}

Senyawa karbonil menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara penetrasi melalui membran sel bakteri dan menginaktivasi enzim yang terdapat pada sitoplasma bakteri. Hal ini akan mempengaruhi keseluruhan pH dan membentuk suatu asam yang tidak terdisosiasi sehingga mengakibatkan metabolisme terganggu.¹⁰

Bakteri yang digunakan juga mempengaruhi hasil penelitian. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif fakultatif anaerob yang

memiliki protein permukaan seperti fibronektin dan laminin yang membantu perlekatannya dengan sel inang. Bakteri ini juga memiliki protein ekstraseluler yang dapat membantu terjadinya invasi pada sel inang sehingga menimbulkan infeksi pada rongga mulut.¹³

Staphylococcus aureus juga memiliki dinding sel yang disusun oleh rantai tetrapeptida yang terdiri dari L-alanil-D-isoglutaminil-L-lisil-D-alanin dan jembatan interpeptida yang terdiri dari lima unit glisin. Rantai tetrapeptida ini dihubungkan dengan jembatan interpeptida dengan ikatan kovalen sehingga menghasilkan struktur yang kuat dan tahan terhadap kerusakan.¹⁴ Selain itu, pertahanan mekanik dan kimiawi bakteri Gram positif juga diperkuat dengan adanya lapisan peptidoglikan yang lebih tebal (20-80nm), sedangkan bakteri gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan tipis (2-7nm).¹⁵

Dengan adanya penelitian ini dapat diketahui bahwa asap cair memiliki kandungan senyawa yang berfungsi sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. KHM dan KBM asap cair terhadap *Staphylococcus aureus* adalah 25% dan 50% secara berurutan.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa asap cair pada konsentrasi 25% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan dapat membunuh bakteri tersebut pada konsentrasi 50%.

Saran

Perlu dilakukan penelitian mengenai hubungan kadar fenol terhadap viabilitas *Staphylococcus aureus*. Peneliti juga berharap dilakukan penelitian lebih lanjut secara *in vivo* dengan menggunakan asap cair sebagai bahan *mouthwash* atau obat kumur. Selain itu, penting juga dilakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan asap cair sebagai alternatif zat antibakteri untuk meningkatkan keberhasilan terapi infeksi rongga mulut, seperti mukositis oral, gingivitis, periodontitis dan lain sebagainya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kementerian Kesehatan RI. Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI Situasi Kesehatan Gigi dan Mulut. Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.2014;1-6.
2. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Riset Kesehatan Dasar

- (RISKESDAS) 2013. Lap Nas 2013. 2013;1–384.
3. Wang YA, Yu X, Silverman PM, Harris RL, Edward H. Oral Microbiology: Past, Present and Future. 2010;385(1):22–9.
 4. Smith AJ, Jackson MS, Bagg J. The ecology of Staphylococcus species in the oral cavity. *J Med Microbiol.* 2001;50(11):940–6.
 5. Jackson MS, Bagg J, Kennedy H, Michie J. Staphylococci in the oral flora of healthy children and those receiving treatment for malignant disease. *Microb Ecol Health Dis.* 2000;12(1):60–4.
 6. Batabyal B. Oral Carriage & Suffering of Staphylococcus aureus: Oral Infection & Staph. aureus. Educreation Publishing; 2017. 95p.
 7. Karchmer AW. Definitive Treatment for Methicillin-Susceptible Staphylococcus aureus Bacteremia: Data Versus a Definitive Answer. 2017;65:107–9.
 8. Bueris V, Pimenta FC, Ito IY, Marin JM. Oral Incidence of Staphylococcus aureus and Antimicrobials Agents Resistance. 2005;4(12):676–9.
 9. Bhattacharya S. The Facts About Penicillin Allergy: A Review. *J Adv Pharm Technol.* 2010;1(1):11–7.
 10. Milly PJ. Antimicrobial Properties of Liquid Smoke Fractions. Univ Georg. 2003.
 11. Yuliati Y. Uji Efektivitas Ekstrak Kunyit sebagai Antibakteri dalam Pertumbuhan Bacillus sp dan Shigella dysenteriae secara In vitro. *J Profesi Med.* 2016;10(1):26–32.
 12. Halstead FD, Rauf M, Moiemmen NS, Bamford A, Wearn CM, Fraise AP, et al. The antibacterial activity of acetic acid against biofilm-producing pathogens of relevance to burns patients. *PLoS One.* 2015;10(9):1–15.
 13. Al-Mebairik NF, El-Kersh TA, Al-Sheikh YA, Marie MAM. A review of virulence factors, pathogenesis, and antibiotic resistance in Staphylococcus aureus. *Rev Med Microbiol.* 2016;27(2):50–6.
 14. Zuraita I. Aktivitas Antibakteri Asap Cair dan Daya Awetnya Terhadap Bakso Ikan (Antibacterial Activity of Liquid Smoke and Its Applications. *J Ilmu Pertan Indones.* 2009;14(1):41–9.
 15. Wada A, Kono M, Kawauchi S, Takagi Y, Morikawa T, Funakoshi K. Rapid Discrimination of Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria in Liquid Samples by Using NaOH- Sodium Dodecyl Sulfate Solution and Flow Cytometry. *PLoS One.* 2012;7(10).