

Aktivitas Nanokomposit ZnO-Ag dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

Yulianto Ade Prasetya¹⁾, Khoirun Nisyak¹⁾, A'yunil Hisbiyah¹⁾, dan Elvina Dhiaul Iftitah²⁾

¹⁾Program Studi Diploma III Teknologi Laboratorium Medik, STIKES Rumah Sakit Anwar Medika Sidoarjo

²⁾Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya Malang

¹⁾yuliantoadeprasetya@gmail.com

Abstrak: *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif, berbentuk kokus, mempunyai enzim katalase dan termasuk patogen oportunistik pada kebanyakan hewan termasuk manusia. Bakteri ini semakin meningkat kejadian infeksi di berbagai belahan dunia karena kemampuannya menghasilkan enzim yang dikode oleh gen *mecA* yang dikenal dan dengan sebutan *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Bakteri ini bertanggungjawab terhadap kejadian infeksi nosokomial, peningkatan angka kesakitan, kematian, dan biaya kesehatan di seluruh dunia. Tujuan penelitian ini yakni untuk mengetahui aktivitas nanokomposit ZnO-Ag dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Nanokomposit ZnO-Ag dibuat dengan metode *green synthesis* gelombang mikro secara *one pot synthesis* menggunakan minyak cengkeh sebagai reduktor. Nanokomposit ZnO-Ag yang terbentuk kemudian dianalisa menggunakan *Scanning Electron Microscopy- Energy Dispersive X-Ray* (SEM-EDX). Aktivitas nanokomposit dilakukan dengan metode dilusi (pengenceran) yang kemudian ditumbuhkan dengan teknik *total plate count* (TPC). Hasil menunjukkan bahwa pada konsentrasi 70 µg/ml mampu menghambat pertumbuhan bakteri MRSA secara efektif. Nanokomposit ZnO-Ag dapat dikembangkan lebih lanjut bukan hanya sebagai antibakteri tetapi dapat juga sebagai kandidat agen antibiofilm yang dihasilkan oleh bakteri nosokomial. Hal ini dikarenakan luas permukaan nano yang tinggi dan reaktivitas yang spesifik sehingga sesuai untuk bahan obat dengan dosis tertentu.

Kata kunci: Nanokomposit, ZnO, Ag, *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

PENDAHULUAN

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif, berbentuk kokus, mempunyai enzim katalase dan termasuk patogen oportunistik pada kebanyakan hewan termasuk manusia (Faden, 2018). Bakteri ini semakin meningkat kejadian infeksi di berbagai belahan dunia karena kemampuannya menghasilkan enzim yang dikode oleh gen *mecA* yang dikenal dan dengan sebutan *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Bakteri yang resisten terhadap antibiotik bertanggungjawab terhadap kejadian infeksi nosokomial, peningkatan angka kesakitan, kematian, dan biaya kesehatan (Prasetya, 2017). Gen pada bakteri MRSA seberat 76kDa yang mampu mengkespresikan enzim *penicillin binding protein* (PBP2a) sehingga mampu menghidrolisis pada kebanyakan antibiotik golongan beta laktam (Bhakyashree & Khanabirran, 2018). Bakteri ini dilaporkan telah menyebabkan infeksi hampir 11 juta penduduk, dimana infeksi yang didapatkan berupa infeksi kulit dan jaringan lunak, bakterimia, pneumonia, osteomyelitis, endokarditis, meningitis, dan sepsis. Di Amerika tercatat hampir 19.000 pasien meninggal dunia dikarenakan infeksi MRSA, dan angka ini dapat semakin meningkat dengan adanya infeksi lain berupa HIV/AIDS, influenza, dan hepatitis. Timbulnya berbagai penyakit yang disebabkan MRSA telah mendorong untuk terus dilakukannya eksplorasi bahan aktif yang dapat dikembangkan menjadi bahan antibakteri, salah satunya adalah material logam berbentuk nanopartikel (1-100 nm). Iravani *et al.* (2014) menyatakan bahwa

material nanopartikel memiliki luar permukaan yang tinggi dan reaktivitasnya spesifik sehingga sesuai untuk bahan obat dalam berbagai dosis serta meningkatkan regulasi sistem penghantaran obat dalam tubuh. ZnO terbukti memiliki aktivitas antimikroba yang secara aktif melawan bakteri Gram positif, Gram negatif, jamur patogen, dan memiliki aktivitas melawan resistensi bakteri (Azam *et al.*, 2011) sedangkan Ag memiliki kemampuan merusak dinding sel bakteri, mengganggu metabolisme sel, dan menghambat sintesis sel bakteri. Ag dalam bentuk nanopartikel memiliki luas permukaan yang tinggi dan daya aktivitas antibakteri yang lebih kuat (Fatimah, 2016). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas nanokomposit ZnO-Ag dalam menghambat pertumbuhan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Nanokomposit dibuat dengan menggunakan eugenol dari minyak cengkeh melalui *green one pot synthesis*.

METODE

Pembuatan Nanokomposit ZnO-Ag dengan metode *one pot synthesis*

Sebanyak 15 mL minyak cengkeh dilarutkan ke dalam 50 mL etanol sambil dilakukan pengadukan. Selanjutnya ditambahkan 50 mL Zn (Ac)₂ · 2H₂O 1 mM sambil dilakukan pengadukan pada temperatur 90 °C. Proses reaksi dilakukan selama tiga jam pada kondisi pH 12 hingga didapatkan suspensi berwarna

putih. Sebanyak 50 mL AgNO_3 1 mM ditambahkan ke dalam suspensi tersebut sambil dilakukan pengadukan selama 30 menit hingga terbentuk perubahan warna menjadi coklat kemerahan. Produk reaksi yang diperoleh disentrifugasi, endapan dicuci dengan etanol dan dikeringkan pada temperatur 100 °C untuk menghilangkan sisa minyak cengkeh. Supernatan digunakan untuk uji antibakteri, endapannya dianalisis morfologi dan kandungan logamnya dengan SEM-EDX.

Pembuatan Kultur *Methicillin Staphylococcus aureus* (MRSA)

Isolat MRSA yang digunakan diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi STIKES Rumah Sakit Anwar Medika Sidoarjo. Bakteri ditumbuhkan pada m *Tryptic Soy Agar* (TSA) dalam tabung reaksi selama 24 jam pada temperatur 37 °C. Sebanyak satu ose inokulum dimasukkan ke dalam media cair *Tryptic Soy Broth* (TSB) sebanyak 10 ml dalam tabung reaksi dan diinkubasi selama 24 jam pada temperatur 37 °C dan digoyang-goyangkan dengan *rotary shaker*.

Uji Nanokomposit ZnO-Ag terhadap MRSA

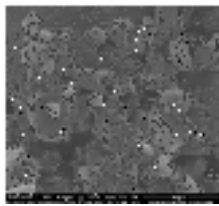
Sebanyak 200 µl Bakteri MRSA dimasukkan dalam microplate reader yang steril. Kemudian ditambahkan 200 µl media TSB dan 200 µl konsentrasi ZnO-Ag yang digunakan. Konsentrasis yang digunakan yakni 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, dan 100 µl/L. Microplate reader kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam. Kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 595 nm. Kontrol positif yang digunakan yakni biakan yang mengandung bakteri MRSA, media TSB, dan antibiotik Meropenem. Kontrol negatif yang digunakan yakni hanya berisi media dan bakteri. Kadar Hambat Minimum yakni kadar terkecil yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri berdasarkan selisih absorbansi kontrol positif dengan konsentrasi uji. Kadar Bunuh Minimum (KBM) yakni kadar yang mampu membunuh bakteri yang ditandai dengan tidak tumbuhnya bakteri MRSA dalam media TSB yang digunakan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Minyak cengkeh merupakan salah satu minyak atsiri yang menjadi komoditas non migas unggulan Indonesia. Salah satu kandungan minyak cengkeh yang bersifat aktif adalah eugenol. Pada penelitian ini digunakan minyak cengkeh sebagai media reaksi pembentukan ZnO dan reduktor Ag^+ menjadi Ag^0 .

Minyak cengkeh merupakan minyak atsiri khas Indonesia yang mengandung senyawa eugenol, senyawa golongan fenilpropanoid yang memiliki cincin aromatik, gugus metoksi, gugus hidroksil, dan ikatan rangkap. Adanya gugus fungsi yang kaya elektron dalam eugenol dapat menjadi agen pereduksi dan penstabil dalam pembentukan nanokomposit ZnO-Ag. Aspek penting dalam metode *green synthesis* adalah efisiensi energi dan durasi reaksi, salah satunya dengan memanfaatkan gelombang mikro sebagai media pemanasannya (Hoz *et al.*, 2016). Pemanfaatan gelombang mikro dapat mengurangi durasi reaksi, meningkatkan kemurnian produk, memodifikasi selektivitas *starting material*, dan meningkatkan kinetika pembentukan produk (Mittal, 2015). Pemanfaatan gelombang mikro dalam sintesis nanomaterial telah dilakukan Fatimah (2016), dimana durasi sintesis nanopartikel Ag sekitar empat menit dan menghasilkan ukuran partikel yang berbeda dengan metode biasa.

Metode sintesis dengan gelombang mikro yang memanfaatkan microwave sebagai sumber energi reaksi dan getarannya mampu memecah ukuran partikel menjadi berukuran kecil. Untuk memecahkan partikel ZnO menjadi berukuran kecil digunakan proses pemanasan dengan microwave selama 10 menit, selanjutnya ditambahkan larutan AgNO_3 secara tetes demi tetes untuk memperkecil ukuran produk reaksi yang dihasilkan dan direaksikan selama 10 menit. Produk reaksi yang dihasilkan disaring, endapan dikeringkan dan filtrat diukur panjang gelombangnya. Endapan yang telah kering dianalisa kristalinitas, morfologi, dan ukuran partikelnya. Sedangkan filtrat diukur panjang gelombangnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Produk reaksi yang dihasilkan dikeringkan pada temperatur 110 °C selanjutnya dikarakterisasi. Endapan produk reaksi yang telah kering dilihat morfologinya dengan SEM-EDX. Pada spectrum EDX dapat dilihat unsur apa saja yang terkandung dalam produk reaksi. Produk ZnO dan ZnO-Ag yang dihasilkan yang dihasilkan pada daya 180 W ditunjukkan pada Gambar 5.8. Pada gambar yang ditunjukkan dan spektrum EDX-nya menunjukkan bahwa ZnO yang terbentuk memiliki bentuk fiber, sedangkan partikel Ag berbentuk kubus. Berdasarkan spektrum EDX pada ZnO (a) terdapat unsur Zn (28,64%) dan O (71,36%), sedangkan pada ZnO-Ag (b) terdapat unsur Zn (8,19%), Ag (49,81%), dan O (42%). Hal tersebut menunjukkan pada daya 450 W partikel Ag terdeposit secara baik pada ZnO, akan tetapi bentuk morfologinya tidak beraturan.



Gambar 1. Produk ZnO-Ag hasil sintesis dengan microwave pada daya 450 W (perbesaran 5000x)

Untuk mengetahui pengaruh daya dalam proses sintesis ZnO-Ag, maka diperlukan analisa ukuran rata-rata diameter partikel menggunakan metode analisa mikrofografi dengan perangkat lunak *Image-J*. Data morfologi ZnO-Ag pada berbagai variasi daya beserta ukuran rata-rata diameter partikelnya disajikan pada Tabel 5.5. Berdasarkan data yang disajikan, dapat diketahui daya optimum yang digunakan untuk sintesis ZnO-Ag metode gelombang mikro adalah 300 W, dimana ukuran rata-rata diameter partikel yang didapatkan sebesar 263,45 nm.

Pada uji aktivitas antibakteri didapatkan bahwa konsentrasi 70 ppm merupakan konsentrasi yang efektif dalam menghambat bakteri MRSA. Pada uji kadar bunuh minimum belum didapatkan, dimana bakteri masih tumbuh hingga konsentrasi maksimal yakni 1000 ppm. ESBLs memiliki gen pengkode ESBLs paling banyak ditemukan di plasmid terutama plasmid resistensi (plasmid R). Plasmid merupakan DNA ekstrakromosomal DNA yang dapat bereplikasi sendiri secara independen dan berbentuk sirkular dengan ukuran yang kecil, yakni 1–5% dari ukuran kromosom bakteri. Plasmid R sangat sering dijumpai dan terdistribusi secara luas di antara spesies dan genus bakteri. Umumnya plasmid mengode sifat yang secara fenotipik dikenali pada sel inangnya. Pada umumnya plasmid R adalah plasmid konjugatif dan mengandung gen yang dapat menyebabkan sel bakteri resisten terhadap sejumlah antibiotik, seperti sulfonamida, streptomisin, kloramfenikol, kanamisin, dan tetrasiklin. Plasmid R yang lain diduga juga mengandung gen resistensi terhadap logam berat, seperti merkuri, kobalt, cadmium, tembaga, arsenik, zink, perak, antimoni, tellurium, dan kromium, serta resistensi terhadap toksin seluler. Mayoritas faktor R mengandung dua kelompok gen, yaitu faktor transfer resistensi (*resistance transfer factor*, RTF) yang mencakup gen untuk replikasi plasmid dan konjugasi, dan determinan *r* (*r-determinant*) yang memiliki gen resistensi dan mengkode produksi enzim untuk inaktivasi obat-obat tertentu atau senyawa toksik.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penelitian dapat diambil kesimpulan bahwa nanokomposit ZnO-Ag mampu menghambat

pertumbuhan bakteri dengan konsentrasi yang paling efektif yakni 70 µg/ml yang mampu menghambat *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*. Perlu penelitian lebih lanjut berkenaan studi formulasi konsentrasi ZnO-Ag dan studi metode lain dalam membentuk nanokomposit.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi (Kemenristekdikti) yang bekerjasama dengan Institut Atsiiri Universitas Brawijaya Malang.

DAFTAR PUSTAKA

- A. Faden . Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) screening of hospital dental clinic surfaces. *Saudi Journal Biological Science*. 2018;4–7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.03.006>
- A. Azam, S. Ahmed, S. Overs, S. Khan, B. Habib and A. Memic, "Antimicrobial activity of Metal Oxide Nanoparticle Against Gram Positive-Gram Negative Bacteria: A Comparative Study," *International Journal of Nanomedicine*, no. 7, pp. 6003-6009, 2011.
- Bhakyashree K, Kannabiran K. Actinomycetes mediated targeting of drug resistant MRSA pathogens. *Journal of King Saud University – Science*. 2018;0–4. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2018.04.034>
- I. Fatimah, "Green Synthesis of Silver Nanoparticle Using Extract: Structural and Optical Properties," *Journal of Advanced Research*, vol. VII, no. 2016, pp. 961-969, 2016.
- S. Azizi, R. Mohammad, R. Rahim, A. Moghaddam, M. Moniri, A. Arif, W. Saad and F. Namwab, "ZnO-Ag Core Shell Nanocomposite Formed by Green Method Using Essential Oil of Wild Ginger and Their Bactericidal and Cytotoxic Effects," *Applied Surface Science*, vol. 2016, no. 384, pp. 517-524, 2016.
- S. Irvani, S. Korbekandi, N. Mirmohammadi and B. Zolfaghari, "Synthesis of Silver Nanoparticles: Chemical, Physical, and Biological Methods," *Research in Pharmaceutical Science*, vol. VI, no. 9, pp. 385-406, 2014
- Y.A. Prasetya. Identifikasi Gen Ctx-M pada *Esherichia coli* Penghasil Extended Spectrum Beta-Lactamases (ESBLs) di RSUD Dr. Soetomo Surabaya. *Journal Teknologi Laboratorium*. 2017;6(2):56–60



PROSIDING

SEMINAR NASIONAL SAINS DAN ENTREPRENEURSHIP VI TAHUN 2019

"Transformed Sales Model Persepektifnya untuk Meningkatkan SDM Pengusaha Sumbawati Hiliris Berkelanjutan di Era Revolusi Industri 4.0 dan Entrepreneurship"

Semarang, 21 Agustus 2019