

Journal of Emergency

Vol. 1. No. 1 Desember 2011

Efektivitas Electrolyzed Oxidized Water (EOW) sebagai Antiseptik terhadap Kuman yang Sering Terdapat pada Luka Bakar

The Effectiveness of Electrolyzed Oxidized Water (EOW) as an Antiseptic to Bacteria Commonly Found in Burn Wounds

Tomie Hermawan Soekamto, David S Perdanakusuma, Heru Setyawan*

Departemen/SMF Bedah Plastik FK Unair/RSUD Dr. Soetomo Surabaya

*Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Industri ITS Surabaya

ABSTRAK

Pendahuluan: Risiko infeksi sangat tinggi pada pasien luka bakar. Dengan demikian, infeksi luka bakar harus dicegah. Electrolyzed oxidized water (EOW) dihasilkan dengan cara elektrolisis larutan natrium klorida lemah. Meskipun EOW yang diketahui memiliki aktivitas bakterisidal yang kuat dan tidak berbahaya bagi tubuh makhluk hidup, efektivitas dalam perawatan luka bakar sebagai antiseptik belum juga diketahui pasti.

Tujuan: Tujuan dari penelitian ini adalah untuk merancang dan membangun suatu alat electrolyzer yang dapat menghasilkan electrolyzed oxidized water (EOW) dan untuk menentukan apakah solusi berfungsi sebagai bakterisidal terhadap bakteri yang diisolasi dari luka bakar.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium. Sebuah alat electrolyzer yang didesain dan dibuat untuk menghasilkan electrolyzed oxidized water (EOW). Aktivitas bakterisidal dari solusi di uji pada *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiela pneumoniae* dan MRSA. Untuk menentukan MIC (Minimum Inhibitory Concentration) and MBC (Minimum Bactericidal concentration).

Hasil: Electrolyzer yang dirancang dan dibuat dapat menghasilkan electrolyzed oxidized water dan memiliki aktivitas bakterisidal terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiela pneumoniae* and MRSA.

Kata kunci: luka bakar, bakteri, elektrolized oksidasi water, antiseptik

ABSTRACT

Background: The risk of infection is particularly high in burn patient. Thus, burn wound infection must be prevented. Electrolyzed Oxidized Water (EOW) is generated by the electrolysis of a weak sodium chloride solution. Although EOW is known to have a strong bactericidal activity and to be harmless to the living body, its effectiveness in burn wound care as antiseptic has not been well established.

Objective: The purpose of the study was to design and to build an electrolyzer apparatus which could produce electrolyzed oxidized water (EOW) and to determine whether the solution functions as a bactericide to bacteria which are isolated from burn wound.

Methods: This research was An experimental laboratory study. An electrolyzer apparatus was designed and built to produce electrolyzed oxidized water. The bactericidal activity of the solution was tested on *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiela pneumoniae* and MRSA. The MIC (Minimum Inhibitory Concentration) and MBC (Minimum Bactericidal concentration) were determined.

Results: The electrolyzer that was designed and built produced electrolyzed oxidized water and had bactericidal activity to *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiela pneumoniae* and MRSA.

Keywords: burn wound, bacteria, electrolyzed oxidized water (EOW), antiseptic

PENDAHULUAN

Penyebab utama masalah yang dihadapi tim luka bakar saat menangani pasien dalam melewati masa kritis adalah

masalah infeksi, yang diketahui sebagai penyebab lebih dari 50% kematian. Prosedur manajemen luka pada pasien luka bakar berkembang pesat sehingga dapat mengurangi angka infeksi pada pasien luka bakar, termasuk penggunaan

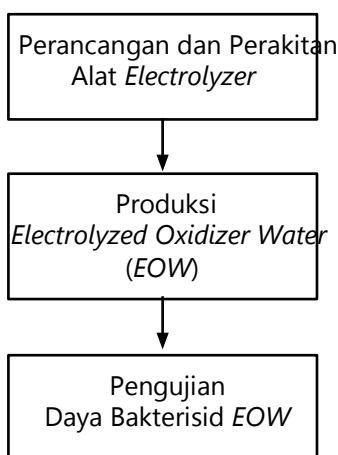
antimikrobal topikal maupun antiseptik (Manson, 1997; Jones and Greenwood, 2000; Villapalos Leon and Jeschke, 2008).

Penulis merancang dan merakit sebuah alat *electrolyzer* yang dapat memproduksi *Electrolyzed Oxidized Water* (EOW) yang mempunyai daya antiseptik dan efektif sebagai antiseptik terhadap kuman yang sering terdapat pada luka bakar. Penelitian ini bertujuan untuk membuat sebuah alat *electrolyzer* sederhana serta praktis (*mobile*) yang dapat memproduksi EOW berdaya antiseptik, dengan biaya relatif ekonomis sehingga dapat membantu pasien luka bakar dan dapat mengurangi resistensi kuman pada luka bakar yang sering disebabkan oleh antiseptik.

Efektivitas EOW sebagai antiseptik terhadap kuman pada luka bakar masih jarang diteliti (Higashidate and Yokosuka, 2000; Kubota Akio *et al.*, Ohno, 2009). *Nitrate reductase* dari *P. Aeruginosa* diinaktivasi oleh produk yang dihasilkan dari larutan elektrolisa yang mengandung *chlorine* konsentrasi rendah dan juga diungkapkan terjadinya inaktivasi enzim sitoplasma dari *S.aureus* dan *P. Aeruginosa*. Produk elektrolisa merusak membran luar bakteri, kemudian larutan tersebut akan mencapai enzim, dengan cepat melewati membran bagian dalam dan akhirnya mencapai enzim setelah merusak periplasma dan membran bagian dalam tersebut (Kiura *et al.*, 2002).

METODE

Penelitian ini merupakan suatu studi eksperimental laboratoris. Dengan alur penelitian seperti pada gambar 1. Proses produksi EOW memerlukan sebuah alat *electrolyzer* yang dapat melakukan proses elektrolisa larutan saline (NaCl) atau air mineral yang mengandung *sodium chloride* yang kadarnya sudah ditentukan.



Gambar 1. Alur Penelitian

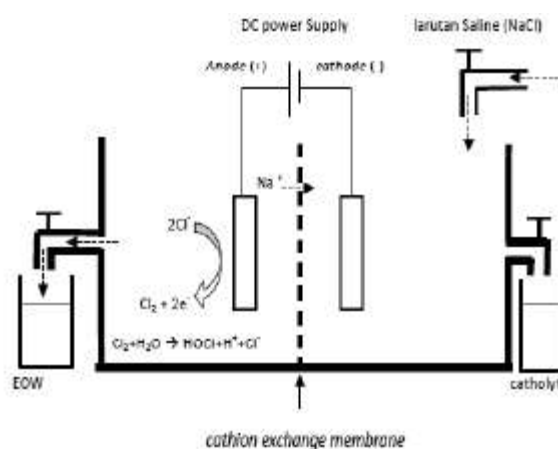
Perancangan dan Perakitan Alat Electrolyzer

Prinsip dasar dari alat *electrolyzer* ini adalah anoda (+) dan katoda (–) yang dipisahkan oleh *cation exchange membrane* yang berfungsi menghambat migrasi ion negatif

(OH[–]) dari katoda ke anoda (Tanaka, 2007; Miyashita, Yasuda, Ota and Suzuki, 1999). *Chlorine* (Cl₂) cepat berubah oleh proses hidrolisa menjadi *hypochlorous acid* (HOCl) pada anoda, Sedangkan pada katoda, ion H⁺ dari H₂O tereduksi menjadi gas *Hydrogen* (H₂) (gambar 2).

Hypochlorous acid yang terbentuk disebut *anolyte*. Cairan *anolyte* inilah yang disebut sebagai *electrolyzed oxidized water* (EOW), di mana hampir semua Cl berbentuk sebagai HClO (*hypochlorous acid*) dengan pH 5, akan lebih banyak Cl dihasilkan dari HClO pada pH rendah. Dalam larutan NaCl yang dielektrolisa ini, *free chlorine* yang bersifat bakterisidal seperti HClO, Cl₂ ada dengan distribusi yang tidak merata, dengan demikian konsentrasi *free-chlorine* disebutkan sebagai indeks aktifitas bakterisidal (Morita Chizuko *et al.*, 2000; Yokoyama Isao *et al.*, 2007).

Produksi Electrolyzed Oxidized Water (EOW)

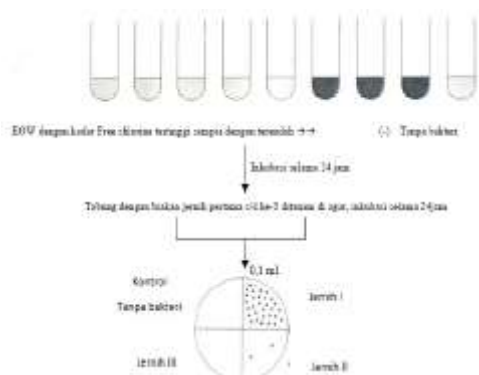


Gambar 2. Skema rancangan alat electrolyzer

Produksi EOW secara sederhana dapat dilakukan dengan cara mengalirkan larutan saline atau air mineral yang mengandung *sodium chlorite* (NaCl) ke dalam alat *electrolyzer* yang dipisahkan oleh selemba *cation exchange membrane*. Kadar larutan *sodium chlorite* dapat disesuaikan (Kiura *et al.*, 2002). Larutan saline 0,9% akan digunakan dalam penelitian ini, diencerkan dengan *demineralized water* sampai konsentrasi tertentu dan dielektrolisa kemudian diharapkan dapat menghasilkan kadar *free chlorine* yang mampu menghambat, membunuh bakteri dan masih tetap *biocompatible*, sehingga tidak berbahaya terhadap jaringan tubuh (Miyashita, Yasuda, Ota and Suzuki, 1999; Yokoyama Isao *et al.*, 2007).

Pengujian Daya Bakterisid EOW

EOW yang telah diproduksi tersebut akan diuji daya bakterisidnya terhadap bakteri yang sering diisolasi dari luka bakar baik gram positif maupun gram negatif, seperti *MRSA*, *Pseudomonas aeruginosa* dan spesies *Klebsiella*. EOW tersebut akan diuji daya bakterisidnya pada kultur biakan kuman tersebut di laboratorium mikrobiologi.



Gambar 3. test sensitivitas EOW

Hasil test sensitivitas tersebut dilaporkan sebagai *minimum inhibitory concentration* (MIC), yang menggambarkan konsentrasi terendah *free chlorine* terlarut dalam EOW yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri tersebut (Gambar 3).

Konsentrasi terendah *free chlorine* EOW maupun *sodium hypochlorite* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri ditunjukkan pada tabung yang secara kasat mata terlihat jernih setelah inkubasi pada suhu 35°C selama minimal 18 jam, adalah kadar MIC (Warren, 2006).

Untuk mengetahui konsentrasi *free chlorine* EOW maupun *sodium hypochlorite* yang dapat membunuh bakteri daripada yang menghambat pertumbuhan bakteri, penting untuk mengetahui MBC (*minimum bactericidal concentration*) (Warren, 2006).

Bahan dan alat untuk Perancangan Electrolyzer EOW.

- Bejana (*chamber*) dibuat dari bahan kaca dengan ukuran panjang 15 cm, lebar 15 cm dan tinggi 15 cm yang di tengahnya dipisahkan oleh suatu *cation exchange membrane* merk Nafion 117, produk dari Du Pont USA
- 2 buah elektroda platina buatan Ficher scientific co, pitsburg USA
- DC power adaptor merk Instek type OPC 30300 buatan Instek German.
- Amper meter digital tester merk Hioki type 3802 buatan Hioki Jepang.
- Komputer PC untuk mencatat data.

Bahan dan alat untuk produksi EOW.

- Larutan NaCl 0,9% .
- Demineralized water .
 - * Beberapa gelas ukur.
 - * Chlorine meter set EXStick CL200 buatan Extech instruments Taiwan.
 - * Alat Electrolyzer yang akan dirakit.
 - * pH meter universal indikator merk MERCK buatan Merk Jerman.

Bahan dan alat untuk pengujian daya bakterisid EOW.

- Electrolyzed oxidized water (EOW) yang diproduksi dengan alat electrolyzer .
- Sodium hypochlorite 12%, buatan laboratorium LIPI Bandung Indonesia.

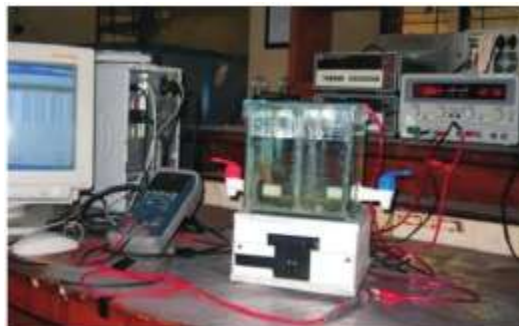
- Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoni* dan MRSA yang diisolasi dari luka bakar, dengan kadar bakteri 10⁵ per ml.

- * Tabung berisi Medium biakan kuman Broth.
- * Cawan petri berisi agar untuk media biakan kuman.
- * Inkubator kuman merk Binder buatan Jerman.

HASIL

Perancangan dan Perakitan Alat Electrolyzer

Sebuah alat *electrolyzer* sederhana terdiri sebuah bejana (*chamber*) yang dibuat dari bahan kaca dengan ukuran panjang 15cm, lebar 15cm dan tinggi 15cm yang di tengahnya dipisahkan oleh suatu *cation exchange membrane* merk Nafion 117, produk dari Du Pont USA, sehingga *chamber* tersebut terbagi menjadi dua bagian. Kemudian di masing-masing *chamber* diletakkan 2 buah elektrode: anoda (+) dan katoda (-) dari bahan *platinum* buatan Ficher scientific co, pitsburg USA yang dihubungkan dengan listrik. Elektrode tersebut bersifat *inert* sehingga elektroda tersebut tidak ikut bereaksi dengan larutan yang dielektrolisa dan larutan yang diproduksi dapat terhindar dari logam polutan dan dapat dijaga kemurniannya (Gambar 4).



Gambar 4. Rangkaian alat electrolyzer yang sudah terakit.

Produksi EOW

Produksi EOW secara sederhana dapat dilakukan dengan cara mengalirkan larutan *saline* (NaCl) atau air mineral yang mengandung *sodium chlorite* (NaCl) ke dalam *chamber electrolyzer* yang sudah dirakit. Kadar larutan *sodium chlorite* yang dipakai disesuaikan dengan kadar *free chlorine* yang diinginkan dalam EOW yang akan diproduksi.

Larutan NaCl 0,1125% dan 0,35% dielektrolisa selama satu jam, kadar *free chlorine* terlarut dalam EOW diukur menggunakan *chlorine meter* pada menit pertama, kelima dan setiap lima menit sampai menit ke-60. Tingkat keasaman EOW yang dihasilkan diukur menggunakan PH meter *universal indikator* (tabel 1).

Semakin tinggi konsentrasi NaCl yang dipakai, semakin tinggi kadar *free chlorine* yang dihasilkan dalam EOW dengan waktu elektrolisa yang sama. Hubungan antara konsentrasi NaCl dalam air yang dielektrolisa dengan kadar

free chlorine dan waktu lamanya elektrolisa. Konsentrasi NaCl dalam air yang dielektrolisa, kadar *free chlorine* dan waktu lamanya elektrolisa mempunyai hubungan berbanding lurus tercatat saat proses elektrolisa pada alat *electrolyzer* yang dirancang ini (Gambar 5 dan Gambar 6).

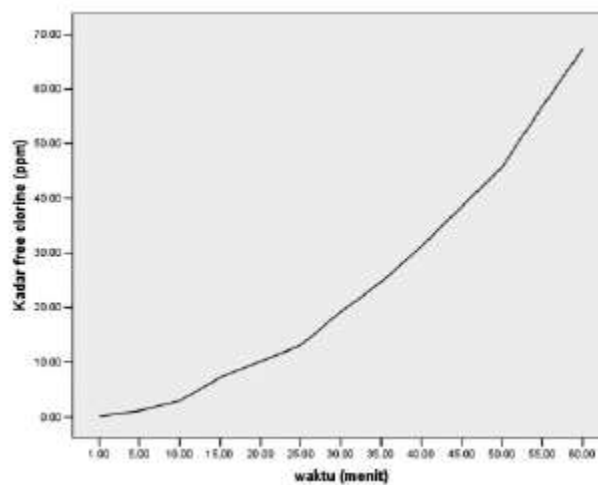
Tabel 1. Kadar *free chlorine* terlarut dalam EOW dan PH dari proses elektrolisa saline 0,1125%

Waktu (menit)	kadar <i>free chlorine</i> (ppm)	pH
1	0,13	6,5
5	1,1	6,5
10	2,91	6,5
15	7,18	6,5
20	10,12	6
25	13,08	6
30	19,2	6
35	24,67	6
40	31,2	5,5
45	38,5	5,5
50	45,7	5,5
55	56,8	5,5
60	67,3	5,5

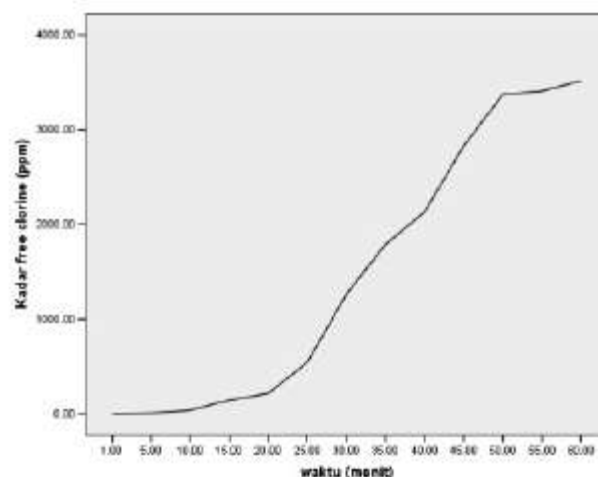
Tabel 2. Kadar *free chlorine* terlarut dalam EOW dan PH dari proses elektrolisa saline 0,35%

Waktu (menit)	kadar <i>free chlorine</i> (ppm)	pH
1	0,35	6,5
5	6,7	6,5
10	35,8	6
15	142,1	5,5
20	214,2	5,5
25	542,12	5,5
30	1264,64	5
35	1789,44	5
40	2132,48	5
45	2831,36	5
50	3374,08	4,5
55	3409,92	4,5
60	3517,44	4,5

Elektrolisa larutan NaCl 0,1125% selama enam puluh menit menunjukkan kadar *free chlorine* yang meningkat, dari menit pertama sebesar 0,13 ppm menjadi 67,3 ppm pada menit ke-60 (tabel 1 dan gambar 5). Hal yang sama terjadi pada proses elektrolisa NaCl 0,35% selama enampuluh menit juga menunjukkan peningkatan kadar *free chlorine*, dari 0,35 ppm pada menit pertama sampai menjadi di atas 3000 ppm pada menit ke-60 (Tabel 2, Gambar 6).

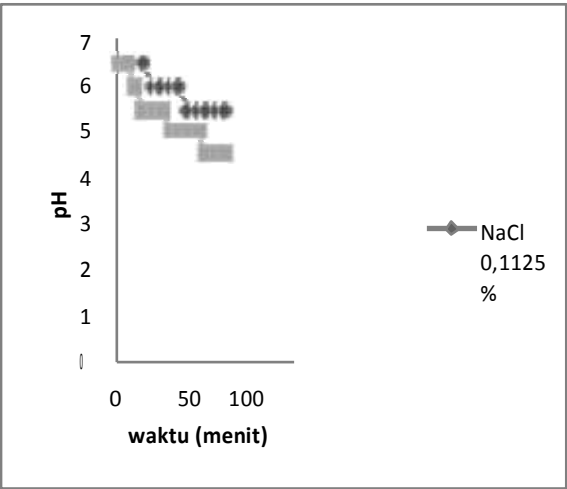


Gambar 5. Grafik hubungan antara waktu elektrolisa saline 0,1125% dengan kadar *free chlorine* dalam EOW yang dihasilkan.



Gambar 6. Grafik hubungan antara waktu elektrolisa saline 0,35% dengan kadar *free chlorine* dalam EOW yang dihasilkan.

Derajat keasaman (pH) dari EOW yang dihasilkan dari proses elektrolisa akan semakin turun sesuai dengan lamanya waktu elektrolisa. Derajat keasaman EOW yang dihasilkan dari proses elektrolisa larutan NaCl 0,1125% pada menit pertama adalah 6,5 menjadi 5,5 pada menit ke-60, sedangkan untuk larutan NaCl 0,35% pada menit pertama 6,5 menjadi 4,5 pada menit ke-60 (Tabel 1 dan 2, Gambar 7).



Gambar 7. Grafik hubungan antara waktu elektrolisa saline 0,1125% dan 0,35% dengan derajat keasaman EOW yang dihasilkan.

Pengujian daya bakterisid EOW

EOW yang telah diproduksi diuji sensitivitas test terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* dan *MRSA*. Hasil test sensitivitas tersebut dilaporkan sebagai *minimum inhibitory concentration* (MIC), yang menggambarkan konsentrasi *free chlorine* terlarut dalam EOW terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri tersebut. Konsentrasi terendah *free chlorine* EOW yang mencegah pertumbuhan bakteri ditunjukkan pada tabung yang secara kasat mata terlihat jernih setelah inkubasi pada suhu 35o C selama minimal 18 jam, adalah kadar MIC (Warren, 2006).

MIC dari EOW yang diproduksi dari larutan NaCl 0,1125% tersebut tidak bisa ditentukan dengan test sensitivitas ini (Tabel 3). EOW yang diproduksi dari larutan NaCl 0,35% pada tabung yang berisi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, setelah diinkubasi selama 24 jam menunjukkan

daya hambat terhadap bakteri tersebut. Tabung yang berisi EOW dengan konsentrasi *free chlorine* 542,12 ppm dan tabung dengan konsentrasi *free chlorine* yang lebih tinggi terlihat bening secara kasat mata (Tabel 4).

Tabung yang berisi bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *MRSA*, setelah diinkubasi selama 24 jam juga menunjukkan daya hambat terhadap bakteri tersebut. Tabung yang berisi EOW dengan konsentrasi *free chlorine* 214 ppm dan tabung dengan konsentrasi *free chlorine* yang lebih tinggi terlihat bening secara kasat mata (Tabel 4).

Tabel 3. Kadar free chlorine dan hasil biakan bakteri menurut waktu elektrolisis pada Saline 0,1125%

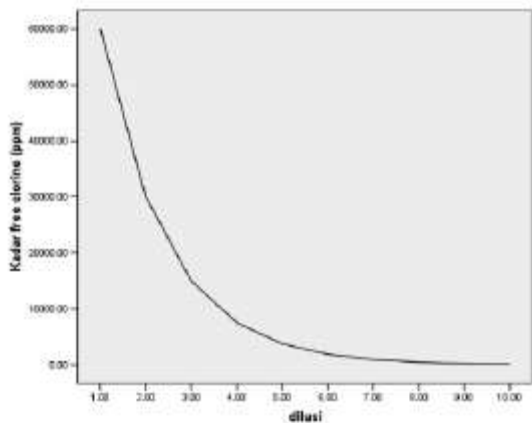
Waktu (menit)	kadar free chlorine (ppm)	pH	Biakan bakteri dalam Broth		
			P aeruginosa	Klebsiela pneumoniae	MRSA
1	0,13	6,5	+	+	+
5	1,1	6,5	+	+	+
10	2,91	6,5	+	+	+
15	7,18	6,5	+	+	+
20	10,12	6	+	+	+
25	13,08	6	+	+	+
30	19,2	6	+	+	+
35	24,67	6	+	+	+
40	31,2	5,5	+	+	+
45	38,5	5,5	+	+	+
50	45,7	5,5	+	+	+
55	56,8	5,5	+	+	+
60	67,3	5,5	+	+	+

MIC EOW yang diproduksi dari larutan NaCl 0,35% dapat ditentukan dari test sensitivitas menggunakan tabung-tabung yang berisi bakteri dalam media *broth* tersebut, yaitu 542,12 ppm terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan 214 ppm terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *MRSA* (Tabel 4).

Tabel 4. Kadar free chlorine EOW, pH dan hasil biakan bakteri menurut waktu elektrolisis pada Saline 0,35%

Waktu (menit)	kadar free chlorine (ppm)	pH	Biakan bakteri dalam Broth			Biakan Bakteri dalam agar		
			Pseudomonas	Klebsiela pneumoniae	MRSA	Pseudomonas	Klebsiela pneumoniae	MRSA
1	0,35	6,5	+	+	+			
5	6,7	6,5	+	+	+			
10	35,8	6	+	+	+			
15	142,1	5,5	+	+	+			
20	214,2	5,5	+	–	–		+	+
25	542,12	5,5	–	–	–	+	–	–
30	1264,64	5	–	–	–	–	–	–
35	1789,44	5						
40	2132,48	5	–	–	–	–	–	–
45	2831,36	5	–	–	–			
50	3374,08	4,5	–	–	–			
55	3409,92	4,5	–	–	–			
60	3517,44	4,5	–	–	–			

Test sensitivitas *sodium hypochlorite* terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoni* dan *MRSA* juga dilaksanakan. *MIC sodium hypochlorite* 12% ditentukan sebagai pembanding *MIC EOW*. Larutan ini didilusi dua kali lipat ke beberapa tabung yang berisi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoni* dan *MRSA* dalam media *broth*. Kadar *free chlorine* dan larutan *sodium hypochlorite* ini diperiksa setiap kali dilusi (gambar 8 dan Tabel 5).



Gambar 8. Kadar *free chlorine* larutan *sodium hypochlorite* yang didilusi.

MIC larutan *sodium hypochlorite* dapat ditentukan dari test sensitivitas menggunakan beberapa tabung yang berisi bakteri dalam media *broth* tersebut, yaitu 950 ppm terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan 480 ppm terhadap bakteri *Klebsiella pneumoni* dan *MRSA* (Tabel 5).

Untuk mengetahui konsentrasi *free chlorine EOW* maupun *sodium hypochlorite* yang dapat membunuh bakteri daripada yang menghambat pertumbuhan bakteri, penting untuk mengetahui *MBC (minimum bactericidal concentration)*. *MBC EOW* dari elektrolisa larutan NaCl 0,35% adalah 1264 ppm terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, 542 ppm terhadap *Klebsiella pneumoni* dan *MRSA*. *MBC sodium hypochlorite* adalah 1900 ppm terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, 950 ppm terhadap *Klebsiella pneumoni* dan *MRSA* (Tabel 4 dan tabel 5).

DISKUSI

Sesuai dengan tujuan utama penelitian ini adalah untuk dapat merancang dan merakit sebuah alat *electrolyzer* sederhana yang dapat memproduksi *EOW* yang diharapkan mempunyai daya antiseptik terhadap kuman (*MRSA*, *Pseudomonas aeruginosa* dan spesies *Klebsiella*) yang sering terdapat pada luka bakar. Keuntungan utama dari penggunaan *EOW* untuk inaktivasi bakteri adalah relatif aman untuk manusia dan mempunyai dampak lingkungan yang tidak berbahaya, juga dalam proses pembuatan, transportasi dan penyimpanannya yang lebih mudah dan aman jika dibandingkan dengan bahan kimia berbahaya lainnya (Ponzano, 2007).

Elektrolisa larutan NaCl 0,1125% selama enam puluh menit menunjukkan kadar *free chlorine* yang meningkat, dari menit pertama sebesar 0,13 ppm menjadi 67,3 ppm pada menit ke-60. Hal yang sama terjadi pada proses elektrolisa NaCl 0.35% selama enam puluh menit juga menunjukkan peningkatan kadar *free chlorine*, dari 0,35 ppm pada menit pertama sampai menjadi di atas 3000 ppm pada menit ke-60. Semakin tinggi konsentrasi NaCl yang dipakai, semakin tinggi kadar *free chlorine* yang akan dihasilkan dalam *EOW* dengan lama waktu elektrolisa yang sama. Konsentrasi NaCl dalam air yang dielektrolisa, kadar *free chlorine* dalam *EOW* dan waktu lamanya elektrolisa mempunyai hubungan berbanding lurus tercatat saat proses elektrolisa pada alat *electrolyzer* yang dirancang ini. Tingkat keasaman *EOW* juga menjadi semakin tinggi (pH menjadi semakin rendah) apabila waktu elektrolisa semakin lama (Kiura *et al.*, 2002).

EOW yang telah diproduksi kemudian diuji sensitivitas test terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoni* dan *MRSA*, bakteri tersebut yang sering ditemukan pada luka bakar. Hasil test sensitivitas tersebut dilaporkan sebagai *Minimum Inhibitory Concentration (MIC)*. Test sensitivitas *sodium hypochlorite* terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoni* dan *MRSA* juga dilaksanakan. *MIC* dan *MBC* dari *sodium hypochlorite* 12% ditentukan sebagai pembanding *MIC* dan *MBC* dari *EOW* yang telah diproduksi. *MIC EOW* yang diproduksi dari larutan NaCl 0,35% ditentukan dari test sensitivitas menggunakan tabung yang berisi bakteri

Tabel 5. Kadar *free chlorine* dan hasil biakan bakteri berbagai dilusi pada *Sodium Hypochlorite* standar

Dilusi	kadar free chlorine (ppm)	Biakan bakteri dalam Broth			Biakan Bakteri dalam agar		
		<i>Pseudomonas</i>	<i>Klebsiela pneumoni</i>	<i>MRSA</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Klebsiela pneumoni</i>	<i>MRSA</i>
1	60000	–	–	–			
2	30000	–	–	–			
3	15000	–	–	–			
4	7500	–	–	–	–		
5	3750	–	–	–	–	–	–
6	1900	–	–	–	– (MBC)	–	–
7	950	–	–	–	+ (MIC)	– (MBC)	– (MBC)
8	480	+	+	–		+ (MIC)	+ (MIC)
9	240	+	+	+			
10	120	+	+	+			

dalam media *broth* tersebut, yaitu 542,12 ppm terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan 214 ppm terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *MRSA*. Ini artinya EOW pada kadar *free chlorine* 542,12 ppm, dapat menghambat pertumbuhan 10⁵/ml bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan pada kadar *free chlorine* 214 ppm, dapat menghambat pertumbuhan 10⁵/ml bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *MRSA*. MIC larutan *sodium hypochlorite* 12%, lebih tinggi bila dibandingkan dengan MIC EOW yang diproduksi dari larutan NaCl 0,35% yaitu sebesar 950 ppm terhadap 10⁵/ml bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan 480 ppm terhadap 10⁵/ml bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *MRSA*. MIC EOW yang diproduksi dari larutan NaCl 0,1125% tidak dapat ditentukan karena kadar *free chlorine* yang dihasilkan terlalu rendah.

MBC EOW dari elektrolisa larutan NaCl 0,35% adalah 1264 ppm terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, 542 ppm terhadap *Klebsiella pneumoniae* dan *MRSA* yang artinya EOW pada kadar *free chlorine* 1264 ppm dapat membunuh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan pada kadar 542 ppm dapat membunuh bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *MRSA*. MBC *sodium hypochlorite* 12% adalah 1900 ppm terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, 950 ppm terhadap *Klebsiella pneumoniae* dan *MRSA*. MBC EOW dari elektrolisa larutan NaCl 0,35% adalah lebih rendah apabila dibandingkan dengan *sodium hypochlorite* 12%.

Kiura and Nakajima et al pada tahun 2007 mengungkapkan bahwa *nitrate reductase* dari *P. Aeruginosa* diinaktivasi oleh produk yang dihasilkan dari larutan elektrolisa yang mengandung *chlorine* konsentrasi rendah. Dalam penelitiannya juga diungkapkan inaktivasi enzim sitoplasma dari *S.aureus*, *P. Aeruginosa* dan *K pneumoniae*. Produk elektrolisa merusak membran luar bakteri, kemudian larutan tersebut akan mencapai enzim, dengan cepat melewati membran bagian dalam dan akhirnya mencapai enzim setelah merusak periplasma dan membran bagian dalam tersebut. Beberapa penelitian mengungkapkan bahwa EOW dapat merusak total Bakteri *P. Aeruginosa*. Membran sel bakteri tersebut menjadi target kerja EOW menjadi rusak, kemudian terjadi degradasi kromosom DNA bakteri (Hogan and Kolter, 2002). EOW juga menginaktivasi enzim bakteri tersebut, merusak dinding sel, menembus sitoplasma dan merusak berbagai macam protein di dalamnya. Sisa membran bakteri yang mati dapat melepaskan endotoksin, dengan hancurnya membran sel bakteri maka potensi lepasnya endotoksin juga dapat diinaktivasi (Hidalgo, Bartolome and Dominguez, 2002; Emmanuel, Gerard and Iancherd, 2004).

SIMPULAN

Alat *electrolyzer* yang telah dirancang dan dirakit dapat memproduksi *electrolyzed oxidized water* (EOW). EOW yang diproduksi, setelah dilakukan test sensitivitas, terbukti mempunyai daya bakteristatik maupun bakterisid terhadap kuman yang sering didapatkan pada luka bakar (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* dan *MRSA*).

MIC EOW dari elektrolisa larutan NaCl 0,35% adalah 542,12 ppm terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan 214 ppm terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *MRSA*, artinya EOW dengan kadar *free chlorine* 542,12 ppm hanya dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan dengan kadar 214 ppm hanya dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *MRSA*.

MBC EOW dari elektrolisa larutan NaCl 0,35% adalah 1264ppm terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, 542ppm terhadap *Klebsiella pneumoniae* dan *MRSA*, artinya EOW dengan kadar *free chlorine* 1264 ppm dapat membunuh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan dengan kadar 542 ppm dapat membunuh bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *MRSA*. EOW yang telah diproduksi mempunyai MIC dan MBC yang lebih rendah dibandingkan dengan MIC dan MBC dari *sodium hypochlorite* sebagai pembanding.

Masih perlu dilakukan penelitian lain untuk menentukan efektivitas dan toksisitas EOW yang telah diproduksi sebagai antiseptik secara *in-vivo* pada binatang coba.

Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk merancang dan merakit alat *electrolyzer* yang lebih ekonomis, sederhana dan *mobile*, setelah EOW yang diproduksi tersebut terbukti efektif sebagai antiseptik pada perawatan luka baik secara *in-vitro*, *in-vivo* maupun klinis.

DAFTAR PUSTAKA

1. Altamirano Ariel Miranda. Reducing Bacterial Infectious Complications from Burn Wounds. Journal of Wounds supplement to January: 17–19 (2006) .
2. Aly Raza et al. Clinical efficacy of a chlorous acid preoperative skin antiseptic. AJIC 26: 406–412 (1998).
3. Bashtan S Yu, Goncharuk VV, Chebotareva RD, Belyakov VN, Linkov V M. Production of sodium hypochlorite in an electrolyser equipped with ceramic membrane. Desalination 126: 77–82 (1999).
4. Bonde MR, Nester SE, Khayat A, Smilanick JL, Frederick RD, Schaad NW. Comparison of Effects of Acidic Electrolyzed Water and NaOCl on *Tilletia indica* Teliospore Germination. Plant Disease 83(7): 627–632 (1999).
5. Chapman John S. Characterizing bacterial resistance to preservatives and disinfectants. International Biodeterioration & Biodegradation 41: 241–245 (2004).
6. Cinat E Marianne, Smith M Melissa. Acute Burn Management. Burn Surgery Reconstruction and Rehabilitation: 50–76 (2006).
7. Cloete TE, Thantsha MS, Maluleke MR, Kirkpatrick R. The antimicrobial mechanism of electrochemically activated water against *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* as determined by SDS-PAGE analysis. Journal of Applied Microbiology 107: 379–384 (2009).
8. Cortezzo DE, Dube K Koziol, Setlow B, Setlow P. Treatment with oxidizing agents damages the inner membrane of spores of *Bacillus subtilis* and sensitizes spores to subsequent stress. Journal of Applied Microbiology 97: 838–852 (2004).
9. Desai Alpesh et al. The Efficacy and Tolerability of Electrolyzed Oxidized Water in Treating Mild to Moderate Acne. Cosmetic Dermatology Journal 17: 22–24 (2004) .
10. Domingues C, Hidalgo E. Mechanisms underlying chlorhexidine-induced cytotoxicity. Toxicology in Vitro 15: 271–276 (2001).
11. Emmanuel evens, Gerard Keck, Iancherd Jean-Marie. Toxicological effects of disinfections using sodium hypochlorite on aquatic organisms and its contribution to AOX formation in hospital water. Environment International 30 (2004) 891–900. Facial Burns. Burns 34: 903–911 (2008).

12. Ferguson A. Wound Infection – the role of antiseptics. *Accident and Emergency Nursing* 1: 79–86 (1993).
13. Fujita J, Nanki N, Negayama K, Tsutsui S, Taminato T, Ishida T. Nosocomial contamination by *Mycobacterium gordonae* in hospital water supply and super-oxidized water. *Journal of Hospital Infection* 51: 65–68(2002).
14. Goretti Chiara et al. Clinical Outcomes of Wide Postsurgical Lesions in the Infected Diabetic Foot Manage With 2 Different Local Treatment Regimes Compared Using a Quasi-Experimental Study Design: A Preliminary Communication. *Lower Extremity Wound* 6(1): 22–27(2007).
15. Hidalgo Eduard, Bartolome Rosa, Dominguez Carmen. Cytotoxicity mechanism of sodium hypochlorite in cultured human dermal fibroblasts and its bactericidal effectiveness. *Chemico-Biological Interactions* 139: 265-282 (2002).
16. Hoffman Peter, Bradley Christina, Pyliffe Graham. Principles of disinfection. *Disinfection in Healthcare*: 1–7 (2004).
17. Hoffman Peter, Bradley Christina, Pyliffe Graham. Properties of Chemical disinfectants. *Disinfection in Healthcare*: 8-16(2004).
18. Hogan Deborah, Kolter Roberto. Why are bacteria refractory to antimicrobials? *Antimicrobials Current Opinion in Microbiology* 5: 472–477 (2002).
19. Iwasawa Atsuo. Antimicrobial Effects of Aqua Oxidized Water. *Clinical examination* 37; 8: 1–4 (1993).
20. Jones D Rhonda. Bacterial resistance and topical antimicrobial wash products. *AJIC* 27;4: 135–163 (1999).
21. Kiura Hiromasa et al. Bactericidal activity of electrolyzed acid water from solution containing sodium chloride at low concentration, in comparison with that at high concentration. *Journal of Microbiological Methods* 49: 285–293 (2002).
22. Kubota Akio et al. Effects of Electrolyzed Strong Acid Water on Peritoneal Irrigation of Experimental Perforated Peritonitis. *Surgery Today* 39: 514–517 (2009).
23. Lafforgue C, Carret L, Falson F, Reverdy M E, Freney. Percutaneous absorption of a chlorhexidine digluconate solution. *International Journal of Pharmaceutics* 147: 243–246 (1997).
24. Laing. Memorial Prize Essay 2000. *Burns* 29: 15–24 (2003).
25. Lee Sung Hoon, Choi Bong Kyu. Antibacterial Effect of Electrolyzed Water on Oral Bacteria. *The Journal of Microbiology*: 417–422 (2006).
26. Levinson Waren. Antimicrobial drugs resistance. Review of Medical Microbiology and Immunology. Ninth edition: 89–90 (2004).
27. Liao Long B, Chen Wei M, Xiao Xian M. The generation and activation mechanism of oxidation-reduction potential of electrolyzed oxidizing water. *Journal of Food Engineering* 78: 1326–1332 (2007).
28. Manson Willem W L. Infection and Immunological Aspects in Burns. Course on Burn. Dutch Foundation Postgraduate Course in Medicine Indonesia Airlangga University School of Medicine Dr. Soetomo Teaching Hospital: 44-52(1997).
29. Marzoeke Djohansjah. Asepsis Antisepsis dan Disinfektan. Luka dan Perawatannya (Luka, Asepsis/Antisepsis dan Disinfektan, Luka Bakar): 21–27 (1993).
30. Miyashita Kazuo, Yasuda Manami, Ota Toru, Suzuki Tetsuya. Antioxidative Activity of a Cathodic Solution Produced by the Electrolysis of a Dilute NaCl Solution. *Biosci. Biotechnol. Biochem* 63(2): 421–423 (1999).
31. Morita Chizuko et al. Disinfection potential of electrolyzed solution containing sodium chloride at low concentrations. *Journal of Virulogical Methods* 85: 163–174 (2000).
32. Nakae Hajime, Inaba Hideo. Effectiveness of Electrolyzed Oxidized Water Irrigation in a Burn-Wound Infection Model. *The Journal of Trauma Injury, Infection, and Critical Care* 49(3): 511–514 (2000).
33. Nakae Hajime, Inaba Hideo. Electrolyzed Strong Acid Aqueous Solution Irrigation Promotes Wound Healing in a Burn Wound Model. *Artificial Organs. International Society for Artificial Organs* 24(7): 544–546 (2000).
34. Nakajima Norihito et al. Evaluation of disinfective potential of reactivated free chlorine in pooled tap water by electrolysis. *Journal of Microbiological Methods* 57: 163–173 (2004).
35. Ohno Hideaki, Higashidate Masafumi, Yokosuka Tatsuya. Mediastinal Irrigation with Superoxidized Water after Open Heart Surgery: The Safety and Pitfalls of Cardiovascular Application. *Surgery Today* 30: 1055–1056 (2000).
36. Paola Luca Dalla et al. Super-Oxidized Solution (SOS) therapy for Infected Diabetic Foot Ulcers. *Wounds: A Compendium of Clinical Research and Practice* 18(9): 262–270 (2006).
37. Ponzano Gian Pero. Sodium Hypochlorite: History, Properties, Electrochemical Production. Disinfection by Sodium Hypochlorite: Dialysis Application. *Contrib Nephrol. Basel, Karger* 154: 7–23 (2007).
38. Savari Sharath, Sachdeva Sonny, Kumar Anil. Electrolysis of sodium chloride using composite poly(styrene-co-divinylbenzene) cation exchange membranes. *Journal of membrane Science* 310: 246–261 (2008).
39. Schwalbe Richard. Macro and Microdilution Methods of Antimicrobial Susceptibility Testing. *Antimicrobial Susceptibility Testing Protocols*: 75-79(2007).
40. Seligman Marissa, Martyn Jeevendra. Burn Wound Infections. *Acute Management of The Burned Patient*: 288-305(1990).
41. Seto Yasuo. Hypochlorite. *Drugs and Poisons in Human, A Handbook of Practical Analysis*: 403–405 (2005).
42. Shimada Koichi, Ito Koichi, Murai Seida. A Comparison of the bactericidal effects and cytotoxic activity of three types of oxidizing water, prepared by electrolysis, as chemical dental plaque control agents. *International Journal of Antimicrobial Agents* 15: 49–53 (2000).
43. Shimmura Shigeto et al. Acidic Electrolyzed Water in the Disinfection of the Occular Surface. *Exp. Eyes Res* 70: 1–6 (2000).
44. Shirahata Sanetaka et al. Electrolyzed-Reduced Water Scavenges Active Oxygen Species and Protects DNA from Oxidative Damage. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 234: 269–274 (1997).
45. Solis C Landa et al. Microcyn™: a novel super-oxidized water with neutral pH and disinfectant activity. *Journal of Hospital Infection* xx: 1–9 (2005).
46. Spann Candace Thrornto, Weinberg M Jeffrey. Topical Antimicrobial Agents in Dermatology. *Clinics in Dermatology* 21: 70-77(2003).
47. Stahl B Julie, Morse Dan, Parks J Patrick. Resistance of antimicrobial skin preparations to saline rinse using a seeded bacteria model. *AJIC* 35(6): 367–373 (2007).
48. Suparto Pitono, Hariadi R, Koeswadij Hermien Hadiati et al. Etik dan Hukum di Bidang Kesehatan, edisi kedua: 55–75 (2006).
49. Tagawa Masami et al. Inactivation of a Hepadnavirus by electrolysed acid water. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 46: 363–368 (2000).
50. Tamayo J Medina et al. Super-oxidized solution inhibits IgE-antigen-induced degranulation and cytokine release in mast cells. *International Immunopharmacology* 7: 1013–1024 (2007).
51. Tanaka Yoshinobu. Electrolysis. *Ion Exchange Membrane and Applications. Membrane Science and Technology Series* 12: 461–484 (2007).
52. Villapalos Jorge Leon, Jeschke G Marc, Herndon N David. Topical Management of Microorganisms relevant in Veterinary Medicine. *J.Vet.Med* 53: 133–137 (2006).
53. Wright D Gerald. Bacteria resistance to antibiotics: Enzymatic degradation and modification. *Advanced Drug Delivery Reviews* 57: 1451–1470 (2005).
54. Yokoyama Isao et al. Establishment of Gold Standar for Electrolyzed Sodium Chloride Solution in Disinfection. *Bulletin of the Osaka Medical College* 53(1): 11–19 (2007).

