

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah dalam bidang kesehatan yang terus berkembang dari waktu ke waktu. Infeksi disebabkan oleh bakteri, virus, jamur, protozoa dan beberapa kelompok minor lain seperti mikoplasma, dan klamidia (O'toole *et al.*, 2000). Sebagai pertahanan diri, bakteri membentuk suatu lapisan lendir yang disebut dengan biofilm. Biofilm merupakan bentuk struktural dari sekumpulan mikroorganisme yang dilindungi oleh matrik ekstraseluler yang disebut *Extracellular Polymeric Substance* (EPS), EPS merupakan produk yang dihasilkan sendiri oleh mikroorganisme tersebut dan dapat melindungi dari pengaruh buruk lingkungan (Prakash *et al.*, 2003). Beberapa contoh bakteri yang dapat menyebabkan infeksi diantaranya adalah *Staphylococcus aureus*.

Staphylococcus adalah bakteri Gram positif yang berbentuk bulat bergerombol seperti anggur. Jenis *Staphylococcus* yang patogen terhadap manusia salah satunya adalah *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* melekat pada sel mukosa dengan asam teikoat yang terdapat di dinding sel, kemudian paparan di submukosa akan meningkatkan adesi dari fibrinogen, fibronectin, kolagen dan protein lainnya sehingga hal ini akan menghambat fagositosis (Asih, Landia dan Makmuri, 2006). *Staphylococcus* merupakan salah satu bakteri yang mudah mengalami resistensi terhadap antibiotik. Sifat resisten *Staphylococcus* disebabkan oleh penghambatan mekanisme efluks NorA (Kukulowicz and Steinka, 2011).

Biofilm saat ini dianggap sebagai mediator utama infeksi, dengan perkiraan 80 % kejadian infeksi berkaitan dengan pembentukan biofilm

(Archer *et al*, 2011). Hal ini disebabkan pembentukan biofilm pada mikroorganisme dapat meningkatkan toleransi terhadap antimikroba dan disinfektan, sehingga biofilm berperan besar dalam terjadinya resistensi dan penyakit kronis. Terapi antibiotik pada umumnya hanya akan membunuh sel-sel yang bersifat planktonik, sedangkan bentuk bakteri yang tersusun rapat dalam biofilm akan tetap hidup. Hal ini dikarenakan antibiotik tidak dapat menembus lapisan biofilm (Mah dan Toole, 2001).

Berkembangnya resistensi oleh mikroorganisme target menjadi masalah yang terus meningkat. Resistensi mikroba adalah keadaan dimana mikroorganisme berubah sedemikian rupa sehingga menyebabkan obat-obat yang dahulu digunakan untuk pengobatan infeksi menjadi tidak efektif. Beberapa mikroba yang mendapat perhatian saat ini akibat sifat resistensinya antara lain *methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA)*, *vancomycin-resistant Enterococcus (VRE)*, *penicillin-resistant Streptococcus pneumoniae*, *multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa* dan masih banyak lagi (Smith, 2004).

Pengobatan infeksi secara tradisional dilakukan dengan tanaman yang berpotensi besar untuk dimanfaatkan sebagai obat. Hal ini didasari karena sebagian besar tanaman mengandung ratusan senyawa kimia, menurut berbagai hasil pengkajian, dikatakan senyawa kimia yang terkandung dalam tanaman tersebut merupakan bahan dasar dalam pembuatan obat (Sukara, 2000). Penggunaan tanaman sebagai obat telah dilakukan masyarakat Indonesia dan dunia sejak zaman dahulu sebagai salah satu upaya untuk mengatasi masalah kesehatan berdasarkan pengalaman, pengetahuan dan keterampilan yang diwariskan secara turun temurun sampai pada generasi saat ini (Wijayakusuma, 2000).

Obat tradisional dapat menjadi alternatif lain dalam pengobatan infeksi. Senyawa alami yang berpotensi sebagai antibakteri adalah

mengandung steroid, tanin, polifenol, flavonoid (Rahman *et al.*, 2011), alkaloid, saponin (Ahmed *et al.*, 2008). Steroid dibentuk oleh bahan alam yang disebut sterol. Sterol merupakan senyawa yang terdapat pada lapisan malam (lilin) daun dan buah yang berfungsi sebagai pelindung untuk menolak serangga dan serangan mikroba (Cowan, 1999; Kabara, Coley and Truant, 1972). Mekanisme golongan fenol sebagai antibakteri yaitu meliputi penghambatan enzim oleh senyawa teroksidasi kemungkinan melalui reaksi dengan kelompok sulfhidril atau melalui interaksi yang lebih spesifik dengan protein. Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler, melarutkan protein dan membentuk kompleks dengan dinding sel bakteri sehingga akan mengganggu membran sel bakteri. Mekanisme tanin sebagai antibakteri adalah dengan cara menghilangkan kemampuan adesi mikroba dan membentuk ikatan kompleks dengan enzim dan protein transport bakteri. Mekanisme alkaloid sebagai antibakteri melalui interkalasi DNA (penambahan suatu molekul diantara basa DNA) (Cowan, 1999; Kabara, Coley and Truant, 1972). Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dapat menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel Saponin dapat menjadi anti bakteri karena zat aktif permukaannya mirip detergen, akibatnya saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran (Madduluri, Rao, & Sitaram, 2013).

Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antibakteri alami adalah tanaman bintaro (*Cerbera odollam*). Bintaro adalah tanaman mangrove yang termasuk dalam famili *apocynaceae* dan tumbuh secara luas di daerah pesisir selatan Asia Timur dan Samudera Hindia (Cheenpracha *et al.*, 2004). Bagian bijinya sangat beracun, karena mengandung cerberin sebagai kardenolid aktif utama (Gaillard *et al.*, 2004; Kuddus *et al.*, 2011). Ekstrak bintaro dapat dimanfaatkan sebagai analgesik, antikonvulsan,

kardiotonik dan aktivitas hipotensi (Chang *et al.*, 2000). Daun, buah dan kulit batang bintaro mengandung saponin, kulit batangnya mengandung tanin, di samping itu daun dan buahnya juga mengandung polifenol (Salleh, 1997; Tarmadi *et al.*, 2007). Akar bintaro mengandung saponin, tanin, steroid, flavonoid, dan gums (Rahman *et al.*, 2011). Ekstrak metanol biji bintaro mengandung alkaloid, tanin, dan saponin (Ahmad *et al.*, 2008).

Penelitian Ahmad *et al.*, (2008) menunjukkan ekstrak metanol biji bintaro mampu menghambat beberapa bakteri seperti *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus saprophyticus*, *Streptococcus pyogenes*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, dan *Shigella dysenteriae*. Zona hambatan terhadap bakteri *Salmonella typhi* sebesar 15 mm dan *Staphylococcus aureus* sebesar 6 mm, dengan konsentrasi ekstrak 50 µg/mL.

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas dan belum adanya laporan mengenai aktivitas antibakteri dan antibiofilm ekstrak bunga bintaro terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, sehingga pada penelitian ini dilakukanlah uji aktivitas antibakteri dan antibiofilm ekstrak bunga bintaro terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan tujuan menemukan golongan antibakteri baru yang dapat membunuh bakteri dan menghambat pertumbuhan bakteri pembentuk biofilm.

Tahapan penelitian ini dimulai dengan pembuatan simplisia *Cerbera odollam* dikeringkan dan dihaluskan kemudian dilanjutkan dengan ekstraksi menggunakan etanol 96% dengan metode maserasi disertai 4 kali remaserasi menggunakan perbandingan simplisia. Pemilihan etanol sebagai pelarut ekstraksi didasarkan pada sifat etanol 96% yang mudah menguap, tidak toksik, ramah lingkungan, ekonomis dan selektif. Proses maserasi dipilih karena tidak membutuhkan pelarut yang banyak jika dibandingkan dengan perkolasi dan menghilangkan pengaruh suhu yang dapat merusak kandungan senyawa aktif karena maserasi dilakukan pada suhu ruang.

Setelah tahap maserasi, kemudian dilanjutkan dengan penguapan ekstrak untuk mendapatkan ekstrak kental dan selanjutnya dilakukan uji antibakteri menggunakan metode difusi sumuran dan untuk mengetahui senyawa yang berkhasiat sebagai antibakteri dilakukan bioautografi. Konsentrasi yang digunakan untuk uji antibakteri adalah 10%, 20% dan 30% yang merupakan hasil orientasi. Hasil uji difusi diamati daerah jernih kemudian diukur menggunakan jangka sorong yang dianggap sebagai Daerah Hambat Pertumbuhan (DHP) selanjutnya dilakukan uji bioautografi disertai skrining fitokimia untuk mengetahui senyawa ekstrak yang dapat digunakan sebagai antibakteri. Jenis metode bioautografi yang digunakan adalah metode bioautografi kontak lempeng KLT yang berisi totolan ekstrak di difusikan dengan cara menempelkan plat KLT ke dalam media agar yang berisi suspensi bakteri selama 1 jam, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Zona bening pada media agar menunjukkan senyawa antibakteri yang terkandung dalam ekstrak. Kandungan senyawa dalam ekstrak yang mempunyai daya antibakteri dapat dideteksi melalui skrining dengan menggunakan penampak noda. Tahap selanjutnya melakukan uji antibiofilm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 menggunakan *micropate u-bottom* dengan konsentrasi 30%. Hasil uji diamati dengan menggunakan Kristal violet 1% yang dibaca serapan absorbansi di *microplate reader* kemudian dihitung persentase hambat biofilm. Sebagai antibiotik pembanding dipilih tetrasiklin HCl karena mempunyai aktivitas antimikroba spektrum luas dan mudah larut dalam air.

1.2. Perumusan masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan tersebut, maka dapat dirumuskan suatu permasalahan yaitu:

1. Apakah ekstrak etanol bunga bintaro memiliki aktivitas antibiofilm dan antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 ?
2. Apa jenis golongan senyawa ekstrak etanol bunga bintaro yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 ?

1.3. Tujuan Penelitian

1. Mendapatkan data dan informasi dari kemampuan bunga bintaro sebagai antibakteri dan antibiofilm bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538
2. Mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam bunga bintaro yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

1.4. Hipotesa

1. Bunga bintaro aktivitas antibakteri dan antibiofilm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538
2. Golongan senyawa yang terkandung dalam bunga bintaro yang memiliki aktivitas antibakteri adalah polifenol

1.5. Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi yang cukup dari pemanfaatan bunga bintaro sebagai antibakteri dan antibiofilm. Untuk menjelaskan mengenai golongan senyawa dalam ekstrak etanol bunga bintaro yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan metode bioautografi.