

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan masalah yang masih sering terjadi dalam dunia kesehatan. Penyakit infeksi disebabkan oleh mikroorganisme patogen, seperti bakteri, virus, parasit atau fungi, penyakit ini dapat menyebar secara langsung ataupun tidak langsung dari satu orang ke orang lain. Infeksi masuk dalam daftar sepuluh penyebab kematian terbesar di dunia (WHO, 2018).

Dilihat dari sumbernya, infeksi dapat berasal dari komunitas (*community acquired infection*) dan berasal dari lingkungan rumah sakit (*hospital acquired infection*) yang sebelumnya dikenal dengan istilah infeksi nosokomial. Bakteri merupakan patogen yang paling sering menjadi penyebab infeksi nosokomial. *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* merupakan salah satu bakteri penyebab infeksi nosokomial. *Staphylococcus aureus* yang terdapat di kulit dan hidung penderita atau staf rumah sakit dapat menyebar melalui darah dan menyebabkan infeksi di paru-paru, tulang, dan jantung. Bakteri ini juga sering berkembang menjadi kuman yang kebal terhadap antibiotika. *Pseudomonas aeruginosa* yang sering ditemukan di air dan tempat lembab dapat berkembang biak di saluran pencernaan penderita yang sedang rawat inap di rumah sakit (Soedarto, 2016).

Dalam genus *Staphylococcus*, *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri patogen terbesar dimana menyebabkan berbagai macam infeksi mayor dan minor pada manusia maupun binatang. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat (*coccus*) dengan diameter $\pm 1\mu\text{m}$, koloni bakterinya pada umumnya memiliki bentuk menyerupai

anggur. Organisme ini tidak berspora (*non-spora*), tidak dapat bergerak (*non-motile*), dan umumnya tidak memiliki kapsul (*non-capsulate*) (Humphreys, 2007).

Staphylococcus aureus ditemukan di hidung pada 30% orang sehat dan dapat ditemukan pada kulit. Infeksi paling sering terjadi saat daya tahan inang rendah, seperti pada kulit yang terluka atau membran mukosa (Humphreys, 2007). Bakteri ini dapat ditemukan di berbagai tempat dan merupakan penyebab paling umum dari lesi supuratif lokal pada manusia. Kemampuan *Staphylococcus aureus* untuk mengembangkan ketahanan terhadap penisilin dan antibiotik lain menyebabkan mereka menjadi bakteri patogen manusia yang penting, terutama pada lingkungan rumah sakit. *Staphylococcus aureus* merupakan penyebab umum infeksi luka pasca operasi dan infeksi rumah sakit lainnya dan termasuk yang paling kuat dari golongan bakteri nonspora. Dalam kondisi kering, mereka dapat bertahan hidup selama 3-6 bulan. Tahan terhadap pemanasan basah pada suhu 60°C selama 30 menit, tapi mati setelah pemanasan selama 60 menit. Kebanyakan koloni dapat tumbuh pada lingkungan dengan 10% NaCl bahkan ada yang dapat tumbuh dalam 15% NaCl. *Staphylococcus aureus* menyebabkan penyakit melalui invasi langsung dan kerusakan jaringan melalui produksi *toxin* (Kumar, 2012).

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri Gram negatif berbentuk basil, tidak berspora (*non-spora*) dan tidak berkapsul (*non-capsulate*), biasanya bergerak dengan satu atau dua flagella polar. Merupakan bakteri aerob mutlak, tetapi dapat tumbuh pada kondisi anaerob jika terdapat nitrat yang berfungsi sebagai akseptor terminal elektron. Koloni dari *Pseudomonas aeruginosa* memproduksi pigmen yang dapat berdifusi (Govan, 2007).

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri yang hidup bebas di alam, merupakan patogen oportunistik. Menurut CDC, di USA *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri patogen nosokomial nomor empat yang paling banyak diisolasi dari semua infeksi yang didapat di rumah sakit (*hospital-acquired infection*). Sebagai patogen oportunistik, *Pseudomonas aeruginosa* dapat menghambat imunitas hospes dan menimbulkan infeksi pada individu yang lemah imunitas tubuhnya, misalnya penderita diabetes, penderita kanker, dan AIDS. Infeksi *Pseudomonas aeruginosa* menyebabkan masalah kesehatan yang besar bagi penderita kanker, bakteremia pneumonia, fibrosis kistik, meningitis, dan luka terbakar, karena menyebabkan angka kematian yang tinggi pada penderita-penderita ini (Soedarto, 2016).

Pasien dengan luka terbuka dan luka bakar, infeksi oleh *Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan pus berwarna hijau-biru, dan pada jalan nafas dapat menyebabkan pneumonia nekrosis. Infeksi bakteri pada perenang dapat menyebabkan otitis eksterna ringan, dapat menyebabkan otitis eksterna ganas jika terkena pada pasien diabetes. Infeksi pada mata dapat menyebabkan kerusakan mata yang cepat. Dapat menyerang aliran darah dan menyebabkan sepsis fatal. Umumnya kasus infeksi karena *Pseudomonas aeruginosa* tidak memiliki tanda dan gejala yang spesifik (Carol, 2013).

Pseudomonas aeruginosa menunjukkan tingkat resistensi yang tinggi terhadap beberapa senyawa kimia. Tahan terhadap antiseptik dan desinfektan umum seperti senyawa amonium kuartener, kloroksenol, dan heksaklorofan. Memiliki kebutuhan nutrisi yang minimal, memiliki rentang toleransi suhu yang besar ($4^{\circ}\text{C} - 42^{\circ}\text{C}$), dan resisten terhadap banyak antibiotik dan desinfektan (Kumar, 2012). Tingkat resistensi terhadap antibiotik dan desinfektan yang tinggi ini menyebabkan kegagalan

pengobatan sehingga memiliki tingkat kematian yang tinggi pada pasien yang terinfeksi *Pseudomonas aeruginosa*. Banyak penelitian yang melaporkan tingkat kematian karena resistensi *Pseudomonas aeruginosa* terhadap obat.

Antibiotik merupakan terapi pengobatan untuk penyakit infeksi, namun insiden resistensi antibiotik oleh bakteri terus meningkat. Perkembangan penemuan antibiotik tidak berimbang dengan perkembangan resistensi bakteri (Suwanto, 2014). Resistensi bakteri terhadap antibiotik telah menjadi masalah yang serius. Diperkirakan sebanyak 25.000 orang di Eropa meninggal karena infeksi yang disebabkan oleh bakteri multiresisten. Di Amerika Serikat sekitar 2.000.000 orang terinfeksi oleh bakteri yang resisten terhadap antibiotik dan paling sedikit dua puluh tiga ribu orang yang meninggal setiap tahunnya (Centers for Disease Control and Prevention, 2018). Angka kematian akibat resistensi antibiotik di Indonesia pada tahun 2014 tercatat sebesar 700.000 per tahun (Depkes RI, 2016). Hal ini mendorong banyak dilakukannya penelitian untuk menemukan senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri.

Tanaman merupakan salah satu sumber penting dalam bidang pengobatan. Banyak bahan aktif obat-obatan yang berasal dari isolasi tanaman. Indonesia dikenal sebagai negara yang memiliki keanekaragaman hayati, sehingga memiliki potensi yang besar untuk mengembangkan tanaman sebagai obat-obatan tradisional. Permasalahannya adalah diperlukannya bahan baku dalam jumlah yang besar untuk memproduksi obat-obat herbal tersebut sehingga dikhawatirkan sumberdaya hayati ini akan musnah disebabkan adanya kendala dalam budidayanya (Radji, 2005).

Mikroba endofit adalah mikroba yang hidup di dalam jaringan tanaman sehat dan mampu hidup dengan membentuk koloni dalam jaringan tanaman tanpa membahayakan inangnya, mikroba endofit dapat

menghasilkan senyawa biologis atau metabolit sekunder yang sama dengan induknya diduga sebagai akibat dari koevolusi atau transfer genetik (*genetic recombination*) dari tanaman inangnya ke dalam mikroba endofit (Tan dan Zou, 2001). Dari hampir 300.000 spesies tanaman yang ada, setiap tanaman merupakan inang dari satu atau lebih mikroba endofit, tetapi hanya beberapa tanaman yang pernah dipelajari mengenai mikroba endofitnya. Karena itu peluang untuk menemukan mikroba endofit baru menjadi sangat bagus. Melalui beberapa hasil penelitian, endofit diamati dapat menghambat atau membunuh berbagai macam agen penyebab penyakit berbahaya seperti bakteri, jamur, virus, dan protozoa (Strobel dan Daisy, 2003).

Endofit yang diisolasi dari suatu tanaman obat dapat menghasilkan alkaloid atau metabolit sekunder sama dengan tanaman aslinya atau bahkan lebih banyak, sehingga tidak perlu mengambil bagian tanaman asli untuk dijadikan simplisia (Radji, 2005). Berbagai jenis endofit telah berhasil diisolasi dari tanaman inangnya dan telah berhasil dibiakkan dalam media yang sesuai. Metabolit sekunder yang diproduksi oleh mikroba endofit juga telah berhasil diisolasi dan dimurnikan salah satunya adalah *munumbicin* yang dihasilkan oleh endofit *Streptomyces spp. strain* NRRL 30562 yang diisolasi dari tanaman *Kennedia nigricans*, dapat menghambat pertumbuhan *Bacillus anthracis*, dan *Mycobacterium tuberculosis* yang multiresisten terhadap berbagai obat anti tuberkulosis (Castillo *et al.*, 2002).

Daun afrika (*Vernonia amygdalina*) merupakan tanaman yang banyak dikonsumsi sebagai sayuran dan obat tradisional. Tanaman ini dipercaya dapat menyembuhkan berbagai penyakit. Efektifitas tanaman ini sebagai obat diabetes melitus sudah banyak dilaporkan. Selain itu secara tradisional tanaman ini digunakan sebagai anti rematik, anti malaria, anti diare, anti hipertensi, dan untuk mengobati asam urat (Suryati, Dwisari dan Fridhani, 2016). Tanaman ini juga dapat memperlancar sistem pencernaan

serta mengurangi demam. Mengandung komponen aktif kompleks yang memiliki manfaat farmakologis. Akar dan daunnya digunakan untuk mengobati demam, cegukan, masalah ginjal, dan sakit perut. Kulit kayu yang didapatkan dari batang dan akarnya digunakan sebagai *chewsticks* atau sikat gigi di negara Afrika Barat seperti di Kamerun, Ghana, dan Nigeria (Adetunji, Olaniyi dan Ogunkunle, 2013).

Beberapa penelitian terkait dengan efek antimikroba dari daun afrika telah dilakukan. Ekstraksi cara panas menggunakan pelarut etanol menghasilkan ekstrak etanol daun afrika (Ekstrak A) yang memiliki Daerah Hambatan Pertumbuhan (DHP) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 13 mm dan 6 mm terhadap *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi ekstrak 200 mg/mL. Dari proses ekstraksi cara dingin menggunakan pelarut etanol didapat ekstrak (Ekstrak B) yang memiliki DHP sebesar 10,5 mm terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Ekstraksi cara dingin dengan pelarut air menghasilkan ekstrak air (Ekstrak C) yang memiliki DHP sebesar 3,5 mm terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan 7,5 mm terhadap *Staphylococcus aureus*. Terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, ekstrak A memiliki kadar hambat minimum pada konsentrasi 25 mg/mL dengan kadar bunuh minimum pada konsentrasi 50 mg/mL, ekstrak B memiliki kadar hambat minimum pada konsentrasi 30 mg/mL, dan ekstrak C memiliki kadar hambat minimum pada konsentrasi 55 mg/mL. Terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ekstrak A memiliki kadar hambat minimum pada konsentrasi 45 mg/mL dan kadar bunuh minimum pada konsentrasi 125 mg/mL, ekstrak B dan ekstrak C memiliki kadar hambat minimum pada konsentrasi 60 mg/mL (Adetunji, Olaniyi dan Ogunkunle, 2013).

Penelitian antimikroba dari ekstrak daun afrika juga telah dilakukan oleh Johnson, Kolawole dan Olufunmilayo (2015), dimana ekstrak metanol dengan konsentrasi 100 mg/mL memiliki DHP $20 \pm 2,2$

mm terhadap *Staphylococcus aureus* dan $23 \pm 1,2$ mm terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Kadar hambat minimum terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* masing-masing pada konsentrasi 70 mg/mL dan 30 mg/mL. Kadar bunuh minimum terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* masing-masing pada konsentrasi 140 mg/mL dan 60 mg/mL. Penelitian terkait efek antimikroba dari fungi endofit daun afrika pernah dilakukan oleh Okezie *et al.* (2017) dimana pada penelitian tersebut fungi endofit yang didapatkan diekstraksi kemudian ekstraknya diuji efek antimikrobanya secara dilusi pada konsentrasi 1mg/1mL dengan menggunakan pelarut DMSO 100%.

Dalam penelitian ini akan dilakukan isolasi dan karakterisasi fungi endofit dari daun afrika (*Vernonia amygdalina*) yang diharapkan memiliki potensi antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. daun afrika digunakan karena pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Adetunji, Olaniyi dan Ogunkunle (2013) dan Johnson, Kolawole dan Olufunmilayo (2015) didapatkan hasil dimana ekstrak dari daun afrika memiliki efek antibakteri yang lebih baik terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dibandingkan terhadap *Staphylococcus aureus* maupun bakteri Gram negatif lainnya, misalnya *Escherichia coli*. *Pseudomonas aeruginosa* terbukti bisa memiliki sifat resistensi yang dibawa baik oleh plasmid maupun kromosom. *Pseudomonas aeruginosa* menjadi patogen rumah sakit yang paling banyak diisolasi dari spesimen darah (33,3%) dan sekret bronkus (39,1%) pada pasien yang dirawat di ruang ICU, *Pseudomonas aeruginosa* yang diisolasi menunjukkan resistensi yang tinggi terhadap hampir semua antibiotik termasuk golongan aminoglikosid (Adisasmito dan Tumbelaka, 2006). Tingkat resistensi *Pseudomonas aeruginosa* yang tinggi terhadap banyak antibiotik dan sifatnya yang dapat membawa resistensi serta aktivitas ekstrak daun afrika

yang lebih baik terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, hal ini menarik untuk diuji sehingga membuat peneliti tertarik untuk menguji aktivitas antibakteri dari fungi endofit daun afrika terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dibandingkan terhadap bakteri Gram negatif lainnya.

Penelitian tentang efektivitas antibakteri fungi endofit terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* belum pernah dilakukan sebelumnya. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Okezie *et al.* (2017) fungi endofit yang didapatkan dari daun afrika diekstraksi terlebih dahulu dalam etil asetat kemudian baru diujikan secara difusi pada bakteri uji dengan konsentrasi 1mg/ml dalam pelarut DMSO 100%, sedangkan pada penelitian yang akan dilakukan fungi endofit akan langsung diinokulasikan pada media yang telah mengandung bakteri uji. Fungi endofit dipilih karena fungi endofit dapat menghasilkan metabolit sekunder yang sama atau bahkan dalam jumlah yang lebih banyak dibandingkan tanaman induknya (Tan dan Zou, 2001), sehingga tidak diperlukan untuk mengambil bagian tanaman asli dalam jumlah besar untuk dijadikan ekstrak.

Digunakan bagian daun karena kapang endofit yang diperoleh dari daun lebih banyak. Hal tersebut disebabkan karena daun memiliki lapisan kutikula yang tipis dan luas permukaannya besar sehingga lebih banyak kapang endofit yang dapat masuk ke dalam jaringan tanaman (Kumala, 2014). Aktivitas antibakteri dari fungi endofit yang telah diisolasi dari daun afrika diuji terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dapat dilihat dari rasio diameter Daerah Hambatan Pertumbuhan (DHP) yang didapat dari perbandingan rata-rata diameter DHP dan rata-rata diameter fungi endofit. Digunakan antibiotik Siprofloksasin sebagai pembanding, karena siprofloksasin merupakan antibiotik golongan kuinolon yang memiliki sifat spektrum antibakteri untuk melawan bakteri Gram

positif, Gram negatif, dan patogen mikrobakterial anaerob (Pangestika, 2017). Siprofloksasin menunjukkan aktivitas yang baik terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan berpenetrasi dengan baik ke dalam sebagian besar jaringan (Govan, 2007). Penelitian yang dilakukan oleh Johnson, Kolawole dan Olufunmilayo (2015), antibiotik siprofloksasin memiliki sensitifitas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*, dimana dengan konsentrasi sebesar 10 µg didapatkan DHP sebesar 22,2 mm untuk bakteri *Staphylococcus aureus* dan 18,1 mm untuk bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Angka tersebut merupakan angka DHP yang tinggi dalam penelitian tersebut. Dianggap sensitif jika DHP yang didapatkan ≥ 18 mm.

1.2 Perumusan Masalah

1. Apakah fungi endofit dapat diisolasi dari daun afrika (*Vernonia amygdalina*)?
2. Apakah fungi endofit yang diisolasi dari daun afrika (*Vernonia amygdalina*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*?
3. Bagaimana karakteristik fungi endofit yang diisolasi dari daun afrika (*Vernonia amygdalina*)?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui apakah fungi endofit dapat diisolasi dari daun afrika (*Vernonia amygdalina*).
2. Untuk mengetahui apakah fungi endofit yang diisolasi dari daun afrika (*Vernonia amygdalina*) memiliki aktivitas

antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

3. Untuk mengetahui karakteristik fungi endofit yang diisolasi dari daun afrika (*Vernonia amygdalina*).

1.4 Hipotesis Penelitian

1. Fungi endofit dapat diisolasi dari daun afrika (*Vernonia amygdalina*).
2. Fungi endofit yang berasal dari daun afrika (*Vernonia amygdalina*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.
3. Karakteristik fungi endofit yang berasal dari daun afrika (*Vernonia amygdalina*) dapat diketahui

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah ditemukannya fungi endofit yang diisolasi dari daun afrika (*Vernonia amygdalina*) yang berpotensi memiliki aktivitas antibakteri terutama terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* sehingga dapat menjadi alternatif pengobatan terhadap infeksi yang disebabkan oleh bakteri tersebut. Dapat dikembangkan penelitian lebih lanjut mengenai identifikasi senyawa pada fungi endofit yang memiliki aktivitas antibakteri sehingga dapat dikembangkan menjadi formulasi produk sediaan farmasi. Selain itu juga dapat mengurangi penggunaan tanaman dalam jumlah besar untuk diambil metabolit sekundernya.