

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bakteri memiliki dua formasi kehidupan, yaitu formasi sel sesil (sel yang melekat pada permukaan) dan planktonik (Paraje, 2011). Bakteri yang melekat ini akan membentuk mikro koloni, yang akan mengatur perkembangan membentuk biofilm. Pada awalnya mungkin hanya tersusun satu tipe bakteri saja, tetapi seiring perkembangannya akan tersusun beberapa tipe bakteri yang hidup dalam komunitas yang kompleks (Deacon, 1997). Sekitar 99% bakteri berada dalam bentuk sesil dan hanya 1 % dalam bentuk planktonik. Selain itu, biofilm mempunyai keunggulan dibandingkan sel planktonik dimana dia lebih tahan terhadap bahan antimikroba, temperatur, pH dan lainnya sampai beberapa ribu kali. Maka akan sangat efektif bila pengendalian dan pemanfaatan mikroba dilakukan terhadap mikro lingkungan biofilm ini. Kasus infeksi yang berkaitan dengan biofilm diperkirakan sebanyak 65%. Permasalahan biofilm penting ditangani karena bakteri biofilm yang tumbuh dapat menyebabkan infeksi kronis yang resisten terhadap terapi antibiotik dan stressor lainnya (Paraje, 2011).

Infeksi masih menempati urutan teratas penyebab penyakit dan kematian di negara berkembang, termasuk Indonesia. Infeksi dapat disebabkan oleh bakteri, virus, maupun jamur, dan dapat terjadi di masyarakat maupun di rumah sakit (Wahjono, 2007). Infeksi mikroba khususnya yang dapat merugikan manusia dapat dikontrol oleh antimikroba. Mikroba dapat membuat suatu pertahanan dengan membentuk biofilm, yaitu suatu lapisan sel mikroba yang melekat di sebuah permukaan dan

tertanam dalam matriks eksopolisakarida yang dihasilkan sendiri oleh mikroorganisme tersebut (Saad *et al.*, 2013).

Biofilm merupakan bentuk struktural dari sekumpulan mikroorganisme yang dilindungi oleh matrik ekstraseluler yang disebut *Extracellular Polymeric Substance* (EPS), dimana EPS merupakan produk yang dihasilkan sendiri oleh mikroorganisme tersebut dan dapat melindungi dari pengaruh buruk lingkungan. Matrik ini berupa struktur benang-benang bersilang satu sama lain yang dapat berupa perekat bagi biofilm (Prakash, Veeregowda and Krishnappa, 2003).

Biofilm saat ini diakui sebagai mediator utama infeksi, dengan perkiraan 80% kejadian infeksi berkaitan dengan pembentukan biofilm (Archer *et al.*, 2011). Biofilm sebagai pertahanan bakteri sulit diberantas dengan antibiotik dengan demikian bakteri patogen dalam bentuk biofilmnya dapat menimbulkan masalah serius bagi kesehatan manusia (Lee *et al.*, 2013). Selain itu, biofilm bakteri dapat terbentuk pada permukaan sistem perairan alami, pipa air, jaringan tubuh, permukaan gigi, alat medis dan implan. Pembentukan biofilm pada alat medis dan implan seperti kateter, alat katup jantung, alat pacu jantung, sendi buatan, serta lensa kontak menjadi masalah serius di dunia medis (Chen *et al.*, 2013).

Biofilm dari *Staphylococcus aureus* terlihat dalam kasus infeksi kronik seperti ulkus pada kaki penderita diabetes, *venous statis ulcer* dan *pressure sores*. Infeksi luka pada pasien dengan ulkus kronik vena kaki ditemukan kultur positif *Staphylococcus aureus* sebanyak 88-93,3% dari sejumlah infeksi yang ditemukan. Kaki penderita diabetes yang telah terinfeksi *Staphylococcus aureus* memiliki peningkatan dua kali lipat waktu yang dibutuhkan untuk pemulihan (Bowling *et al.*, 2009). Biofilm juga memiliki merupakan penyebab utama infeksi *Indwelling Medical Device* (IMD). Biofilm memiliki kemampuan untuk menghindar dari respon imun

dan peningkatan fenotip resistensi bakteri terhadap resistensi bakteri terhadap antimikroba membuat biofilm dalam kasus IMD sangat sulit untuk ditangani (Pace, Rupp and Finch, 2006).

Biofilm bersifat polimorfik dan perubahan struktur menyesuaikan jumlah nutrisi, yang ditunjukkan oleh percobaan dengan pemberian konsentrasi glukosa yang berbeda. Ketika konsentrasi glukosa tinggi, mikrokoloni tumbuh dengan cepat menghasilkan peningkatan ketebalan biofilm secara signifikan. Ketika konsentrasi glukosa rendah, biofilm berkurang dan struktur sebelumnya diperbaiki (Maric and Vranes, 2007).

Kemampuan pembentukan biofilm merupakan salah satu faktor virulensi *Staphylococcus aureus* yang dapat menyebabkan peningkatan toleransi terhadap antibiotik dan desinfektan serta resistensi terhadap fagositosis dan sel-sel imunokompeten lain (Hoiby *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2013). *Staphylococcus aureus* dilaporkan telah resisten terhadap berbagai antibiotik diantaranya penisilin, oksasilin dan antibiotik beta laktam lainnya (Mardiastuti *et. al.*, 2007).

Selain sulitnya mengobati penyakit terkait biofilm dengan terapi antibiotik konvensional, pengobatan lebih lanjut terhalang oleh resistensi antibiotik yang meningkat di kalangan patogen sehingga menyebabkan peningkatan kesulitan pengendalian penyakit. Resistensi antibiotik pada *Staphylococcus aureus* seperti resistensi metisilin adalah salah satu masalah kesehatan yang paling mendesak. Pendekatan alternatif selain terapi antibiotik konvensional sangat dibutuhkan untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh bakteri pembentuk biofilm (Chen *et al.*, 2013). Oleh karena itu diperlukan senyawa anti pembentukan biofilm.

Bintaro merupakan salah satu tanaman yang memiliki banyak khasiat untuk berbagai pengobatan. Bintaro memiliki banyak khasiat untuk berbagai pengobatan. Bintaro dapat dimanfaatkan sebagai analgesik,

antikonvulsan, kardiotonik, dan antihipertensi (Chang *et al.*, 2000). Di Thailand, kulit kayu bintangoro digunakan sebagai antipiretik, pencahar dan dalam pengobatan disuria. Bagian bunga bintangoro diterapkan untuk mengobati wasir (Khanh, 2001). Penelitian Rahman, Paul dan Rahman (2011) menyatakan bahwa ekstrak metanol akar bintangoro mempunyai aktivitas antibakteri dan diuretik. Ekstrak metanol kulit batang bintangoro menunjukkan aktivitas antioksidan (Kuddus, Rumi dan Masud, 2011). Daun bintangoro juga mempunyai potensi sebagai antikanker (Syarifah *et al.*, 2010).

Biji bintangoro kebanyakan bersifat toksik yang mengandung cerberin sebagai kardenolid utama (Lapphokhieo *et al.*, 2004). Tanaman bintangoro memiliki 50% kasus tanaman toksik dan 10% total kasus toksisitas di Kerala, India (Gailard, Krishnomoorthy and Bevalot).

Hasil uji toksisitas ekstrak total *n*-heksana dan metanol diperoleh nilai LC₅₀ 11,50 ppm dan 9,33 ppm, ini menunjukkan bahwa ekstrak total metanol bersifat sangat toksik. Serta adanya kemampuan ekstrak total metanol untuk membunuh 50% hewan uji karena suatu sampel dianggap toksik terhadap uji kematian larva udang jika konsentrasi maksimum 1.000 ppm dengan LC₅₀ ≤ 500 ppm (Zetra & Parasetya, 2007). Aktivitas toksisitas dari ekstrak total metanol diduga karena adanya senyawa aktif yang bersifat toksik.

Penelitian Rahman, Paul dan Rahman (2011) terhadap ekstrak metanol akar bintangoro mempunyai aktivitas antibakteri pada beberapa bakteri Gram positif dan Gram negatif. Penelitian Ahmed *et al.*, (2008) menunjukkan ekstrak metanol biji bintangoro mampu menghambat beberapa bakteri seperti *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus saprophyticus*, *Streptococcus pyogenes*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, dan *Shigella dysenteriae*.

Daun dan buah bintaro juga mengandung polifenol, disamping itu kulit batangnya mengandung tanin (Salleh, 1997; Tarmadi *et al.*, 2007). Golongan senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak daun bintaro (*Cerbera odollam* Gaertn.) dengan pelarut etanol 70% yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* dengan metode bioautografi adalah fenolik dan kardenolida (Wulandari, 2014).

Penelitian Wulandari (2014), uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% daun bintaro (*Cerbera odollam* Gaertn.) terhadap *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* menggunakan beberapa konsentrasi yakni 0,25%, 0,5%, 1%, 2% dan 4%. KHM yang didapatkan dari penelitian Wulandari (2014) tersebut adalah KHM dengan konsentrasi 4%. Pengujian aktivitas anti bakteri dari penelitian Wulandari (2014) menggunakan metode dilusi padat.

Strategi yang dapat dilakukan dalam mengatasi permasalahan biofilm adalah dengan menggabungkan agen antimikroba dengan zat yang mampu merusak lapisan permukaan pertumbuhan bakteri. Permasalahan biofilm dapat dikendalikan dengan strategi antimikroba secara kimia, fisika, dan biologi (Cortés *et al.*, 2011). Antibiotik yang dilaporkan memiliki sifat yang sensitif terhadap *Staphylococcus aureus* adalah tetrasiklin dengan konsentrasi 8 mg/L (Samiullah *et al.*, 2014).

Persen rendemen yang dihasilkan pada ekstraksi daun bintaro (*Cerbera odollam* Gaertn.) dengan menggunakan pelarut pelarut etanol 10,53%, etil asetat sebesar 5,35%, pelarut heksan sebesar 2,08%. (Hashim *et al.*, 2009).

Berdasarkan uraian di atas dan belum adanya penelitian mengenai aktivitas antibiofilm ekstrak etanol daun bintaro (*Cerbera odollam* Gaertn.) maka pada penelitian ini akan dilihat efek pemberian ekstrak daun bintaro

(*Cerbera odollam* Gaertn.) terhadap pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. Daun bintaro (*Cerbera odollam* Gaertn.) dikeringkan, dihaluskan menjadi serbuk simplisia, distandarisasi dan kemudian diekstraksi dengan etanol hingga didapatkan ekstrak. Ekstrak distandarisasi secara spesifik dan nonspesifik kemudian dilanjutkan dengan skrining fitokimia metode tabung. Ekstrak etanol daun bintaro (*Cerbera odollam* Gaertn.) dibagi menjadi beberapa konsentrasi berdasarkan penelitian Wulandari (2014) dan diuji aktivitasnya sebagai antibakteri dengan metode difusi sumuran dan mikrodilusi kemudian diuji aktivitas antibiofilm dengan metode *Microtiter Plate Assay*. Aktivitas antibakteri metode difusi dapat dilihat melalui Daerah Hambat Pertumbuhan (DHP), aktivitas antibakteri metode mikrodilusi dapat dilihat dari Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) sedangkan pada aktivitas antibiofilm dapat dilihat dari % penghambatan biofilm. Dilakukan dengan mengamati luas DHP pada metode difusi, KHM dan KBM pada metode mikrodilusi dan % penghambatan biofilm pada metode pengujian antibiofilm.

1.2 Rumusan Masalah

- a. Apakah ekstrak etanol daun bintaro (*Cerbera odollam* Gaertn.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*?
- b. Apakah ekstrak etanol daun bintaro (*Cerbera odollam* Gaertn.) dapat menghambat pertumbuhan biofilm *Staphylococcus aureus* ?
- c. Apa jenis golongan senyawa ekstrak etanol daun bintaro (*Cerbera odollam* Gaertn.) ?

1.3 Tujuan Penelitian

- a. Untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun bintaro (*Cerberra odollam* Gaertn.) terhadap *Staphylococcus aureus*.
- b. Untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol daun bintaro (*Cerberra odollam* Gaertn.) dalam menghambat pertumbuhan biofilm *Staphylococcus aureus*.
- c. Untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang ada pada ekstrak etanol daun bintaro (*Cerberra odollam* Gaertn.).

1.4 Hipotesis Penelitian

- a. Ekstrak etanol daun bintaro (*Cerberra odollam* Gaertn.) memiliki aktivitas antibakteri.
- b. Ekstrak etanol daun bintaro (*Cerberra odollam* Gaertn.) memiliki aktivitas sebagai antibiofilm.
- c. Senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etanol daun bintaro (*Cerberra odollam* Gaertn.) dapat diketahui.

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai aktivitas ekstrak daun bintaro (*Cerberra odollam* Gaertn.) dalam mencegah pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* dan untuk penelitian selanjutnya guna mengembangkan ilmu pengetahuan.