

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan penyebab paling utama tingginya angka kesakitan dan angka kematian terutama pada negara berkembang seperti Indonesia. Penyakit infeksi merupakan suatu penyakit yang disebabkan karena adanya mikroba patogen (Darmadi, 2008). Infeksi adalah proses invasi mikroorganisme patogen didalam tubuh yang mampu menyebabkan sakit (Potter dan Perry, 2005). Salah satu penyebab infeksi adalah bakteri (Radji, 2011).

Mikroorganisme mampu berdiferensiasi dan berkembang biak dengan cara kompleks dalam membentuk morfologi baru yang tumbuh pada permukaan yang dikenal sebagai biofilm (O'toole, Kaplan and Kolter, 2000). Biofilm adalah sekelompok mikroorganisme di mana sel-selnya saling terikat satu sama lain dan dapat melakukan komunikasi antar sel melalui matriks polisakarida. Karies gigi, luka diabetes (gangren) dan infeksi muskuloskeletal merupakan beberapa contoh infeksi yang disebabkan oleh biofilm. Pada infeksi kronis, biofilm memiliki peranan yang sangat penting dalam mempertahankan bakteri dan menyebabkan resistensi terhadap terapi antibiotik yang diberikan. Struktur alami biofilm dapat melindungi sel-selnya terhadap agen antimikroba dan mampu mempertahankan sel host-nya. Komunitas mikroba didalam biofilm juga dapat melindungi diri dari beberapa kondisi buruk seperti kekeringan, syok osmotik, radiasi sinar UV dan paparan senyawa toksik (Paraje, 2011).

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan golongan bakteri Gram positif yang berbentuk bulat biasanya tersusun dalam rangkaian tidak beraturan seperti buah anggur (Jawetz, Melnick dan Adelberg, 2005).

Bakteri ini ditemukan secara alami pada kulit dan dalam nasofaring dari tubuh manusia. Bakteri ini dapat menyebabkan infeksi lokal pada kulit, hidung, uretra, vagina dan saluran pencernaan (Harris, Foster and Richards, 2002). Infeksi yang lebih berat diantaranya pneumonia, mastitis, plebitis, meningitis, infeksi saluran kemih, osteomielitis dan endokarditis (Warsa, 1994). Bakteri *Staphylococcus aureus* dilaporkan sebagai penyebab infeksi pada luka diabetik (gangren) (Abidin, 2013). Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat menghasilkan biofilm seperti pada infeksi muskuloskeletal dan pada alat kesehatan buatan yaitu artifisial pinggul prostetik, kateter vena sentral, katup jantung prostetik dan kateter urin (Shadia and Aeron, 2014).

Indonesia adalah negara tropis yang memiliki kekayaan alam melimpah terutama keanekaragaman tumbuhan yang dapat dikembangkan menjadi sumber obat tradisional. Salah satu tanaman yang banyak dimanfaatkan masyarakat Indonesia adalah teki (*Cyperus rotundus* L.) (Sudarsono dkk., 1996). Rumput teki tumbuh secara meluas di area Mediterania, tanaman ini tumbuh alami pada daerah tropis maupun subtropis seperti Timur Laut, Timur Tengah, dan Asia Tenggara (Nima *et al.*, 2007). Rumput teki mempunyai khasiat yang berbeda-beda pada beberapa bagian tanamannya, seperti daun, biji dan umbinya. Daun yang segar dan bijinya sering digunakan terutama untuk sistem pencernaan, seperti meningkatkan nafsu makan, menghilangkan nyeri lambung dan sebagai ekspektoran. Daun teki secara umum digunakan sebagai penyedap rasa pada negara Timur Tengah dan Asia Tenggara (Nima *et al.*, 2007).

Umbi adalah organ tumbuhan yang mengalami perubahan ukuran dan bentuk sebagai akibat dari perubahan fungsinya. Organ tumbuhan yang dapat membentuk umbi terutama akar dan batang atau modifikasi keduanya, hanya sedikit kelompok tumbuhan yang membentuk umbi melibatkan daunnya. Umbi biasanya terbentuk tepat dibawah permukaan tanah,

meskipun dapat pula terbentuk jauh didalam tanah maupun diatas permukaan tanah. Peran vital umbi adalah sebagai tempat penyimpanan cadangan makanan, penyerapan air dan nutrisi, alat sitasan atau bertahan hidup (*survival*) dan alat perbanyak secara vegetatif. Umbi menyimpan pati, gula, dan berbagai metabolit sekunder yang memiliki nilai gizi atau berkhasiat sebagai pengobatan bagi manusia, namun ada juga yang berbahaya atau beracun bila dimakan. Umbi dapat dibedakan berdasarkan organ pembentuknya. Istilah “*tuber*” yang berarti “pembengkakan” digunakan untuk umbi yang terbentuk dari akar dan batang, sedangkan modifikasi batang dan daun sebagai tempat penyimpanan makanan yaitu dalam bentuk umbi lapis (*bulbus*) (Tjitrosoepomo, 2011). Umbi teki dalam penelitian ini termasuk modifikasi umbi akar dan batang karena terbentuk dari batang dibawah permukaan tanah maupun dari akar didalam tanah. Setiap umbi teki mempunyai mata tunas yang akan menjadi umbi baru yang terbentuk dalam jumlah banyak dan membentuk rangkaian (Mercado, 1979).

Umbi teki dapat digunakan sebagai obat demam, arthritis, diuretik, diare, disentri, leprosi, bronkhitis dan kelainan darah (Srivastava *et al.*, 2014). Umbi teki sejak dahulu diketahui dapat mengobati dismenorea dan haid yang tidak teratur. Umbi teki juga dapat digunakan sebagai analgesik, sedatif, antispasmodik dan antipiretik (Nima *et al.*, 2007). Ekstrak alkohol 70% umbi teki menghasilkan aktivitas anti-inflamasi dengan konsentrasi 47,3% terhadap udem pada tikus albino yang diinduksi karagenan dan konsentrasi 35,6% terhadap artritis pada tikus albino yang diinduksi formaldehid (Sundaram, Sivakumar and Balamurugan, 2008). Lahariya dan Rao (1979) menyatakan adanya aktivitas antimikroba dari siperol pada minyak atsiri umbi teki. Dhiksit dan Husain (1984) melaporkan adanya aktivitas antijamur dari minyak atsiri umbi teki terhadap mikroba patogen.

Kegunaan umbi teki lainnya adalah sebagai obat busung lapar, keputihan, kolera, melunakkan *feces*, mempercepat pembekuan darah, dan kuku bernanah (Achyad dan Rasyidah, 2000).

Strategi yang dapat dilakukan untuk mengatasi permasalahan biofilm adalah dengan pengobatan menggunakan antimikroba disertai dengan menggunakan zat kimia yang mampu menghambat atau merusak lapisan biofilm tersebut, sehingga antimikroba dapat mencapai target dan membunuh bakteri (Cortés *et al.*, 2011). Pada penelitian ini, minyak atsiri yang terkandung dalam umbi teki diharapkan mampu mengatasi permasalahan biofilm. Minyak atsiri merupakan salah satu hasil proses metabolisme dalam tanaman yang disintesis dalam sel kelenjar pada jaringan tanaman dan ada juga yang terbentuk dalam pembuluh resin misalnya minyak terpentin dalam pinus. Di dalam tanaman, minyak atsiri terdapat pada bagian-bagian tertentu antara lain bunga, biji, daun, batang, kulit batang, akar, rimpang dan buah (DepKes RI, 1985). Minyak atsiri atau dikenal juga sebagai minyak eteris (*aetheric oil*)/minyak esensial/minyak aromatik adalah kelompok besar minyak nabati yang berwujud cairan kental pada suhu ruang, namun mudah menguap sehingga memberikan aroma yang khas (Robbers, Speedie and Tyler, 1996). Minyak atsiri yang terkandung dalam umbi teki yaitu sekitar 0,5 – 1 % (Srivastava *et al.*, 2014). Menurut Achyad dan Rasyidah (2000) umbi teki mengandung minyak atsiri sebanyak 0,3 – 1 % yang isinya bervariasi, tergantung daerah asal tumbuhnya. Chowdhary dan Gupta (1998) menginvestigasi kandungan kimia pada minyak atsiri umbi teki dan menemukan hidrokarbon utama yaitu : mirsen (0,5%), α - pinen (1,2%), β -pinen (14,18%), patkulon (9,27%), siperen (17,17%), β -selinen (4,26%), isopatkulen (2,7%), longifolen oksida (24,61%), alkohol : spatulenol (4,85%), patkulanol

(1,8%), siperol (2,0%), alkohol seskuitepen, aldehid : sitral (6,14%), dan keton : aristolon (7,29%), siperolon (0,05%).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Bisht *et al.* (2011) minyak atsiri umbi teki diperoleh dengan cara hidrodestilasi menggunakan pelarut eter selama 6-7 jam, lalu dikeringkan dengan Na_2SO_4 dan eter diuapkan pada suhu ruang. Isolasi minyak atsiri menggunakan metode hidrodestilasi ini menghasilkan rendemen sebesar 0,2% dengan karakteristik minyak atsiri berwarna kuning dan berbau khas teki. Skrining aktivitas antibakteri minyak atsiri dilakukan terhadap beberapa bakteri yaitu *Bacillus subtilis* MTCC 121, *Micrococcus luteus* MTCC 106, *Staphylococcus aureus* MTCC 2940, *Escherichia coli* MTCC 2939, *Pseudomonas aeruginosa* MTCC 424, *Klebsiella sp.* MTCC 109. Penentuan aktivitas antibakteri ini menggunakan metode difusi cakram dengan media NA (*Nutrient Agar*) yang telah berisi 0,1 mL suspensi bakteri. Pada kertas cakram steril diisikan minyak atsiri umbi teki konsentrasi 100%; 50%; 25%; 12,5% dan 6,25% sebanyak 10 μL dan diletakkan pada permukaan media NA pada cawan petri. Kontrol pembanding antibiotik yang digunakan yaitu kloramfenikol (30 $\mu\text{g/ml}$) dan kontrol negatif yaitu tween 20 masing-masing sebanyak 10 μL . Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, kemudian zona hambat pertumbuhan bakteri diamati dan diukur. Skrining aktivitas antibakteri minyak atsiri umbi teki terhadap *Staphylococcus aureus* konsentrasi 100%; 50%; 25% dan 12,5% memberikan zona hambat sebesar 18 mm; 16 mm; 10 mm; 8 mm, sedangkan konsentrasi 6,25% tidak memberikan zona hambat. Zona hambat yang dihasilkan terhadap *Bacillus subtilis* dengan konsentrasi 100% dan 50% yaitu 20 mm dan 12 mm. Pada *Escherichia coli* dihasilkan zona hambat pada konsentrasi 100% dan 50% yaitu 18 mm dan 10 mm; *Pseudomonas aeruginosa* konsentrasi 100% yaitu 15 mm, *Micrococcus luteus* dan *Klebsiella sp.* konsentrasi 100% memberikan zona hambat yaitu

12 mm. Pada penelitian ini minyak atsiri umbi teki juga mempunyai aktivitas antifungi terhadap *Candida parapsilosis* and *Aspergillus fumigatus*. Minyak atsiri umbi teki juga dapat menghambat pembentukan spora dari *fusarium oxysporum* dan *Aspergillus flavus* (Bisht *et al.*, 2011).

Penelitian aktivitas antibakteri minyak atsiri umbi teki yang lain dilakukan oleh Nima *et al.* (2007) menunjukkan bahwa minyak atsiri umbi teki memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* dan *Streptococcus pyogenes*. Isolasi minyak atsiri umbi teki menggunakan destilasi uap air terhadap 20 gram serbuk umbi teki dengan berbagai macam pelarut yaitu etanol, etil asetat, metanol dan kloroform masing-masing sebanyak 150 mL selama 30 menit. Minyak atsiri dan air dipisahkan menggunakan corong pisah, kemudian ditambahkan xilen untuk menarik minyak atsiri. Rendemen minyak atsiri yang didapat dengan menggunakan pelarut etanol yaitu sebesar 65%, pelarut etil asetat sebesar 37%, pelarut metanol sebesar 72% dan pelarut kloroform sebesar 60%. Kultur bakteri diperoleh dari mulut, luka dan urin dari pasien yang dilakukan oleh laboratorium kesehatan. Mikroorganisme kemudian diidentifikasi menggunakan metode pengecatan gram dan uji biokimia. Beberapa kultur bakteri: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* diisolasi dari mulut, *Pseudomonas aeruginosa* diisolasi dari luka dan *Proteus vulgaris* diisolasi dari sampel urin. Masing-masing isolat bakteri ditumbuhkan pada media NA selama 24 jam, kultur bakteri dipreparasi dengan menginokulasi 2-3 koloni bakteri ke dalam 2-3 mL media Nutrient Broth (NB) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kultur bakteri tersebut diencerkan dengan media NB untuk disamakan kekeruhannya dengan larutan standar MacFarland hingga 10^8 cfu/mL. Kadar Hambar Minimum (KHM) ditentukan menggunakan metode dilusi dengan

konsentrasi 40; 35; 30; 25; 20; 15; 10; 7,5; 5; 2,5% (g/dL). KHM ditentukan dari konsentrasi terendah minyak atsiri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. KHM yang diperoleh yaitu pada konsentrasi 35% mampu menghambat pertumbuhan bakteri terhadap *Streptococcus pyogenes*; konsentrasi 30% terhadap *Klebsiella pneumoniae*; konsentrasi 25% terhadap *Escherichia coli*; konsentrasi 15% terhadap *Staphylococcus aureus*; minyak atsiri umbi teki tidak memberikan efek penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Proteus vulgaris*. Uji aktivitas antibakteri juga dilakukan dengan metode difusi, sebanyak 0,1 mL dari suspensi bakteri 10^8 cfu/mL diusapkan diatas media NA menggunakan *cotton swab* steril. Pada kertas cakram steril (Whatman no.1) diisikan 0,1 mL minyak atsiri konsentrasi 40; 35; 30; 25; 20; 15; 10; 7,5; 5; 2,5% (g/dL), kemudian diletakkan diatas media NA yang berisi suspensi bakteri dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 14-16 jam. Zona hambat diukur dari ujung luar zona bening hingga ujung kertas cakram. Pada konsentrasi 40; 35; 30; 25; 20; 15% memberikan nilai zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus* berturut-turut sebesar 4; 3; 3; 2; 1; 1 mm; konsentrasi 40; 35; 30; 25% terhadap *Klebsiella pneumonia* dan *Escherichia coli* memberikan zona hambat sebesar 3; 2; 1; 1 mm; konsentrasi 40% dan 35% terhadap *Streptococcus pyogenes* memberikan zona hambat sebesar 2 mm dan 1 mm; sedangkan *Pseudomonas aeruginosa* dan *Proteus vulgaris* resisten terhadap minyak atsiri umbi teki.

Penelitian tentang aktivitas antibiofilm minyak atsiri umbi teki (*Cyperus rotundus* L.) belum banyak dilakukan. Oleh sebab itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi aktivitas antibakteri dan antibiofilm minyak atsiri umbi teki terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini dimulai dengan melakukan identifikasi dan determinasi umbi teki, kemudian umbi teki didestilasi dengan pelarut akuades menggunakan alat

Stahl untuk memperoleh minyak atsiri. Minyak atsiri yang diperoleh selanjutnya dikarakterisasi, meliputi; organoleptis, indeks bias dan profil kromatogram dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Minyak atsiri umbi teki yang telah dikarakterisasi kemudian diuji aktivitas antibakteri dan antibiofilm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan metode mikrodilusi. Metode mikrodilusi pada pengujian aktivitas antibakteri digunakan untuk menentukan nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM). Kadar Hambat Minimum (KHM) adalah konsentrasi terendah suatu senyawa yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri sebesar $\geq 90,0\%$ atau hanya tersisa $\leq 10,0\%$ dari koloni bakteri. Kadar Bunuh Minimum (KBM) adalah konsentrasi terendah suatu senyawa yang mampu membunuh bakteri sebesar $\geq 99,9\%$ atau hanya tersisa $\leq 0,1\%$ dari koloni bakteri (Forbes, Sahm and Weissfeld, 2007). Minyak atsiri umbi teki diuji aktivitas antibiofilm dengan metode mikrodilusi untuk menentukan % penghambatan biofilm.

1.2 Rumusan Masalah

- a. Berapa nilai kadar hambat minimum (KHM) dan kadar bunuh minimum (KBM) minyak atsiri umbi teki terhadap *Staphylococcus aureus*?
- b. Berapa nilai % penghambatan biofilm minyak atsiri umbi teki terhadap *Staphylococcus aureus*?

1.3 Tujuan Penelitian

- a. Untuk mengetahui nilai kadar hambat minimum (KHM) dan kadar bunuh minimum (KBM) minyak atsiri umbi teki terhadap *Staphylococcus aureus*.

- b. Untuk mengetahui nilai % penghambatan biofilm minyak atsiri umbi teki terhadap *Staphylococcus aureus*.

1.4 Hipotesis Penelitian

- a. Minyak atsiri umbi teki memberikan Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) pada uji antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.
- b. Minyak atsiri umbi teki memberikan nilai % penghambatan biofilm terhadap *Staphylococcus aureus*.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat mendukung dan melengkapi bukti ilmiah mengenai potensi minyak atsiri yang terkandung dalam umbi teki (*Cyperus rotundus* L.) sebagai antibakteri dan antibiofilm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan dapat menjadi alternatif pengobatan infeksi, terutama infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*.