

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Gangren merupakan komplikasi kronik dari infeksi kaki pada penderita diabetes mellitus yang berwarna merah kehitaman, berbau busuk dan berkembang saat sistem kekebalan tubuh yang menurun (Tjokprawiro, 2007; Waspaji, 2006). Di Indonesia, banyak sekali pasien yang melakukan amputasi akibat infeksi kaki yang kronis ini. Menurut Boulton, Krisner, dan Vileykite (2004), infeksi kaki pada penderita diabetes melitus atau kaki diabetik merupakan destruksi jaringan ikat yang berhubungan dengan neuropati dan vaskuler perifer pada tungkai bawah. Berbagai jenis bakteri yang menyebabkan infeksi gangren adalah gabungan bakteri aerob (Gram positif, yaitu *Klebsiella sp.*, *Proteus mirabilis* dan Gram negatif, yaitu *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*) dan bakteri anaerob (Drecoli dkk, 2007). Bakteri tersebut masuk dan menyebar dengan cepat dan menyebabkan kerusakan berat pada jaringan (Brand, 2000).

Staphylococcus aureus merupakan bagian dari genus *Staphylococcus*. *Staphylococcus aureus* merupakan flora normal yang ada di tubuh manusia. Menurut Haris *et al.* (2002), *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan infeksi pada kulit, hidung, uretra, vagina, dan saluran pencernaan, *Staphylococcus aureus* dapat membentuk biofilm. Biofilm merupakan komunitas bakteri yang saling berkomunikasi dan melekat pada permukaan inert. Menurut Paraje *et al.* (2011), biofilm terdapat dalam matriks yang tersusun atas polisakarida, protein dan DNA dari mikroba. Terapi antibiotik hanya membunuh sel-sel bakteri planktonik, sedangkan bakteri yang membentuk biofilm tetap hidup (Melchoir, Vaarkamp, and

Gremmels, 2006). Sifat struktural dan karakteristik dari sel biofilm yang menyebabkan resisten terhadap antibiotik dan obat-obatan antimikroba. Resistensi biofilm terhadap pengobatan antibiotik sering mengakibatkan kegagalan kemoterapi dan infeksi kronis berkelanjutan sehingga pertumbuhan biofilm perlu dihambat atau dicegah. Pengendalian, pencegahan bakteri masuk sel adhesi, pengurangan produksi polisakarida, dan gangguan komunikasi sel ke sel yang terlibat dalam pembentukan biofilm adalah strategi biofilm yang efektif untuk penghilangan atau penghambatan biofilm (John, Mark, Roger, 2006).

Penelitian tentang antibiofilm di Indonesia masih minim atau sedikit. Menurut Davis *et al.* (2008), *Staphylococcus aureus* biofilm banyak terlibat dalam kasus infeksi luka kronis. Penelitian yang dilakukan mengisolasi luka dari pasien infeksi luka kronis dan hasil yang didapatkan positif 88-93% adalah *Staphylococcus aureus* biofilm. Penelitian aktivitas antibiofilm dengan menggunakan bahan alam dapat dilakukan, salah satunya adalah dengan menggunakan madu. Menurut Alandejani *et al.* (2011), madu jenis Sidr dan Manuka dapat menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri *planktonically Methicillin-Susceptible Staphylococcus aureus* (MSSA), dan *planktonically Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Menurut penelitian, madu Sidr dapat menghilangkan 7 dari 11 biofilm MSSA dan 8 dari 11 biofilm MRSA. Madu Manuka dapat menghilangkan 9 dari 11 biofilm MSSA dan 10 dari 11 biofilm MRSA.

Pengobatan infeksi ada beberapa cara, mulai dari obat-obatan sintetik hingga pengobatan menggunakan bahan alam. Banyak peneliti menemukan kandungan zat aktif dalam tanaman yang bisa digunakan untuk pengobatan infeksi baik membunuh dan menghambat bakteri. Kelengkeng (*Euphoria longan* Lour. Steud.) merupakan tanaman yang banyak

ditemukan di Indonesia dan telah dimanfaatkan untuk berbagai pengobatan. Beberapa bagian tanaman kelengkeng telah mengalami pengujian dan diyakini memiliki daya antibakteri pada beberapa spesies bakteri dan jamur, seperti bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger* (Santi, Muhtadi, dan Indrayudha, 2010). Salah satu bagian tanaman kelengkeng yang memiliki daya antibakteri adalah biji kelengkeng (*Euphoria longan* Lour. Steud.). Biji kelengkeng mengandung senyawa fenolik seperti corilangin, asam galat, asam ellagat, dan senyawa bioaktif lainnya (Soong dan Barlow, 2005).

Dalam Penelitian Santi, Muhtadi, dan Indrayudha (2010), ekstrak etanol 95% biji kelengkeng dan kulit kelengkeng dilarutkan dalam Dimetilsulfoksida (DMSO). Pemilihan pelarut DMSO dilakukan berdasarkan pengujian kelarutan ekstrak etanol biji dan kulit kelengkeng terhadap beberapa pelarut dan *suspending agent* (air, DMSO dan CMC Na). Hasil yang didapat dari pengujian tersebut, yaitu DMSO 2,5% dapat melarutkan ekstrak etanol 95% biji kelengkeng dan DMSO 2% dapat melarutkan ekstrak etanol 95% kulit kelengkeng. Ekstrak etanol biji dan kulit kelengkeng diuji aktivitas antibakteri dengan metode dilusi. Metode dilusi digunakan untuk mengetahui konsentrasi kadar bunuh minimum. Hasil dari uji aktivitas antibakteri untuk ekstrak etanol 95% kulit kelengkeng pada konsentrasi 0,25% sampai 4% belum menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, sedangkan ekstrak etanol 95% biji kelengkeng pada konsentrasi 2% sampai 8% memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Pada hasil profil KLT dalam ekstrak etanol 95% biji kelengkeng terdapat senyawa fenolik (tanin dan flavonoid), saponin dan minyak atsiri. Senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dalam ekstrak etanol biji kelengkeng adalah flavonoid (Santi, Muhtadi, dan Indrayudha, 2010).

Mekanisme antibakteri dari flavonoid adalah mampu membentuk senyawa kompleks pada protein yang dapat mengganggu integritas membran sel (Sabir, 2005). Menurut Akiyama *et al.* (2001), tanin mampu merusak membran sel bakteri karena adanya senyawa adstringen yang mampu menginduksi pembentukan kompleks senyawa ikatan terhadap enzim atau substrat dari mikroba itu.

Berdasarkan penelitian di atas, dapat diasumsikan bahwa biji kelengkeng memiliki banyak khasiat, salah satunya adalah sebagai antibakteri. Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan dari penelitian Santi, Muhtadi, dan Indrayuda (2010) untuk selanjutnya dilakukan proses fraksinasi terhadap ekstrak etanol biji kelengkeng yang memiliki potensi sebagai antibakteri dan antibiofilm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Fraksinasi dilakukan untuk menentukan fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri dan antibiofilm yang paling baik. Pemilihan fraksinasi diharapkan dengan konsentrasi yang lebih kecil dari konsentrasi ekstrak total dapat memiliki aktivitas antibakteri. Hal ini dapat dibuktikan dari penelitian Ardani (2013) yang mengatakan bahwa fraksi yang paling aktif sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dari fraksinasi daun salam adalah fraksi etil asetat dengan konsentrasi kadar hambat minimum (KHM) 1,56% dan kadar bunuh minimum (KBM) 3,3%, sedangkan menurut Sari (2012) ekstrak etanol daun salam mempunyai daya antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 10%.

Pada penelitian ini akan dilakukan proses ekstraksi dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Etanol merupakan pelarut universal yang dapat melarutkan senyawa polar maupun senyawa non polar (Handoko, 1995). Metode ekstraksi dengan maserasi dilakukan karena mudah, peralatan yang digunakan sederhana dan tidak mengalami pemanasan sehingga sesuai untuk senyawa yang tidak tahan panas (Agoes,

2007). Ekstrak cair yang didapatkan diuapkan hingga menjadi ekstrak kental. Hasil maserasi yang didapatkan kemudian diuji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dengan konsentrasi 10.000 ppm, 20.000 ppm, 40.000 ppm, 100.000 ppm dan dilakukan fraksinasi.

Metode fraksinasi yang digunakan adalah fraksinasi cair-cair dengan tiga pelarut yang berbeda. Sistem pelarut yang digunakan adalah pelarut yang bersifat non polar (*n*-heksan), pelarut yang bersifat semipolar (etil asetat), pelarut yang bersifat polar (air). Proses fraksinasi dilakukan untuk mendapatkan kelompok senyawa berdasarkan kepolaran (Harborne, 1987). Hasil fraksinasi yang didapatkan, kemudian dilarutkan dalam DMSO 2,5% dan diuji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi untuk menentukan daya hambat pertumbuhan (DHP) bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi aktif yang didapatkan dari uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji kelengkeng dan pembanding tetrasiklin. Tetrasiklin merupakan antibiotik yang bersifat bakteriostatik dan mempunyai kemampuan untuk menghambat dan membunuh bakteri Gram positif dan Gram negatif (Tjay dan Rahardja, 2007). Pemilihan tetrasiklin sebagai pembanding karena tingkat kepekaan tetrasiklin terhadap *Staphylococcus aureus* adalah 67,9% (245 jumlah bakteri dari 361 jumlah bakteri) (Lestari, dan Severin, 2009). Uji antibiofilm dilakukan setelah uji antibakteri, uji antibiofilm dilakukan dengan menggunakan *Microplate U-Bottom 96 well* dan metode mikrodilusi. Hasil yang didapatkan untuk menentukan persen penghambatan biofilm dengan menggunakan konsentrasi awal yang didapatkan dari uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji kelengkeng. Pemilihan konsentrasi yang paling aktif diharapkan dengan konsentrasi besar berdasarkan penelitian Santi, Muhtadi, dan Indrayudha (2010) dapat memiliki aktivitas antibakteri dan antibiofilm.

Hasil yang di dapat adalah fraksi aktif yang memiliki aktivitas antibakteri dan antibiofilm.

Fraksi aktif yang didapatkan akan diuji dengan skrining fitokimia dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dan penampak bercak. Metode ini digunakan untuk mengetahui golongan senyawa yang terdapat dalam fraksi ekstrak etanol biji kelengkeng terpilih yang mampu menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Apakah fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol biji kelengkeng (*Euphoria longan* Lour. Steud.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538?
2. Apakah fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol biji kelengkeng (*Euphoria longan* Lour. Steud.) mempunyai aktivitas antibiofilm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538?
3. Golongan senyawa apa yang terkandung dalam fraksi paling besar aktivitas antibakteri dan antibiofilm dari ekstrak etanol biji kelengkeng (*Euphoria longan* Lour. Steud.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 6538?

1.3 Hipotesis Penelitian

1. Fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol biji kelengkeng (*Euphoria longan* Lour. Steud.) dapat diketahui

memberikan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

2. Fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol biji kelengkeng (*Euphoria longan* Lour. Steud.) dapat diketahui memberikan aktivitas antibiofilm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.
3. Golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi paling besar aktivitas antibakteri dan antibiofilm dari ekstrak etanol biji kelengkeng (*Euphoria longan* Lour. Steud.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dapat diketahui.

1.4 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol biji kelengkeng (*Euphoria longan* Lour. Steud.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Untuk mengetahui aktivitas antibiofilm dari fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak etanol biji kelengkeng (*Euphoria longan* Lour. Steud.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.
3. Untuk mengetahui golongan senyawa aktif yang terkandung dalam fraksi paling besar aktivitas antibakteri dan antibiofilm dari ekstrak etanol biji kelengkeng (*Euphoria longan* Lour. Steud.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah peneliti lebih mengetahui aktivitas antibakteri dan antibiofilm dari fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat,

dan fraksi air dari ekstrak etanol biji kelengkeng (*Euphoria longan* Lour. Steud.), mengetahui golongan senyawa yang terdapat dalam fraksi biji kelengkeng yang mempunyai aktivitas antibakteri dan antibiofilm, mengetahui cara kerja dari uji antibakteri dan uji antibiofilm.