

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Infeksi 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). Suatu mikroorganisme yang dinyatakan membuat kerusakan atau kerugian terhadap tubuh inang, disebut sebagai patogen. Patogen merupakan beberapa jenis mikroorganisme atau organisme lain yang berukuran yang lebih besar yang mampu menyebabkan penyakit. Suatu mikroorganisme yang masuk dalam jaringan tubuh dan memperbanyak diri, mikroorganisme tersebut dapat menimbulkan infeksi. Mikroorganisme patogen tersebut dapat masuk ke tubuh inangnya melalui beberapa cara seperti saluran pernapasan, saluran pencernaan, kulit dan rongga mulut (Pratiwi dan Sylvia, 2008). Infeksi sering menjadi penyulut dari gangren. Gangren ini menjadi penyebab masuknya bakteri yang dapat menyebar dengan cepat dan menyebabkan kerusakan jaringan pada penderita diabetes melitus (Brand, 2000). Pada keadaan infeksi gangren biasanya disebabkan oleh suatu organisme dari sekitar kulit yang pada umumnya menyebabkan infeksi termasuk diantaranya adalah *Staphylococcus aureus* (Fitra, 2008).

Sebagian bakteri *Staphylococcus* merupakan flora normal kulit, saluran pernafasan, dan saluran pencernaan pada manusia. *Staphylococcus aureus* yang patogen dilaporkan dapat menyebabkan hemolisis, bersifat invasif, dan mampu menfermentasi manitol (Warsa, 1994). Kontaminasi langsung *Staphylococcus aureus* pada luka terbuka (seperti luka paska bedah) atau infeksi setelah trauma (seperti osteomyelitis kronis setelah

fraktur terbuka) dan meningitis setelah fraktur tengkorak, merupakan penyebab infeksi nosokomial (Jawetz, Melnick dan Adelberg, 1995). Keterlibatan *Staphylococcus aureus* pada infeksi tubuh berkembang dengan sangat cepat. Resistensi ditimbulkan oleh *Staphylococcus aureus* terhadap berbagai antibiotik dan cenderung mengubah infeksi akut menjadi persisten, kronis dan berulang (Archer *et al.*, 2011). *Staphylococcus aureus* dilaporkan telah resisten terhadap berbagai antibiotik seperti penisilin, oksasilin dan antibiotik beta laktam lainnya (Mardiasuti *et al.*, 2007).

Biofilm merupakan bentuk struktural dari sekumpulan mikroorganisme yang dilindungi oleh matrik ekstraseluler yang disebut *Extracellular Polymeric Substance* (EPS), di mana EPS merupakan produk yang dihasilkan sendiri oleh mikroorganisme tersebut dan dapat melindungi dari pengaruh buruk lingkungan. Matriks 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 *Staphylococcus aureus* berkembang dengan pesat dan membentuk koloni terutama pada permukaan yang lembab dan kaya nutrisi (Tarver, 2009). Biofilm sebagai pertahanan bakteri sulit diberantas dengan antibiotik, demikian juga bakteri patogen dalam bentuk biofilmnya dapat menimbulkan masalah serius bagi kesehatan manusia (Lee *et al.*, 2013). 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 pada alat katup jantung, alat pacu jantung, kateter, sendi buatan, serta lensa kontak menjadi masalah serius di dunia medis (Chen *et al.*, 2013).

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). Hal ini menyebabkan pembentukan biofilm perlu untuk dihambat. Pengendalian biofilm dapat dilakukan secara kimia dengan penambahan zat kimia seperti deterjen yang mengandung enzim, secara fisika dengan peningkatan suhu dan secara biologi dengan menggunakan bakteriofage serta interaksi mikrobiologis (Simoes, Simoes dan Vieira, 2010).

Bintaro (*Cerbera odollam*) adalah tanaman bakau milik keluarga Apocynaceae dan terdistribusikan secara luas di daerah pesisir Asia Tenggara dan Samudera Hindia (Laphookhieo, 2004). Tanaman ini dapat ditemukan dalam ekosistem hutan mangrove yang berasal dari daerah tropis di Asia, Australia, Madagaskar, dan kepulauan sebelah barat Samudera Pasifik (Gaillard, Krishnamoorthy and Bevalot, 2004). Masyarakat umumnya hanya mengenal tumbuhan bintaro sebagai tumbuhan tahunan yang banyak digunakan untuk penghijauan dan penghias kota (Mardiasih, 2010). Kandungan saponin, tanin, steroid, flavonoid, dan gums ditemukan pada akar bintaro (Rahman, Paul and Rahman, 2011). Kandungan alkaloid, tanin, dan saponin telah ditemukan pada ekstrak metanol biji bintaro (Ahmed *et al.*, 2008). Pada daun, buah dan kulit batangnya ditemukan kadungan saponin dan fenolik, pada kulit batangnya ditemukan tanin, sementara pada daun dan buahnya ditemukan polifenol (Salleh, 1997). Dalam penelitian Yu *et al.* (2009) pemeriksaan fitokimia telah dilakukan dan berhasil diisolasi monoterpenoid, glikosida jantung, lignan, dan iridoid.

Lima puluh persen kasus toksik tentang tanaman bintaro dan 10% total kasus toksisitas di Kerala, India telah dibahas dalam penelitian Gaillard, Krishnomoorthy dan Bevalot (2004). Kandungan senyawa

serberin (alkaloid/glikosida) yang terdapat dalam ekstrak biji dan daun bintaro diduga berperan dalam mematikan imago lalat buah *Bactrocera carambolae*, dimana pada konsentrasi ekstrak biji dan daun bintaro masing-masing 1% dapat menghambat peneluran imago lalat buah sebesar 86% oleh ekstrak biji dan 61% oleh ekstrak daun bintaro. Serberin bersifat menghambat saluran ion kalsium di dalam otot jantung manusia sehingga mengganggu detak jantung dan dapat mengakibatkan kematian. Ekstrak biji *Cerbera odollam* diketahui lebih toksik dibandingkan dengan ekstrak daun *Cerbera odollam*. Asap dari hasil pembakaran kayu bintaro juga dapat menyebabkan keracunan (Mardiasih, 2010).

Aktivitas farmakologi yang dimiliki bintaro diantaranya adalah sebagai analgesik, antikonvulsan, kardiotonik dan aktivitas hipotensi (Chang *et al.*, 2000). Potensi antikanker dimiliki daun bintaro pada pengujian dengan konsentrasi ekstrak dan fraksi sebesar 1% (Syarifah *et al.*, 2011). Penelitian Rahman, Paul dan Rahman (2011) telah dilaporkan bahwa ekstrak metanol akar bintaro mempunyai aktivitas *anti-nociceptive* pada dosis 250 dan 500 mg/kg berat badan dan diuretik dengan dosis 200 dan 400 mg/kg berat badan serta memiliki daya hambat terhadap beberapa bakteri Gram positif dan Gram negatif. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol kulit batang bintaro mulai konsentrasi ekstrak 500 µg/ml hingga 0.98 µg/ml dengan metode dilusi telah dipaparkan dalam penelitian Kuddus, Rumi dan Masud (2011). Penelitian Wulandari (2014) dilaporkan bahwa ekstrak etanol daun bintaro dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*, dimana pada penelitian tersebut digunakan beberapa konsentrasi dari 4% hingga 0,25%. Kadar Hambat Minimum yang didapatkan dari penelitian tersebut adalah dengan konsentrasi 4%. Dalam penelitian tersebut 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. Pada penelitian Ahmed *et al.* (2008), ekstrak metanol biji bintaro memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi ekstrak 50µg/ml dapat menghasilkan zona hambat pertumbuhan sebesar 6 mm, lalu pada uji aktivitas sitotoksik terhadap udang air asin ekstrak metanol biji bintaro menunjukkan LC₅₀ sebesar 3 µg/ml.

Pada penelitian ini akan dilakukan fraksinasi untuk mendapatkan metabolit sekunder yang berkhasiat sebagai antibiofilm. Fraksinasi adalah suatu proses pemisahan senyawa senyawa berdasarkan tingkat kepolaran. Jumlah dan senyawa yang dapat dipisahkan menjadi fraksi berbeda-beda tergantung pada jenis tumbuhan. Faktor yang menyebabkan hal tersebut adalah perbedaan variasi dan konsentrasi metabolit sekunder yang terkandung didalam ekstrak dan fraksi yang didapat. Dalam penelitian Indriyanti, Dewi, dan Yani (2014) pada uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi bambu kuning (*Bambusa vulgaris Schard*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* didapatkan hasil ekstrak etanol menghambat pertumbuhan mikroba uji dengan konsentrasi ekstrak yang tinggi, karena kandungan ekstrak etanol masih kompleks, sehingga diperlukan fraksinasi agar mendapatkan senyawa yang lebih murni. Dalam penelitian tersebut, hasil fraksinasi fraksi etil asetat merupakan fraksi yang memberikan daya hambat yang paling baik terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Penyebabnya karena jumlah kandungan senyawa metabolit sekunder yang memberikan aktivitas antibakteri lebih banyak tertarik dalam pelarut ini (Indriyanti, Dewi, dan Yani, 2014).

Penelitian ini dimulai dengan pemeriksaan makroskopik dan mikroskopik daun segar bintangoro untuk melihat karakteristik penanda yang dimiliki daun tersebut. Ekstraksi dilakukan secara maserasi. Pemilihan metode maserasi ini karena prosedur ekstraksi mudah dilakukan dan peralatan yang dibutuhkan sederhana. Maserasi 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 (Agoes, 2007). Pelarut yang digunakan pada metode maserasi adalah etanol 96%. Alasan penggunaan etanol sebagai pelarut, yaitu etanol merupakan pelarut universal yang bersifat relatif polar dan dapat melarutkan metabolit-metabolit tumbuhan, selain itu pelarut etanol kadar toksisitasnya lebih rendah dari pelarut metanol (Indriyanti, Dewi, dan Yani, 2014).

Metode fraksinasi cair-cair dilakukan dengan 3 pelarut yang berbeda, yaitu *n*-heksan (non polar), etil asetat (semi polar) dan air (polar) dimaksudkan untuk mendapat kelompok senyawa dari suatu tanaman berdasarkan kepolaran dari senyawa tersebut (Harborne, 1987). Dalam penelitian Indriyanti, Dewi, dan Yani (2014) pada uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi bambu kuning (*Bambusa vulgaris Schard*) dilaporkan bahwa beberapa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun bambu kuning hasil penapisan fitokimia terhadap fraksi-fraksi memberikan hasil yang berbeda. Pada fraksi *n*-heksan ditemukan hasil positif monoterpen, seskuiterpen dan steroid. Pada fraksi etil asetat ditemukan hasil positif flavonoid, polifenol, monoterpen, seskuiterpen, steroid dan kuinon. Pada fraksi air ditemukan hasil positif saponin, flavonoid, polifenol, monoterpen, seskuiterpen, steroid dan kuinon. Perbedaan hasil tersebut menunjukkan kepolaran suatu metabolit sekunder yang terkandung dalam suatu tanaman.

Pada uji aktivitas antibiofilm digunakan *microplate u-bottom* untuk mengujikan ketiga fraksi. Aktivitas antibiofilm ditentukan dari persen penghambatan biofilm oleh ketiga fraksi. Konsentrasi fraksi yang diujikan mulai 300000 ppm hingga 2343,8 ppm dengan pembanding tetrasiklin HCl. Pemilihan pembanding tetrasiklin HCl dikarenakan antibiotik ini termasuk dalam antibiotik berspektrum luas yang dapat menghambat dan membunuh bakteri Gram positif maupun Gram negatif dengan cara mengganggu proses sintesis protein bakteri (Tjay dan Rahardja, 2007).

1.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang dikemukakan, maka rumusan masalah penelitian ini adalah :

1. Apakah fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air daun bintaro (*Cerbera odollam*) memiliki aktivitas antibiofilm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538?
2. Golongan senyawa apa dalam fraksi paling aktif daun bintaro (*Cerbera odollam*) yang mempunyai aktivitas antibiofilm terhadap *Staphylococcus aureus*?

1.3. Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang yang dipaparkan, maka tujuan penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui aktivitas antibiofilm fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air daun bintaro terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.
2. Mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi aktif daun bintaro (*Cerbera odollam*) yang mempunyai aktivitas antibiofilm terhadap *Staphylococcus aureus*.

1.4. Hipotesis Penelitian

Berdasarkan latar belakang yang dikemukakan, maka hipotesa penelitian ini adalah :

1. Fraksi dari daun bintaro (*Cerbera odollam*) mempunyai aktivitas antibiofilm terhadap *Staphylococcus aureus*.
2. Golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi daun bintaro (*Cerbera odollam*) yang mempunyai aktivitas antibiofilm terhadap *Staphylococcus aureus* dapat diketahui.

1.5. Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan tentang golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada fraksi daun bintaro (*Cerbera odollam*) yang memiliki efek aktivitas antibiofilm terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini juga diharapkan dapat memberikan informasi serta bermanfaat dalam peningkatan kesehatan masyarakat sebagai alternatif pengobatan infeksi yang umumnya disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*, yang dapat dikembangkan dengan penelitian lanjutan dalam bentuk sediaan farmasi.