

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang Penelitian

Dewasa ini, masalah kesehatan di Indonesia menjadi perhatian utama dalam meningkatkan kualitas hidup dari setiap individu. Kesehatan merupakan kebutuhan hidup manusia yang paling utama. Jenis makanan yang kurang menyehatkan bagi tubuh, polusi udara di sekitar serta kondisi lingkungan dan sanitasi yang kurang baik menjadi penyebab secara tidak langsung adanya gangguan kesehatan tubuh atau penyakit. Salah satu contoh jenis penyakit yang sering muncul akibat kondisi lingkungan dan sanitasi yang buruk yaitu penyakit infeksi.

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang menjadi salah satu masalah kesehatan di masyarakat, khususnya di negara berkembang seperti Indonesia. Lingkungan tempat tinggal yang tidak memadai, kumuh dan kepadatan penduduk yang tinggi, menjadi faktor risiko terjadinya penularan penyakit infeksi. Penyakit infeksi di Indonesia termasuk dalam sepuluh penyakit terbanyak (Kemenkes, 2011). Seperti halnya diare dan gastroenteritis yang merupakan salah satu penyakit infeksi dan menduduki peringkat pertama penyakit terbanyak pada pasien rawat inap di Indonesia pada tahun 2010 yaitu sebanyak 96.278 kasus dengan angka kematian (*Case Fatality Rate* / CFR) sebesar 1,92% (Kemenkes, 2011a). Data ini menunjukkan bahwa penyakit infeksi menjadi masalah dalam bidang kesehatan. Salah satu bakteri yang paling sering menimbulkan penyakit infeksi dalam komunitas maupun secara nosokomial adalah *Staphylococcus aureus* (Wisplinghoff *et al.*, 2004).

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang mudah ditemukan dimana pun dan bersifat patogen oportunistik, biasa ditemukan pada kulit

dan permukaan mukosa manusia. Sumber infeksi bakteri ini berasal dari luka atau lesi yang terbuka maupun barang-barang yang terkena lesi tersebut, selain itu ada beberapa tempat di rumah sakit yang beresiko tinggi dalam penyebaran bakteri ini, seperti unit perawatan intensif, perawatan neonatus, dan ruang operasi (Brooks *et al.*, 2007; WHO, 2012). Penelitian yang dilakukan oleh King (2010) menunjukkan bahwa beberapa penyakit yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* antara lain seperti *staphylococcal scalded skin syndrome* yang terjadi pada 98% anak-anak usia kurang dari enam tahun. Terdapat kasus osteomielitis sebesar 60-70% kasus, kemudian abses otak yang ditemukan sebesar 10-15% kasus (Brooks *et al.*, 2007). Bakteriemia sebesar 11-53%, endokarditis sebesar 25-35% kasus (Lowy, 1998). Pada pneumonia terdapat 18,1 % kasus (Kollef dan Micek., 2005). Selain itu berdasarkan data WHO (2012) terdapat beberapa penyakit yang disebabkan enterotoksin dari *Staphylococcus aureus* seperti furunkel, selulitis, dan infeksi gastroenteritis.

Antibiotik merupakan pengobatan yang selalu diberikan dan menjadi pilihan utama dalam mengatasi penyakit infeksi. Manfaat penggunaan antibiotik tidak perlu diragukan lagi, akan tetapi penggunaan yang berlebihan dapat menyebabkan munculnya resistensi mikroba terhadap antibiotik. Mikroba yang resisten terhadap antibiotik telah menjadi masalah kesehatan yang perlu diperhatikan. Infeksi oleh bakteri yang resisten terhadap antibiotik menyebabkan peningkatan angka kematian sehingga diperlukan antibiotik yang menjadi pilihan kedua atau bahkan ketiga, yang efektivitasnya lebih besar dan mungkin mempunyai efek samping lebih banyak serta biaya yang dibutuhkan akan lebih mahal (Borong, 2012).

Berbagai penelitian menunjukkan bahwa telah muncul mikroba yang resisten terhadap antibiotik antara lain seperti: *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), resistensi multi obat pada penyakit

tuberkulosis (MDR TB) dan lain-lain (Kemenkes, 2011b). Penelitian yang dilakukan oleh Bell and Turnidge (2002) menunjukkan bahwa *Staphylococcus aureus* telah resisten terhadap penisilin, oksasilin dan antibiotik beta laktam lainnya. Di Asia, *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap siprofloksasin mencapai 37%. Persentase galur *Staphylococcus aureus* yang telah resisten terhadap metisilin (MRSA) cukup tinggi di Asia, seperti di Taiwan mencapai 60%, Cina 20%, Hong Kong 70%, Filipina 5%, dan Singapura 60%. Hasil penelitian lainnya dari studi Resistensi Antimikroba di Indonesia (AMRIN study) membuktikan bahwa di masyarakat, 43% *Escherichia coli* resisten terhadap berbagai jenis antibiotik antara lain ampisilin (34%), kotrimoksazol (29%), dan kloramfenikol (25%). Hasil penelitian dari 781 pasien yang dirawat di rumah sakit, didapatkan 81% *Escherichia coli* resisten terhadap beberapa jenis antibiotik yaitu ampisilin (73%), kotrimoksazol (56%), kloramfenikol (43%), siprofloksasin (22%), dan gentamisin (18%) (Kemenkes, 2011b).

Resistensi terhadap mikroba menjadi salah satu masalah utama yang seringkali terjadi di Indonesia dewasa ini. Oleh karena itu perlu adanya penelitian untuk menemukan sumber senyawa antimikroba baru yang mampu mengatasi infeksi bakteri maupun fungi (Nirjanta, 2012). Senyawa bioaktif dapat diperoleh dari berbagai sumber, di antaranya dari tumbuhan, hewan, mikroba dan organisme laut (Prihatiningtias, 2005). Salah satu sumber senyawa bioaktif yang berasal dari mikroba yaitu fungi endofit. Fungi endofit merupakan salah satu golongan mikroba endofit yang banyak ditemukan di alam. Fungi ini hidup berasosiasi secara simbiosis mutualisme dengan tumbuhan inangnya (Strobel, 2003). Fungi endofit merupakan sumber penghasil metabolit sekunder bioaktif (Tan and Zou, 2001).

Fungi endofit menginfeksi tumbuhan sehat pada jaringan tertentu tanpa menimbulkan tanda-tanda infeksi, kemudian menghasilkan enzim dan metabolit sekunder yang dapat bermanfaat bagi fisiologi dan ekologi tumbuhan inang, mikotoksin, dan juga antibiotik yang dimanfaatkan tumbuhan inang untuk melawan penyakit yang disebabkan oleh patogen yang menyerang tumbuhan inang. Fungi endofit dapat memperoleh nutrisi untuk melengkapi siklus hidupnya dari tumbuhan inang (Petrini, *dkk.* 1992; Carrol, 1988; Tan and Zou, 2001; Bacon and White, 2000).

Fungi endofit sangat penting dalam industri farmasi karena kemampuannya dalam memproduksi senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, terpen, steroid, flavonoid, kuinon, fenol dan lain sebagainya yang berpotensi sebagai senyawa bioaktif (Tan and Zou, 2001). Keunggulan mikroba endofit sebagai sumber senyawa bioaktif baru adalah siklus hidup mikroba endofit yang singkat dan senyawa-senyawa yang dihasilkan dapat diproduksi dalam skala besar melalui proses fermentasi. Isolasi senyawa bioaktif dari tumbuhan banyak menemui kendala dikarenakan jumlahnya yang terbatas dan siklus hidup tumbuhan yang relatif lama. Oleh karena itu, mikroba endofit memiliki peluang yang baik di masa depan dalam penemuan senyawa-senyawa baru salah satunya sebagai penghasil antibiotik (Prihatiningtias, 2011).

Senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh fungi endofit dapat berpotensi sebagai antimikroba (menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroba-mikroba patogen) (Castillo, *dkk.* 2002); antikanker (Kumala, 2005), contohnya senyawa taksol (Li, *dkk.* 1996); antiserangga (Azevedo, *dkk.* 2000); zat pengatur tumbuh (Tan and Zou, 2001); serta penghasil enzim hidrolitik seperti amilase, selulase, xilanase, ligninase (Choi, *dkk.* 2005), dan kitinase (Zinniel, *dkk.* 2002). Potensi biologis dari fungi endofit lainnya adalah sebagai antiimunopresif (Lee, *dkk.* 1995), anti - HIV,

antioksidan (Strobel, 2003), antivirus (Guo, *dkk.* 2000), antidiabetes (Zhang, *dkk.* 1999), antituberkular (Agusta, 2009), dan antimalaria (Lu, *dkk.* 2000).

Pencarian sumber hayati baru sebagai pengganti antibiotik terus dilakukan seiring dengan berkembangnya resistensi mikroorganisme serta sifat toksisitas yang ditimbulkan oleh antibiotik sintetis. Menurut Radji (2005), fungi endofit yang dapat memproduksi senyawa metabolit sekunder sesuai dengan tanaman inangnya, mempunyai peluang untuk dimanfaatkan senyawanya sebagai obat. Fungi endofit yang diisolasi dari suatu tanaman obat dapat menghasilkan senyawa bioaktif atau metabolit sekunder yang sama dengan tanaman aslinya atau bahkan lebih baik dan dalam jumlah yang lebih tinggi dibanding tumbuhan inangnya, dikarenakan mekanisme perubahan kimia oleh mikroorganisme sangat mirip dengan yang terjadi pada organisme tingkat tinggi. Oleh karena itu, keuntungan memanfaatkan endofit adalah tidak perlu memanen tanaman aslinya untuk diambil sebagai simplisia yang kemungkinan besar memerlukan waktu puluhan tahun untuk menanamnya.

Telah banyak dilakukan penelitian tentang fungi endofit, yang telah berhasil mengisolasi fungi endofit serta senyawa metabolit sekundernya dari berbagai jenis tanaman. Seperti penelitian yang telah dilakukan oleh Wang, *et al.* (2008) yang terdapat pada tumbuhan famili Dipterocarpaceae yang membuktikan bahwa terdapat fungi endofit *Penicillium* sp. yang diisolasi dari tumbuhan *Hopea hainanensis*. Begitu pula pada penelitian yang dilakukan oleh Sudjaritvorakul, *dkk.* (2010) juga menemukan fungi endofit dari genus *Phyllosticta* spp., *Nodulisporium* spp., dan *Xylaria* spp. dari 4 spesies tumbuhan Dipterocarpaceae. Suryanarayanan, *dkk.* (2011) meneliti 75 tanaman dikotiledon dari 33 famili termasuk Dipterocarpaceae dan menemukan fungi endofit dari genus *Alternaria* spp., *Fusarium* spp., *Phoma* spp., *Phomopsis* spp., dan

*Colleotricum* spp. Fungi *Aspergillus*, *Curvularia*, *Drechslera*, *Fusarium*, dan *Penicillium* diisolasi dari tanaman *Ocimum sanctum* (Sharma and Kumar, 2013), *Aspergillus*, *Penicillium*, dan *Trichoderma* dari tanaman *Melia azedarach* (Meliaceae) (Regina, dkk. 2003., Shekhawat, dkk. 2013). Dari berbagai penelitian tersebut menunjukkan bahwa fungi endofit yang berasal dari tanaman banyak berpotensi dan berguna sebagai senyawa bioaktif. Berdasarkan penelitian-penelitian yang telah dilakukan, menunjukkan bahwa fungi endofit banyak dihasilkan oleh tanaman, terutama pada jenis-jenis tanaman yang sering digunakan sebagai obat tradisional.

Salah satu tanaman yang sering digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai obat tradisional adalah tanaman Manggis (*Garcinia sp*), di mana tanaman ini mudah diperoleh dan diyakini masyarakat dapat mengobati beberapa penyakit. Kulit buah Manggis secara tradisional telah digunakan pada berbagai pengobatan di negara India, Myanmar, Sri Lanka dan Thailand (Mahabusarakam, dkk. 1987). Menurut Wahyuono, dkk (1999), kulit buah Manggis telah digunakan sebagai obat tradisional untuk mengatasi gangguan pernapasan. Masyarakat Thailand memanfaatkan kulit buah Manggis untuk mengobati penyakit sariawan, disentri, sistitis, diare, gonorea dan eksim (International Centre for Underutilized Crops, 2003).

Manggis (*Garcinia mangostana*, L.) sangat bermanfaat untuk kesehatan tubuh karena diketahui mengandung xanthone sebagai antioksidan, antiproliferasi, antiinflamasi dan antimikrobal. Xanthone merupakan substansi kimia alami yang tergolong senyawa polifenolik. Peneliti dari Universitas Taichung di Taiwan telah mengisolasi xanthone dan derivatnya dari kulit buah manggis (pericarp) di antaranya diketahui adalah 3- isomangostein, alpha mangostin, Gamma-mangostin, Garcinone A, Garcinone B, C, D dan garcinone E, maclurin, mangostenol (Iswari dan

Sudaryono, 2007). Sundaram *et al.* (1983) meneliti tentang kemampuan antibakteri dan antifungi dari  $\alpha$ -mangostin dan empat turunannya yang diisolasi dari kulit buah manggis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, dan *Bacillus subtilis* sangat rentan terhadap senyawa xanthone, sedangkan *Proteus sp.*, *Klebsiella sp.*, dan *Escherichia coli* agak rentan terhadap xanthone.

Telah dilakukan berbagai penelitian mengenai aktivitas antimikroba dari tanaman Manggis. Ekstrak etil asetat kulit buah Manggis mempunyai aktivitas antibakteri dan memiliki kadar hambat minimum terhadap *Streptococcus mutans* dengan konsentrasi 12,5 ppm (Muslichah, Anggraini dan Waluyo, 2014). Fraksi kloroform dan etil asetat dari ekstrak metanol kulit buah Manggis menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap *Leuconostoc mesenteroides* dan *Lactobacillus plantarum*. Senyawa dalam fraksi kloroform yang paling dominan adalah antrakuinon, sedangkan dalam fraksi etil asetat adalah santon (Putra, 2010). Menurut Rahmah, Suharti dan Subandi (2013), ekstrak etanol kulit Manggis mengandung senyawa golongan saponin, flavonoid, polifenol, tanin, dan alkaloid. Ekstrak etanol kulit manggis dengan konsentrasi 100 ppm memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* yang setara dengan 24,41 ppm tetrasiklin; 59,29 ppm ampisilin; dan 85,57 ppm amoksisilin; terhadap *Staphylococcus aureus* setara dengan 33,70 ppm tetrasiklin; 85,69 ppm ampisilin; dan 11,11 ppm amoksisilin.

Penelitian mengenai uji aktivitas antimikroba dari fungi endofit tanaman manggis juga telah dilakukan oleh Elfina, Martina dan Roza (2014). Fungi endofit diperoleh dari kulit buah Manggis dan diuji aktivitas antimikrobanya terhadap *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Sebanyak 20 isolat fungi endofit berhasil diisolasi dan 11

isolat dari 20 isolat tersebut menunjukkan aktivitas antimikroba. Tiga isolat dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Empat isolat dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Tiga isolat menghambat pertumbuhan *Candida albicans* dan *Staphylococcus aureus*. Satu isolat hanya dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans* saja. Sakagami *et al.* (2005) juga melaporkan hasil penelitiannya bahwa mangostin, senyawa aktif manggis memiliki aktivitas melawan 5 strain *Vancomycin-Resistant Enterococci* dan 9 strain *Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus* (MRSA) penyebab infeksi. Hal ini juga didukung oleh hasil penelitian Poeloengan dan Praptiwi (2010) bahwa ekstrak etanol kulit manggis dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*.

Pada penelitian Widjaja (2016) telah dilakukan karakterisasi fungi endofit dan ditemukan bahwa isolat fungi endofit dari ranting manggis (*Garcinia mangostana* L.) memiliki aktivitas antibakteri yang baik dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Fungi endofit yang berhasil diisolasi dari ranting tanaman Manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebanyak tiga isolat dengan kode isolat ER1, ER2, dan ER3. Fungi endofit yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* sebanyak 1 isolat (ER2) dengan rasio hambatan rata-rata sebesar 1,42 dan terhadap *Staphylococcus aureus* sebanyak 3 isolat (ER1, ER2, dan ER3) dengan masing-masing rasio hambatan rata-rata sebesar 1,66; 1,37; dan 1,89. Hasil karakteristik fungi endofit yang diisolasi dari ranting manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yaitu ER1 menghasilkan enzim kasease dan lipase, ER2 menghasilkan enzim amilase dan lipase, ER3 menghasilkan enzim amilase, kasease, dan lipase. ER1 dan

ER 3 diduga merupakan genus *Penicillium* dan ER2 diduga merupakan genus *Rhizoctonia*. Ketiga isolat tersebut masuk dalam kelas Deuteromycetes.

Berdasarkan penelitian Widjaja (2016), rasio DHP *Staphylococcus aureus* menunjukkan hasil yang lebih besar dibandingkan *Escherichia coli*. Dengan dasar inilah peneliti ingin meneliti lebih lanjut dengan melakukan fraksinasi dari isolat fungi endofit, kemudian dilakukan identifikasi golongan senyawa metabolit sekunder dalam fraksi *n*-heksan, etil asetat dan fraksi air dari isolat fungi endofit ranting manggis (*Garcinia mangostana* L.) yang mempunyai aktivitas antibakteri khususnya terhadap *Staphylococcus aureus*.

Fungi yang telah diisolasi dan memiliki aktivitas antibakteri dan menghasilkan daerah jernih pada sekitar fungi sebagai Daerah Hambatan Pertumbuhan (DHP), selanjutnya dilakukan proses fermentasi. Hasil fermentasi dipisahkan antara supernatan (media) dan biomasnya (fungi), kemudian supernatan difraksinasi dengan menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan air. Fraksi yang didapat selanjutnya diuapkan pelarutnya hingga didapatkan fraksi kering. Fraksi kering dilarutkan dengan air dan ditotolkan ke plat KLT untuk selanjutnya diidentifikasi. Identifikasi dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder apa yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri dengan menggunakan metode bioautografi langsung yaitu dengan menyemprot plat KLT yang sudah diekspansi dalam suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah diinkubasi, plat KLT disemprot dengan larutan TTC 2,5% dan DHP diamati dengan perubahan warna yang terjadi. Daerah yang tidak berwarna merah pada media menunjukkan adanya kandungan senyawa kimia dalam fraksi isolat fungi endofit yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus*

*aureus*. Identifikasi senyawa dilakukan dengan reagen penampak noda menggunakan pereaksi *Dragendorff*, pereaksi *Liebermann-Burchard*, pereaksi  $\text{AlCl}_3$  dan pereaksi  $\text{FeCl}_3$  untuk diidentifikasi golongan senyawa apa yang dapat memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji.

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang golongan senyawa metabolit sekunder dalam fraksi isolat fungi endofit ranting tumbuhan manggis (*Garcinia mangostana* L.) yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.

## **1.2 Perumusan Masalah**

1. Apakah fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari hasil fermentasi isolat fungi endofit ranting manggis mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ?
2. Apa golongan senyawa (metabolit sekunder) yang terdapat pada fraksi hasil fermentasi isolat fungi endofit yang memiliki aktivitas antibakteri terbesar terhadap *Staphylococcus aureus*?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

1. Untuk mengetahui aktivitas fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari hasil fermentasi isolat fungi endofit ranting manggis yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.
2. Untuk mengetahui golongan senyawa (metabolit sekunder) yang terdapat pada fraksi dari hasil fermentasi isolat fungi endofit yang memiliki aktivitas antibakteri terbesar terhadap *Staphylococcus aureus*.

#### **1.4 Hipotesis Penelitian**

1. Fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari hasil fermentasi isolat fungi endofit ranting manggis mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.
3. Golongan senyawa (metabolit sekunder) yang terdapat pada fraksi dari hasil fermentasi isolat fungi endofit yang memiliki aktivitas antibakteri terbesar terhadap *Staphylococcus aureus* dapat diketahui.

#### **1.5 Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang golongan senyawa yang terdapat dalam fraksi dari hasil fermentasi isolat fungi endofit ranting manggis (*Garcinia mangostana L.*) yang memiliki aktivitas antibakteri terbesar terhadap *Staphylococcus aureus* sehingga menjadi alternatif sumber penghasil antibiotik dan membantu dalam pengobatan penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*.