

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan penyebab utama kematian di seluruh dunia. Di negara-negara berkembang, tempat tinggal yang tidak sehat dan malnutrisi dapat menyebabkan penyakit infeksi yang membunuh lebih dari 10 juta orang per tahun (Robin & Cobran, 2005). Infeksi diakibatkan adanya invasi mikroorganisme patogen hidup seperti bakteri, virus, jamur, protozoa, dan cacing (Price & Wilson, 2005). Salah satu agen penyebab infeksi adalah *Pseudomonas aeruginosa* (Jawetz *et al.*, 2005).

*Pseudomonas aeruginosa* tersebar luas di alam dan biasanya terdapat di lingkungan yang lembab di rumah sakit. Bakteri ini dapat tinggal pada manusia normal, dan berlaku sebagai saprofit. *Pseudomonas aeruginosa* hanya bersifat patogen bila masuk ke daerah yang fungsi pertahanannya abnormal, misalnya pada selaput mukosa dan kulit yang robek karena kerusakan jaringan langsung, pada pemakaian kateter intravena atau kateter air kemih, atau bila terdapat netropenia, misalnya pada kemoterapi kanker (Jawetz *et al.*, 2005). *Pseudomonas aeruginosa* dapat menyebabkan infeksi saluran kemih (ISK) dan pneumonia (Nasronudin, 2007).

Pengobatan infeksi yang paling umum dilakukan adalah dengan terapi antibiotik. Antibiotik adalah suatu substansi kimia yang diperoleh atau dibentuk dan dihasilkan oleh mikroorganisme (Waluyo, 2004). Penggunaan antibiotik memiliki konsekuensi yaitu timbulnya patogen yang resisten antibiotik (Gilman, 2008). Caselli, *et al.* (2010) melaporkan bahwa pada tahun 2000-2008 terjadi 31,4% kejadian multiresistensi *Pseudomonas aeruginosa* terhadap antibiotik piperasilin, seftazidim, sefepim, imipenem, meropenem, amikasin, dan siprofloksasin pada 127 anak penderita kanker di Italia. Das Neves, *et al.* (2010) menyebutkan bahwa 23,1% bakteri *Pseudomonas aeruginosa* di RS. Fakultas

Kesehatan Universitas Sao Paulo Brasil telah resisten terhadap amikasin, siprofloksasin, seftazidim, dan imipenem. Resistensi organisme patogen pada banyak antibiotik adalah permasalahan serius dan dapat menyebabkan proses pengobatan menjadi lebih sulit. Disamping itu, antibiotik generasi baru juga banyak menimbulkan masalah ketoksikan, sehingga perlu dikembangkan penggunaan bahan-bahan alam sebagai alternatif dalam mengobati penyakit infeksi (Sarala *et al.*, 2010). Antimikroba yang terkandung dalam tanaman diketahui memiliki efek samping kecil dan sangat potensial dalam mengobati penyakit infeksi (Jonovska *et al.*, 2003). Tanaman juga memiliki spesifikasi khasiat yang sangat unik karena dalam satu jenis tanaman dapat memiliki khasiat yang beragam (Mahendra, 2010).

Beberapa studi telah mengusulkan strategi baru, yaitu kombinasi produk-produk tanaman alam dengan antibiotik untuk terapi infeksi yang disebabkan oleh bakteri sehingga dapat meningkatkan aktivitas antibiotik (Jayaraman *et al.*, 2010). Penelitian Stefanović & Comic (2012) menunjukkan hasil sinergis kombinasi ekstrak etanol *Melissa officinalis* dan tetrasiklin terhadap *Pseudomonas aeruginosa* multiresisten antibiotik. Diameter zona hambat tetrasiklin yang semula 9 mm meningkat menjadi 20 mm setelah ditambah ekstrak etanol *Melissa officinalis*. Selain *Melissa officinalis*, salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat adalah tanaman delima (*Punica granatum* L.). Delima digunakan sebagai obat tradisional di beberapa negara untuk pengobatan disentri, diare, helmintiasis, asidosis, hemorrhagi, dan gangguan pernafasan. Delima juga mengandung senyawa antioksidan, anti-aterosklerotik, antimikroba, dan antiviral. Kulit buah delima biasa digunakan untuk mengobati infeksi pada organ kelamin manusia seperti mastitis, jerawat, alergi dermatitis, timfanitis, luka bakar, dan antioksidan (Pereira *et al.*, 2010).

Kulit delima mengandung flavonoid, asam galat, katekin, kuersetin, antosianidin (Dahham, *et al.*, 2010), alkaloid pelletierin, granatin, asam betulik, asam ursolik, isokuersetin, elagitanin, resin, triterpenoid, kalsium oksalat, dan pati (Dalimarta, 2003). Elagitanin (punicalagin) yang terkandung dalam buah delima merupakan substansi yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antimikroba

(Machado *et al.*, 2002). Sebagian besar flavonoid yang terkandung dalam tanaman seperti epigalokatekin, katekin, miristin, dan kuersetin juga mempunyai aktivitas antimikrobal (Cushnie & Lamb, 2005). Penelitian Sharma *et al.* (2009) menunjukkan bahwa ekstrak etanol delima dengan konsentrasi 5 mg/disk mampu menghambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan diameter zona hambat pertumbuhan sebesar 14 mm.

Berdasarkan penelitian yang telah ada, maka perlu dikembangkan penelitian uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol kulit buah delima (*Punica granatum* L.) dengan antibiotik tetrasiklin untuk mengatasi masalah resistensi *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat membuktikan secara ilmiah khasiat dari kulit buah delima sebagai antibakteri sehingga dapat menunjang pengobatan infeksi yang disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa*.

## **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang di atas maka dapat dirumuskan suatu permasalahan sebagai berikut:

1. Apakah kombinasi ekstrak etanol kulit buah delima (*Punica granatum* L.) dan tetrasiklin mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* sensitif dan multiresisten antibiotik?
2. Apakah kombinasi ekstrak etanol kulit buah delima (*Punica granatum* L.) dan tetrasiklin mempunyai efek sinergis terhadap *Pseudomonas aeruginosa* sensitif dan multiresisten antibiotik?

## **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol kulit buah delima (*Punica granatum* L.) dan tetrasiklin terhadap *Pseudomonas aeruginosa* sensitif dan multiresisten antibiotik.

2. Mengetahui efek kombinasi ekstrak etanol kulit buah delima (*Punica granatum* L.) dan tetrasiklin terhadap *Pseudomonas aeruginosa* sensitif dan multiresisten antibiotik.

#### **D. Tinjauan Pustaka**

##### **1. Delima (*Punica granatum* L.)**

###### a. Sinonim

Sinonim delima (*Punica granatum* L.) adalah *Malaum granatum* Rumph (Dalimarta, 2007).

###### b. Nama daerah

Delima mempunyai nama yang berbeda-beda di tiap daerah. Nama daerah delima di Sumatera : glima (Aceh), glimeu mekah (Gayo), dalimo (Batak), di Jawa: gangsalan (Jawa), dalima (Sunda), dhalima (Madura), di Nusa Tenggara : jeliman (Sasak), talima (Bima), dila dae lok (Roti), lelo kase, rumou (Timor), dan di Maluku : dilimene (Kisar) (Dalimarta, 2007).

###### c. Nama asing

Nama asing tanaman delima antara lain : *Shi liu*, *granaatappel*, *grenadier*, *granatbaum*, *luru*, *thap thim*, *granada*, dan *pomegranate* (Dalimarta, 2007).

###### d. Sistematika tanaman delima

Sistematika penggolongan tanaman delima adalah sebagai berikut :

Kerajaan	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Ordo	: <i>Myrtales</i>
Familia	: <i>Lythraceae</i>
Genus	: <i>Punica</i>
Spesies	: <i>Punica granatum</i> Linn. (Van Steenis, 2005).

###### e. Khasiat

Biji delima biasanya digunakan untuk penawar racun, membasahi paru, dan menyembuhkan batuk (Yin-Fang & Cheng-Jun, 2002). Kulit buah delima

berkhasiat menghentikan perdarahan (hemostatis), peluruh cacing usus (vermifuga), antidiare, dan antivirus. Kulit kayu dan kulit akar berkhasiat sebagai peluruh dahak, vermifuga, pencahar dan astringen usus. Daunnya berkhasiat untuk peluruh haid (Dalimarta, 2007). Sifat kelat dari kulit batang, daun, buah mentah, dan kulit buah dimanfaatkan untuk mengobati diare dan disentri. Kekelatannya disebabkan oleh adanya tanin (Yin-Fang & Cheng-Jun, 2002).

f. Kandungan kimia delima

Kulit buah delima mengandung flavonoid, asam galat, katekin, kuersetin, antosianidin (Dahham, *et al.*, 2010), alkaloid pelletierin, granatin, asam betulik, asam ursolik, isokuersetin, elagitanin, resin, triterpenoid, kalsium oksalat, dan pati (Dalimarta, 2007). Kulit akar dan kulit kayu mengandung sekitar 20% elagitanin dan 0,5-1% senyawa alkaloid, antara lain alkaloid pelletierin, pseudopelletierin, metilpelletierin, isopelletierin, metilisopelletierin. Daun delima mengandung alkaloid, tanin, kalsium oksalat, lemak, sulfur, dan peroksidase. Jus buah delima mengandung asam sitrat, asam malat, glukosa, fruktosa, maltosa, vitamin A dan C, mineral (kalsium, fosfor, zat besi, magnesium, natrium, kalium), dan tanin (Dalimarta, 2007).

## 2. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Sistematika penggolongan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah:

Divisio	: <i>Proteobacteria</i>
Kelas	: <i>Gammaproteobacteria</i>
Ordo	: <i>Pseudomonadales</i>
Famili	: <i>Pseudomonadaceae</i>
Genus	: <i>Pseudomonas</i>
Spesies	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (NCBI, 2011).

*Pseudomonas aeruginosa* termasuk dalam famili Pseudomonadaceae (Radji, 2009). *Pseudomonas aeruginosa* berbentuk batang, berukuran sekitar 0,6 x 2 µm. Bakteri ini merupakan bakteri Gram negatif dan terlihat sebagai bentuk tunggal, ganda, dan kadang-kadang dalam rantai pendek (Jawetz *et al.*, 2005). *Pseudomonas aeruginosa* dapat diidentifikasi dengan pewarnaan Gram,

tidak meragi laktosa, memberikan reaksi oksidase positif, dan dapat tumbuh pada suhu 42°C. Koloni *Pseudomonas aeruginosa* berbau seperti buah-buahan dan berwarna spesifik (Radji, 2009). Koloninya berwarna hijau kebiru-biruan karena menghasilkan pigmen piosianin (Entjang, 2003).

*Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri oportunistis yaitu bakteri yang menyebabkan infeksi hanya pada orang yang keadaan imunnya menurun (Gould & Brooker, 2003). Tahapan infeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* terdiri atas penempelan bakteri dan kolonisasi, invasi lokal, dan penyebaran bakteri, melalui sistem peredaran darah (Radji, 2009). *Pseudomonas aeruginosa* menimbulkan infeksi pada luka dan luka bakar, meningitis, dan infeksi saluran kemih. *Pseudomonas aeruginosa* juga dapat mengakibatkan pneumonia yang disertai nekrosis (Jawetz *et al.*, 2001).

### **3. Antibiotik**

Antibiotik adalah zat kimia yang secara alamiah dihasilkan oleh organisme hidup yang mampu menghambat pertumbuhan organisme lain (Gould & Brooker, 2003). Salah satu antibiotik yang dapat mengobati infeksi *Pseudomonas aeruginosa* adalah tetrasiklin (Goodman dan Gilman, 2008). Tetrasiklin merupakan antibiotik berspektrum luas yang diproduksi oleh *Streptomyces* ssp. (Pratiwi, 2008). Tetrasiklin aktif terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif aerob maupun anaerob (Goodman & Gilman, 2003). Mekanisme kerjanya dengan mengganggu sintesis protein bakteri (Tjay & Rahardja, 2007). Tetrasiklin menghambat sintesis protein bakteri dengan berikatan pada ribosom 30S dan mencegah masuknya tRNA aminoasil ke sisi akseptor (A) pada kompleks mRNA ribosom (Goodman & Gilman, 2003). Cara kerja tetrasiklin bersifat menghambat dan reversibel ketika obat dihentikan (Jawetz *et al.*, 2005). Tetrasiklin merupakan obat pilihan untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh organisme intraselular karena tetrasiklin mampu menembus makrofag (Neal, 2006).

#### 4. Resistensi Bakteri Terhadap Antibiotik

Resistensi adalah kemampuan suatu bakteri untuk tidak terbunuh atau terhambat pertumbuhannya oleh suatu antibakteri (Priyanto & Batubara, 2008). Mikroorganisme dapat kehilangan target spesifik tertentu terhadap obat untuk beberapa generasi sehingga menjadi resisten. Sebagian besar mikroba yang resisten terhadap obat muncul akibat perubahan genetik (Jawetz *et al.*, 2005).

Resistensi mikroorganisme dapat dibedakan menjadi resistensi bawaan (primer), resistensi dapatan (sekunder), dan resistensi episomal.

- a. Resistensi bawaan (primer), merupakan resistensi yang menjadi sifat alami mikroorganisme.
- b. Resistensi dapatan (sekunder), diperoleh akibat kontak antara mikroorganisme dengan agen antimikroba dalam waktu yang cukup lama dengan frekuensi yang tinggi, sehingga memungkinkan terjadinya mutasi pada mikroorganisme.
- c. Resistensi episomal disebabkan oleh faktor genetik di luar kromosom. Beberapa bakteri memiliki faktor R pada plasmidnya yang dapat menular pada bakteri lain yang memiliki kaitan spesies melalui kontak sel secara konjugasi maupun transduksi (Pratiwi, 2008).

#### 5. Uji Aktivitas Antimikroba

Tujuan pengukuran aktivitas antibakteri adalah untuk menentukan potensi suatu zat yang diduga atau telah memiliki aktivitas sebagai antibakteri dalam larutan terhadap suatu bakteri (Jawetz *et al.*, 2001).

Macam-macam metode uji aktivitas antimikroba antara lain :

- a. Metode pengenceran agar

Metode pengenceran agar sangat cocok untuk pemeriksaan sekelompok besar isolat versus rentang konsentrasi antimikroba yang sama (Sacher & McPherson, 2004). Kelemahan metode ini yaitu hanya dapat digunakan untuk isolasi tipe organisme yang dominan dalam populasi campuran (Jawetz *et al.*, 2005).

- b. Difusi agar

Metode difusi digunakan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba.

Piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih pada permukaan media agar mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba (Pratiwi, 2008).

Metode difusi agar dibedakan menjadi dua yaitu cara Kirby Bauer dan cara sumuran.

#### 1) Cara Kirby Bauer

Metode difusi disk (tes Kirby Bauer) dilakukan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar (Pratiwi, 2008). Keunggulan uji difusi cakram agar mencakup fleksibilitas yang lebih besar dalam memilih obat yang akan diperiksa (Sacher dan McPherson, 2004).

#### 2) Cara sumuran

Metode ini serupa dengan metode difusi disk, di mana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji (Pratiwi, 2008).

#### c. Metode dilusi

Metode dilusi dibedakan menjadi dua yaitu dilusi cair dan dilusi padat.

##### 1) Metode dilusi cair

Metode ini mengukur KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji (Pratiwi, 2008).

##### 2) Metode dilusi padat

Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (solid). Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi, 2008).



### **E. Landasan Teori**

Penelitian Sharma *et al.* (2009) menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit buah delima dengan konsentrasi 50 mg/disk mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan diameter zona hambat pertumbuhan sebesar 14 mm. Penelitian Nascimento *et al.* (2000) menunjukkan hasil sinergis kombinasi ekstrak etanol kulit buah delima dan kloramfenikol terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang ditunjukkan dengan penurunan nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) ekstrak etanol kulit buah delima dari 70 mg/mL menjadi 50 mg/mL.

Penelitian Stefanović & Comic (2012) menunjukkan hasil sinergis kombinasi ekstrak etanol *Melissa officinalis* dan tetrasiklin terhadap *Pseudomonas aeruginosa* multiresisten antibiotik. Diameter zona hambat tetrasiklin yang semula 9 mm meningkat menjadi 20 mm setelah ditambah ekstrak etanol *Melissa officinalis*. Penelitian Sulistyaningsih (2010) menunjukkan bahwa tetrasiklin dengan konsentrasi 30 µg/disk mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* multiresisten antibiotik dengan diameter zona hambat sebesar 20 mm.

### **F. Hipotesis**

Kombinasi ekstrak etanol kulit buah delima (*Punica granatum* L.) dan antibiotik tetrasiklin mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sensitif dan multiresisten antibiotik.