

BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG MASALAH

Infeksi merupakan masalah yang paling banyak dijumpai pada kehidupan sehari-hari. Kasus infeksi disebabkan oleh bakteri atau mikroorganisme yang patogen, mikroba masuk ke dalam jaringan tubuh dan berkembang biak dalam jaringan (Waluyo, 2004). Kekebalan bakteri terhadap antibiotik menyebabkan angka kematian semakin meningkat. Sedangkan penurunan infeksi oleh bakteri-bakteri patogen yang dapat menyebabkan kematian sulit dicapai, selain itu cara pengobatan yang menggunakan kombinasi berbagai antibiotik juga dapat menimbulkan masalah resistensi (Jawetz *et al.*, 2005).

Hal tersebut mendorong penemuan sumber obat-obatan antimikroba lain dari bahan alam yang dapat berperan sebagai antijamur dan antibakteri yang lebih poten dan relatif lebih murah. Akhir-akhir ini banyak ditemukan berbagai macam antimikroba dari bahan alam seperti pada tanaman, rempah-rempah atau dari mikroorganisme selain antimikroba yang diperoleh dari bahan-bahan sintetik. Salah satu tanaman yang dimanfaatkan sebagai obat adalah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). Kandungan yang terdapat dalam tanaman ini adalah saponin, tanin, flavonoid, glukosida, asam formiat, asam sitrat, dan beberapa mineral (terutama kalsium dan kalium). Salah satu fungsi flavonoid dan tanin adalah sebagai antibakteri. Zat-zat tersebut merupakan senyawa aktif dalam tanaman yang berkhasiat sebagai obat yang dapat menyembuhkan penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri (Wijayakusuma, 2006).

Penelitian Chandra (2011) menjelaskan bahwa ekstrak metanol daun belimbing wuluh pada konsentrasi 400 µg/disk menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dengan diameter zona hambat sebesar 7,0 mm dan menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan diameter zona hambat sebesar 6,5 mm. Penelitian karon (2011) menjelaskan bahwa ekstrak etanol daun belimbing wuluh pada konsentrasi 200 µg/disk menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus*

cereus dengan diameter zona hambat sebesar 12 mm dan menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan diameter zona hambat sebesar 11 mm. Penelitian Zakaria (2007) menjelaskan bahwa ekstrak air daun belimbing wuluh pada konsentrasi 2 mg/disk dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dengan diameter zona hambat sebesar 13 mm dan ekstrak kloroform daun belimbing wuluh pada konsentrasi 0,5 mg/disk sampai konsentrasi 2 mg/disk dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dengan diameter sebesar 12 mm-16 mm, tetapi ekstrak air maupun ekstrak kloroform daun belimbing wuluh sampai 2 mg/disk belum bisa menghambat bakteri *Escherichia coli*. Berdasarkan penelitian sebelumnya, maka perlu dilakukan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun belimbing wuluh terhadap *Escherichia coli* dan *Bacillus sp* dengan metode difusi.

B. PERUMUSAN MASALAH

Berdasarkan uraian di atas maka dapat dirumuskan suatu permasalahan apakah ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) mempunyai aktivitas terhadap *Escherichia coli* dan *Bacillus sp*?

C. TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap *Escherichia coli* dan *Bacillus sp* dengan metode difusi.

D. TINJAUAN PUSTAKA

1. Tanaman Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)

a. Klasifikasi Tanaman

Sistematika tanaman dari *Averrhoa bilimbi* L. adalah sebagai berikut:

Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Anak kelas	: Rosidae
Bangsa	: Geraniales

Suku : *Oxalidaceae*
 Marga : *Averrhoa*
 Jenis : *Averrhoa bilimbi* L.

b. Kandungan Kimia Daun belimbing wuluh

Daun belimbing wuluh mengandung senyawa jenis flavonoid seperti luteolin dan apigenin (Zakaria *et al.*, 2007).

c. Khasiat Belimbing Wuluh

Senyawa aktif pada belimbing wuluh dapat menghilangkan rasa sakit dan antiradang. Belimbing wuluh berkhasiat mengobati batuk, pembunuh kuman, menurunkan kadar gula darah, memperbanyak pengeluaran empedu dan peluruh kencing (Wijayakusuma, 2006).

2. Bakteri

a. Bakteri *Escherichia coli*

Sistematika *Escherichia coli* adalah sebagai berikut:

Klasifikasi :

Divisio : *Protophyta*
 Subdivisi : *Schizomycetea*
 Kelas : *Schizomycetes*
 Ordo : *Eubacteriales*
 Familia : *Enterobacteriaceae*
 Genus : *Escherichia*
 Spesies : *Escherichia coli* (Salle, 1961).

Escherichia coli termasuk dalam famili Enterobacteriaceae. Bakteri ini merupakan bakteri Gram negatif, berbentuk batang pendek (kokobasil), mempunyai flagel, berukuran 0,4-0,7 μm x 1,4 μm , dan mempunyai simpai. *Escherichia coli* tumbuh dengan baik di hampir semua media perbenihan, dapat meragi laktosa, dan bersifat aerofilik (Radji, 2011). *Escherichia coli* dapat tumbuh pada berbagai kondisi. Pada umumnya, *E. coli* hidup di dalam saluran

pencernaan manusia sebagai flora normal. *E. coli* seperti Gram negatif lainnya dapat mensintesis semua asam amino yang dibutuhkan (Jawetz *et al.*, 2005).

Beberapa galur *Escherichia coli* menjadi penyebab infeksi pada manusia, seperti infeksi saluran kemih, infeksi meningitis pada neonatus, dan infeksi intestin (gastroenteritis). Ketiga penyakit infeksi tersebut sangat bergantung pada ekspresi faktor virulensi masing-masing serotipe *Escherichia coli*, termasuk adanya adhesin, invasin, jenis toksin yang diproduksi, dan kemampuan mengatasi pertahanan tubuh hospes. Infeksi *Escherichia coli* pada beberapa penderita, anak-anak di bawah 5 tahun, dan orang tua dapat menimbulkan komplikasi yang disebut dengan sindrom uremik hemolitik. Sekitar 2-7% infeksi *Escherichia coli* menimbulkan komplikasi (Radji, 2011).

b. Bakteri *Bacillus sp*

Sistematika *Bacillus sp* adalah sebagai berikut:

Klasifikasi :

Divisio	: <i>Protophyta</i>
Kelas	: <i>Schizomycetes</i>
Bangsa	: <i>Eubacteriales</i>
Suku	: <i>Bacillaceae</i>
Marga	: <i>Bacillus</i>
Jenis	: <i>Bacillus sp</i> (Buchanan dan Gibbons, 1975).

Genus *Bacillus* termasuk batang besar, Gram positif, aerob, yang membentuk rantai. Kebanyakan anggota genus ini adalah organisme saprofit yang lazim terdapat dalam tanah, air, udara, dan tumbuh-tumbuhan, seperti *Bacillus cereus* dan *Bacillus subtilis*. Beberapa diantaranya patogen terhadap insekta. *Bacillus cereus* dapat tumbuh dalam makanan dan menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan keracunan makanan. Organisme ini kadang-kadang dapat menimbulkan penyakit pada orang dengan gangguan daya tahan tubuh (misalnya; meningitis dan konjungtivitis). *Bacillus anthracis*, penyebab antraks, adalah bakteri patogen utama dalam genus ini (Jawetz *et al.*, 2005).

3. Antibakteri

Antibakteri adalah zat atau senyawa kimia yang digunakan untuk membasmi bakteri, khususnya bakteri yang merugikan manusia. Definisi ini kemudian berkembang menjadi senyawa yang dalam konsentrasi tertentu mampu menghambat bahkan membunuh proses kehidupan suatu mikroorganisme (Jawetz *et al.*, 2001). Berdasarkan sifat toksisitas selektif, bakteri bersifat menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) dan bersifat membunuh bakteri (bakterisida). Kadar minimum yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri atau membunuhnya, masing-masing dikenal dengan Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) (Setiabudy dan Gan, 2007). Pemusnahan bakteri dengan antibakteri yang bersifat bakteriostatik masih tergantung dari kesanggupan reaksi daya tahan tubuh hospes. Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibakteri dibagi dalam lima kelompok antara lain:

a. Antibakteri yang menghambat metabolisme sel mikroba

Bakteri membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya. Berbeda dengan mamalia yang mendapatkan asam folat dari luar, kuman patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari asam amino benzoat (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Apabila antibakteri bersaing dengan PABA untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk analog asam folat yang nonfungsional. Akibatnya, kehidupan mikroba akan terganggu (Setiabudy dan Gan, 2007).

b. Antibakteri yang menghambat sintesis dinding sel bakteri

Bakteri memiliki lapisan luar yang kaku. Lapisan yang kaku tersebut adalah dinding sel yang dapat mempertahankan bentuk bakteri dan melindungi membran protoplasma di bawahnya (Jawetz *et al.*, 2001). Dinding sel bakteri terdiri dari polipeptidoglikan yaitu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Penghambatan reaksi dalam proses sintesis dinding sel dapat menyebabkan tekanan osmotik dalam sel bakteri lebih tinggi daripada di luar sel maka perusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan lisis yang merupakan dasar efek bakterisidal pada kuman yang peka (Setiabudy dan Gan, 2007).

c. Antibakteri yang mengganggu keutuhan membran sel bakteri

Kerusakan pada membran sel bakteri dapat mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau terjadi kematian sel. Salah satu contohnya adalah polimiksin (senyawa ammonium-kuartener) yang bereaksi dengan fosfat pada fosfolipid membran sel bakteri dapat merusak membran sel. Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel mikroba yaitu protein, asam nukleat, nukleotida, dan lain-lain (Setiabudy dan Gan, 2007).

d. Antibakteri yang menghambat sintesis protein sel bakteri

Dalam kelangsungan hidupnya, sel bakteri mensintesis berbagai protein. Sintesis protein terjadi di ribosom yang dibantu oleh mRNA dan tRNA. Pada bakteri, ribosom terdiri dari dua sub unit yang didasarkan pada konstanta sedimentasi yaitu ribosom 30S dan 50S. Agar kedua ribosom tersebut dapat berfungsi pada proses sintesis protein, maka keduanya akan bersatu pada pangkal rantai mRNA menjadi ribosom 70S. Tetrasiklin merupakan salah satu antibiotik yang dapat menghambat sintesis protein dengan cara berikatan dengan ribosom 30S dan menghalangi masuknya kompleks tRNA-asam amino pada lokasi asam amino (Setiabudy dan Gan, 2007).

e. Antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri

Molekul DNA dan RNA memegang peranan penting dalam proses kehidupan sel secara normal. Hal ini berarti bahwa semua gangguan yang terjadi pada pembentukan dan fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel dan berakibat kematian sel. Rifampisin merupakan salah satu antibiotik yang dapat menghambat sintesis asam nukleat dengan cara berikatan dengan enzim polimerase-RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut (Setiabudy dan Gan, 2007).

4. Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian terhadap aktivitas antimikroba dilakukan untuk mengetahui obat-obat yang paling poten untuk kuman penyebab penyakit terutama penyakit kronis. Pengujian ini dapat dilakukan dengan beberapa cara, yaitu :

a. Difusi Agar

Media yang dipakai adalah agar Mueller Hinton. Pada metode ini ada beberapa cara, yaitu :

1) Cara Kirby Bauer

Beberapa koloni kuman dari pertumbuhan 24 jam diambil, disuspensikan ke dalam 5 mL BHI cair, diinkubasikan 5-8 jam pada 37°C. Suspensi ditambah akuades steril hingga kekeruhan tertentu sesuai dengan standar Brown dengan konsentrasi bakteri 10^8 CFU/mL. Kapas lidi steril dicelupkan ke dalam suspensi bakteri lalu ditekan-tekan pada dinding tabung hingga kapasnya tidak terlalu basah, kemudian dioleskan pada permukaan media agar hingga rata. Kemudian kertas samir (disk) yang mengandung antibakteri diletakkan di atasnya, diinkubasikan pada 37°C selama 18-24 jam, hasilnya dibaca :

- a) Zona radikal yaitu daerah di sekitar disk yang sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri. Potensi antibakteri diukur dengan mengukur diameter dari zona radikal.
- b) Zona irradikal yaitu suatu daerah di sekitar disk yang pertumbuhan bakteri dihambat oleh antibakteri tetapi tidak dimatikan.

2) Cara Sumuran

Beberapa koloni kuman dari pertumbuhan 24 jam diambil, disuspensikan ke dalam 5 mL BHI cair, diinkubasikan pada 37°C selama 5-8 jam. Suspensi ditambah akuades steril hingga kekeruhan tertentu sesuai dengan standar konsentrasi bakteri 10^8 CFU per mL. Kapas lidi steril dicelupkan ke dalam suspensi bakteri lalu ditekan-tekan pada dinding tabung hingga kapasnya tidak terlalu basah, kemudian dioleskan pada permukaan media agar hingga rata. Media agar dibuat sumuran dengan garis tengah tertentu, ke dalam sumuran ditetaskan larutan antibakteri, diinkubasikan pada 37°C selama 18-24 jam. Hasilnya dibaca seperti Kirby Bauer (Jawetz *et al.*, 2005).

3) Cara *pour plate*

Beberapa koloni bakteri yang telah mengalami pertumbuhan selama 24 jam diambil untuk disuspensikan ke dalam 5 mL BHI cair, kemudian diinkubasi pada 37°C selama 5-8 jam. Suspensi bakteri ditambahkan akuades steril hingga

konsentrasi 10^8 CFU/mL. Suspensi bakteri diambil satu mata ose dan dimasukkan ke dalam 4 mL agar base 1,5% yang mempunyai suhu 50°C . Setelah suspensi bakteri tersebut homogen, dituang pada media agar Mueller Hinton, ditunggu sampai agar tersebut membeku dan disk diletakkan di atas media dan dieramkan selama 15-20 jam dengan temperatur 37°C . Hasil dibaca sesuai standar masing-masing antibakteri (Jawetz *et al.*, 2005).

b. Dilusi Padat

Pada prinsipnya antibakteri diencerkan sampai diperoleh beberapa konsentrasi. Pada dilusi cair, masing-masing konsentrasi obat ditambah suspensi kuman dalam media. Sedangkan pada dilusi padat tiap konsentrasi obat dicampur dengan media agar, kemudian ditanami bakteri. Metode dilusi cair adalah metode untuk menentukan konsentrasi minimal dari suatu antibakteri yang dapat menghambat atau membunuh mikroorganisme. Konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri ditunjukkan dengan tidak adanya kekeruhan disebut Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) atau *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC) (Jawetz *et al.*, 2005).

E. LANDASAN TEORI

Pada Penelitian Chandra (2011) menjelaskan bahwa ekstrak metanol daun belimbing wuluh pada konsentrasi $400\mu\text{g/disk}$ menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dengan diameter zona hambat sebesar 7,0 mm dan menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan diameter zona hambat sebesar 6,5 mm. Penelitian karon (2011) menjelaskan bahwa ekstrak etanol daun belimbing wuluh pada konsentrasi $200\mu\text{g/disk}$ menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dengan diameter zona hambat sebesar 12 mm dan menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan diameter zona hambat sebesar 11 mm.

Penelitian Zakaria (2007) menjelaskan bahwa ekstrak air daun belimbing wuluh pada konsentrasi 2 mg/disk dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dengan diameter zona hambat sebesar 13 mm dan ekstrak kloroform daun belimbing wuluh konsentrasi 0,5 mg/disk sampai konsentrasi 2

mg/disk dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dengan diameter sebesar 12 mm-16 mm, tetapi untuk ekstrak air maupun ekstrak kloroform daun belimbing wuluh sampai konsentrasi 2 mg/disk belum bisa menghambat bakteri *Escherichia coli*.

F. HIPOTESIS

Ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Bacillus sp.*