

BAB 1

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia kaya akan bahan obat alam dan obat tradisional (Rahayu dkk, 2009), di antaranya adalah tanaman sirih merah yang diketahui dapat mengobati berbagai jenis penyakit dan telah terbukti secara empiris (Moerfiah dan Supomo, 2011). Daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz and Pav) mengandung senyawa seperti antrakuinon, triterpenoid, steroid, flavonoid, dan tanin. Senyawa tersebut, memiliki aktivitas sebagai antimikroba yang aktif terhadap bakteri Gram positif dan negatif, di antaranya bakteri *Pasteurella*, *Klebsiella*, *Salmonella* sp, *Aeromonas hydrophila*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan jamur *Candida albicans* (Reveny, 2011). Daun sirih merah berpotensi sebagai antibakteri pada pengobatan penyakit infeksi (Wardani dkk, 2012).

Pengobatan infeksi pada umumnya menggunakan terapi antibiotik, salah satunya adalah kloramfenikol. Kloramfenikol merupakan antibiotik bakteriostatik berspektrum luas yang aktif terhadap mikroorganisme aerobik dan anaerobik, bakteri Gram positif maupun negatif. Kloramfenikol aktif terhadap bakteri *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenza*, *Rickettsiae* (Katzung dan Bertram, 2004), *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella typhi* (Noviana, 2004). Mekanisme kerja kloramfenikol adalah menghambat peptidil transferase pada fase pemanjangan, dengan demikian akan merusak proses sintesis protein pada mikroorganisme (Mutschler, 1991). Namun penggunaan antibiotik yang tidak bijak dapat membuat bakteri menjadi resisten (Sjahrurachman, 2011).

Resistensi bakteri terhadap antibiotik masih menjadi topik utama dalam dunia medis (Tjay dan Rahardja, 2007). Saat ini berbagai penelitian dalam pencarian zat antibakteri yang baru sebagai alternatif antibiotik telah banyak digiatkan (Harmawan dkk, 2012), di antaranya kombinasi antibiotik dengan senyawa lain. Terapi kombinasi dapat digunakan untuk memperluas spektrum antimikroba, mencegah terjadinya resistensi, meminimalkan toksisitas, dan menurunkan dosis obat

sehingga memiliki aktivitas antimikroba yang lebih besar daripada penggunaan masing-masing obat antimikroba secara individual (Chanda dan Rakholiya, 2011). Penggunaan kloramfenikol dalam waktu yang lama dan dosis yang cukup besar dapat menimbulkan kelainan pada pematangan sel darah merah, peningkatan kadar besi dalam serum dan anemia, bahkan dapat pula menimbulkan *shock* sirkulasi yang parah (Mutschler, 1991). Dalam hati, obat ini dapat menimbulkan nekrosis hepatosit (Wibowo & Johan, 2007). Penelitian Ahmed dkk (2010) menunjukkan efektivitas antimikroba suatu antibiotik dapat ditingkatkan dengan cara mengkombinasikannya, yaitu kombinasi antibiotik tetrasiklin dengan ekstrak batang *Salvadora persica* terhadap *Staphylococcus aureus* yang bersifat sinergis dengan menghasilkan diameter zona hambatan 31,5 mm.

Berdasarkan latar belakang di atas maka penelitian aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol daun sirih merah dan kloramfenikol terhadap bakteri *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, dan *Staphylococcus aureus* diharapkan dapat menentukan aktivitas antibakteri yang sinergis dan menghasilkan diameter zona hambat yang lebih besar dibandingkan tanpa kombinasi. Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi pengobatan penyakit infeksi.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, dirumuskan beberapa masalah sebagai berikut:

1. Apakah kombinasi ekstrak etanol daun sirih merah dengan kloramfenikol mempunyai aktivitas antibakteri dan efek sinergis terhadap bakteri *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, dan *Staphylococcus aureus* ?
2. Menentukan senyawa kimia ekstrak etanol daun sirih merah yang berperan sebagai antibakteri terhadap bakteri *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, dan *Staphylococcus aureus* ?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang dan perumusan masalah di atas maka tujuan penelitian ini adalah untuk :

1. Mengetahui aktivitas antibakteri dan efek kombinasi ekstrak etanol daun sirih merah dengan kloramfenikol terhadap bakteri *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, dan *Staphylococcus aureus*.
2. Mengetahui kandungan senyawa kimia ekstrak etanol daun sirih merah yang berperan aktif menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, dan *Staphylococcus aureus* dengan metode bioautografi.

D. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz and Pav)

a. Sistematika dan klasifikasi tanaman daun sirih merah

Klasifikasi sirih merah menurut Backer dalam Juliantina dkk (2010) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Order	: Piperales
Family	: Piperaceae
Genus	: <i>Piper</i>
Species	: <i>Piper crocatum</i> Ruiz and Pav

b. Deskripsi tanaman

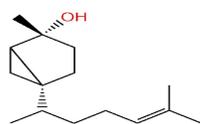
Tanaman sirih merah memiliki ciri-ciri tidak berbunga, tumbuh merambat, daunnya bertangkai membentuk jantung hati dengan ujung meruncing, berwarna hijau keunguan, permukaan daun tidak merata, berwarna merah keperakan, mengkilap jika terkena cahaya serta tumbuh berselang-seling dari batangnya, dan berbatang bulat. Perbedaan yang khas antara tanaman sirih merah dengan sirih yang lain adalah pada sirih merah warna daunnya berwarna merah keperakan, bila daunnya disobek akan mengeluarkan lendir yang beraroma lebih harum (Werdhany dkk, 2008).

c. Khasiat

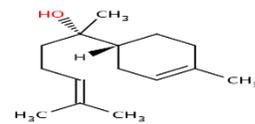
Daun sirih merah memiliki rasa pedas, bersifat hangat, simultan, astringen, dan aromatik. Sirih merah berkhasiat sebagai penenang (sedatif sentral), menenangkan lambung, tonik pada syaraf, tonik ringan, *aphrodisiac*, antiradang, menghilangkan gatal, penghenti perdarahan (*hemostatis*), antiseptik, antibakteri, mencegah infeksi cacing, peluruh kentut, merangsang keluarnya air liur, dan pereda batuk (Dalimartha, 2008). Secara empiris sirih merah digunakan sebagai obat kelelahan, asam urat, kencing manis, hepatitis, ambien, kanker, darah tinggi, dan sakit maag (Fitriyani dkk, 2011).

d. Kandungan kimia

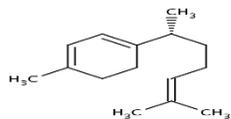
Komponen senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol 70% daun sirih merah yang dideteksi dengan GC-MS adalah sesquisabinene hydrate (22,83%), β -bisabolol (17,24%), γ -curcumene (11,16%), anymol (3,90%), dan *trans*-caryophyllene (2,37%) dan lain-lain (Adnan dkk, 2011).



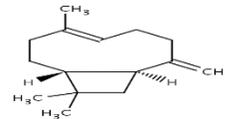
Gambar 1. sesquisabinene hydrate



Gambar 2. β -bisabolol



Gambar 3. γ -curcumene



Gambar 4. *trans*-caryophyllene

2. Kloramfenikol

Kloramfenikol pertama kali diisolasi dari *Streptomyces venezuelae*, namun pada saat ini kloramfenikol sudah dapat disintesis secara kimia. Kloramfenikol dihidrolisis dalam usus untuk menghasilkan kloramfenikol bebas, kloramfenikol di distribusikan merata ke seluruh jaringan dan cairan tubuh yang meliputi sistem saraf pusat dan cairan serebrospinal, sehingga konsentrasi di dalam jaringan otak setara dengan konsentrasi dalam darah. Sebagian besar kloramfenikol dihentikan melalui proses konjugasi oleh asam glukoronat (terutama di hati) atau melalui proses reduksi menjadi aril amina yang tidak aktif.

Ekskresi kloramfenikol 10% dan produk-produk degradasi yang aktif 90% terjadi melalui urin. Hanya sejumlah kecil obat aktif yang diekskresi dalam empedu atau feses (Katzung dan Bertram, 2004).

3. *Salmonella typhi*

a. Sistematika dan klasifikasi *Salmonella typhi*

Klasifikasi bakteri *Salmonella typhi* menurut Todar (2005) adalah :

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Order	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Salmonella</i>
Species	: <i>Salmonella typhimurium</i>

b. Morfologi

Salmonella typhi adalah bakteri Gram negatif, tanpa fimbria, mempunyai flagel peritrik, tidak mempunyai simpai, dan tidak berspora. *Salmonella* dapat hidup pada suasana aerob dan anaerob, pada suhu 15-41⁰C, suhu pertumbuhan optimum 37,5⁰C dengan pH media 6-8. Untuk pembenihan *Salmonella* dapat menggunakan media agar endo, dan agar Mac Conkey. Koloni *Salmonella* berbentuk bulat, kecil, dan tidak berwarna, pada media *Wilson Blair Agar*, koloni *Salmonella* berwarna hitam (Radji, 2011). *Salmonella* dapat membentuk asam dan terkadang gas dari glukosa dan manosa, terkadang memproduksi H₂S dan dapat bertahan hidup dalam es pada waktu yang lama. *Salmonella* mampu bertahan terhadap bahan kimia tertentu (natrium deoksibolat, natrium tetrabionat, dan brilian hijau) (Jawetz dkk, 2005).

c. Patogenesis

Salmonellosis adalah infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella*. Gejala yang umumnya timbul yaitu pusing, sakit kepala, demam, kram perut, rasa mual, dan diare. Gejala ini biasanya berlangsung selama 7 hari. Manifestasi kliniknya dapat berupa gastroenteritis, demam enterik, septisemia, dan tidak memiliki gejala (Radji, 2011). Bakteri *Salmonella* mampu menginvasi mukosa

usus halus dan berkembang biak di sel epitel, menghasilkan toksin yang dapat menyebabkan radang dan akumulasi cairan di dalam usus. Kemampuan *salmonella* untuk menginvasi dan merusak sel berkaitan dengan diproduksinya termotabil sitotoksik faktor. *Salmonella* dapat menghasilkan termolabil enterotoksin yang secara langsung mempengaruhi sekresi air dan elektrolit. Patogenesis yang disebabkan oleh *salmonella* dapat terjadi dalam tiga tahap yaitu kolonisasi usus, perasukan lapisan sel epitel usus, dan pengeluaran cairan (Poeloengan dkk, 2004).

4. *Shigella dysenteriae*

a. Sistematika dan klasifikasi *Shigella dysenteriae*

Klasifikasi bakteri *Shigella dysenteriae* adalah :

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Order	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Shigella</i>
Species	: <i>Shigella dysenteriae</i> (Todar, 2005).

b. Morfologi

Shigella dysenteriae merupakan bakteri Gram negatif berukuran 0,5-0,7 μm x 2-3 μm yang tipis, tidak berflagel, berbentuk *coccobacilli* pada perbenihan muda, dan merupakan bakteri fakultatif anaerob, tetapi dapat tumbuh dengan baik secara aerob. Koloni *Shigella* berbentuk cembung, bundar, transparan dengan diameter sampai kira-kira 2 mm dalam 24 jam. Semua bakteri *Shigella* dapat memfermentasi glukosa dan dapat membentuk asam dari karbohidrat tetapi sangat jarang memproduksi gas (Jawetz dkk, 2005).

c. Patogenesis

Shigella dysenteriae adalah bakteri patogen yang dapat menyebabkan sigelosis, yaitu suatu kondisi klinis yang ditandai dengan infeksi usus akut disertai nyeri, diare, lendir, air besar yang bercampur darah, nanah, dan kejang perut. Masa inkubasi dari sigelosis berkisar antara 1-7 hari. Bakteri ini memiliki

kemampuan untuk menembus dan masuk ke dalam lapisan sel epitel pada permukaan mukosa usus di ileum terminal dan kolon. *Shigella* memperbanyak diri di dalam sel, lalu sel yang telah mati akan mengelupas dan terjadi tukak pada mukosa usus. Selain itu *Shigella* juga menghasilkan endotoksin, eksotoksin (enterotoksin, sitotoksin, dan neurotoksin), yang mampu mempengaruhi kegiatan biologis (Radji, 2011).

Patologi penting *Shigella* adalah kemampuannya menginvasi sel epitel mukosa yang diinduksi oleh fagositosis, yang lolos dari vakuola fagositik, memperbanyak diri di dalam sel epitel sitoplasma, dan melintas ke dalam sel yang berdekatan. Mikroabses pada dinding terminal ileum dan usus mengarah pada nekrosis dari membran mukosa, ulserasi dangkal, pendarahan, dan pembentukan pseudomembran di area ulserasi. Hal ini terdiri dari fibrin, leukosit, sel debris, membran mukosa nekrotik, dan bakteri (Jawetz dkk, 2005).

5. *Staphylococcus aureus*

a. Sistematika dan klasifikasi *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* adalah :

Domain	: Bacteria
Kingdom	: Eubacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacili
Order	: Bacillales
Family	: Staphylococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Makgotlho, 2009).

b. Morfologi

Staphylococcus aureus memiliki bentuk bulat atau lonjong, merupakan jenis yang tidak bergerak, tidak berspora, merupakan bakteri Gram positif dan tersusun dalam kelompok (seperti buah anggur) (Juliantina dkk, 2010), *S. aureus* dapat tumbuh dalam suasana aerobik dan anaerobik. Bakteri ini membentuk koloni berwarna kuning di dalam media kaya nutrisi dan bersifat

hemolitik di dalam media agar yang mengandung darah. *S. aureus* memiliki sifat anaerob fakultatif dan menghasilkan enzim katalase, dapat tumbuh pada larutan NaCl 15%, dan mampu menghasilkan enzim koagulase. Kisaran suhu pertumbuhannya adalah 15-37⁰C. Pada lempeng agar biasa dengan suasana aerob dan suhu 37⁰C bakteri ini tidak menghasilkan pigmen (Radji, 2011).

c. Patogenesis

Staphylococcus aureus berkemampuan melakukan pembelahan dan menyebar luas ke dalam jaringan serta memproduksi bahan ekstraseluler seperti katalase, koagulase, eksotoksin, lekosidin, toksin eksfoliatif, toksin syok sindrom, dan enterotoksin (Juliantina dkk, 2010). Infeksi ringan *Staphylococcus aureus* terjadi pada kulit seperti bisul dan furunkulosis dan infeksi yang serius seperti pneumonia, meningitis, flebitis, dan mastitis. Selain itu dapat menyebabkan infeksi dalam saluran urin dan infeksi kronis, seperti osteomielitis dan endokarditis. Bakteri ini merupakan salah satu penyebab utama infeksi nosokomial akibat luka tindakan operasi dan pemakaian alat-alat perlengkapan perawatan di rumah sakit. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan keracunan makanan akibat produksi enterotoksin dan sindrom renjat toksik (*toxic shock syndrome*) (Radji, 2011).

6. Bioautografi

Metode bioautografi yang digunakan yaitu metode :

a. Bioautografi *overlay*

Bioautografi *overlay* dilakukan dengan cara meletakkan lempeng KLT hasil elusi senyawa yang akan diuji di atas media padat yang telah diinokulasi dengan mikroba uji, kemudian diinkubasi 18-24 jam pada suhu 37⁰C. Untuk melihat zona hambat dapat dilakukan dengan cara penyemprotan menggunakan larutan tetrazolium klorida, maka letak zat aktif antimikroba ditandai dengan adanya zona jernih dengan latar belakang ungu. Dengan demikian dapat diperkirakan senyawa yang bertanggung jawab terhadap daya antimikroba (Kusumaningtyas dkk, 2008).

E. Landasan Teori

Ekstrak daun sirih merah mengandung beberapa senyawa yang berfungsi sebagai antibakteri di antaranya adalah flavonoid, alkaloid, fenolik, dan tanin. Senyawa flavonoid memiliki mekanisme membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang merusak integritas membran sel bakteri (Cowan, 1999). Senyawa alkaloid memiliki mekanisme menghambat komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh yang menyebabkan kematian sel bakteri serta senyawa tanin dengan mekanisme merusak sel bakteri, senyawa astringen tanin menginduksi pembentukan kompleks senyawa ikatan terhadap enzim atau substrat mikroba dan pembentukan suatu kompleks ikatan tanin terhadap ion logam yang dapat menambah daya toksisitas tanin (Juliantina dkk, 2010). Senyawa fenolik adalah antiseptik yang memiliki sifat bakterisida dan fungisid. Mekanisme kerjanya berdasarkan denaturasi protein sel bakteri (Tjay dan Raharja, 2007).

Ekstrak etanol 80% daun sirih merah, memiliki aktivitas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Candida albicans*, dengan zona hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 2,5% adalah 14,3 mm, *Staphylococcus aureus* konsentrasi 2,5% adalah 10,2 mm, dan *Candida albicans* dengan konsentrasi 10% adalah 9,6 mm (Reveny, 2011).

Kloramfenikol adalah antibiotik bakteriostatik berspektrum luas yang aktif terhadap banyak organisme aerobik dan anaerobik Gram positif maupun negatif, diantaranya kloramfenikol aktif terhadap *rickettsiae*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenza* (Katzung dan Bertram, 2004), *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* (Noviana, 2004), dan strain bakteri tertentu lainnya (Mutschler, 1991).

F. Hipotesis

Kombinasi ekstrak etanol daun sirih merah dengan senyawa terduga flavonoid, alkaloid, dan tanin dengan kloramfenikol mempunyai aktivitas antibakteri dan berefek sinergis terhadap bakteri *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, dan *Staphylococcus aureus*.