

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Salah satu penyakit yang dialami oleh masyarakat yang paling umum adalah infeksi. Infeksi merupakan penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Adapun bakteri penyebab bermacam infeksi diantaranya *Shigella sonnei* dan *Staphylococcus saprophyticus*. Bakteri *Shigella sonnei* merupakan bakteri penyebab disentri ringan sedangkan *Staphylococcus saprophyticus* merupakan bakteri yang dapat menyebabkan infeksi saluran kencing pada wanita yang masih muda (Brooks *et al.*, 2001). Untuk menghambat atau membunuh bakteri-bakteri penyebab infeksi umumnya digunakan obat-obatan antibiotik sintesis. Alternatif untuk mengurangi konsumsi antibiotik sintesis adalah dengan mengkonsumsi antibakteri alami yang bersumber dari tumbuhan untuk menghambat atau membunuh bakteri.

Bintaro (*Cerbera odollam* Gaertn.) termasuk famili *apocynaceae* merupakan tanaman penayang. Biji bintaro beracun dan dapat menyebabkan sesak nafas. Ekstrak bintaro memiliki aktivitas sebagai analgesik, antikonvulsan, kardiotonik, aktivitas hipotensi (Chang *et al.*, 2000), antikanker, antioksidan, antifungi (Murniana *et al.*, 2011), antilarva, dan antibakteri. Penelitian Rahman *et al.*, (2011) menunjukkan bahwa ekstrak akar bintaro memiliki daya hambat terhadap beberapa bakteri Gram positif dan Gram negatif. Ekstrak metanol akar bintaro memiliki daya hambat 16,34 mm terhadap bakteri *Shigella sonnei*. Biji bintaro memiliki aktivitas antibakteri terhadap beberapa bakteri seperti *Salmonella typhi*, *Streptococcus saprophyticus*, dan *Streptococcus pyogenes* dengan daya hambat masing-masing 15 mm, 11 mm, dan 16 mm (Ahmed *et al.*, 2008).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri terhadap *Shigella sonnei* dan *Staphylococcus saprophyticus* dengan metode dilusi padat serta untuk mengetahui senyawa kimia yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap kedua bakteri tersebut dengan metode bioautografi. Penelitian tentang aktivitas antibakteri masih terbatas pada biji dan akar. Penelitian yang dilakukan Rahman *et al.*, (2011) terhadap akar bintaro yang diekstrak dengan pelarut yang bersifat polar dapat menyari senyawa aktif seperti flavonoid, saponin, gum, dan

tanin. Pada penelitian ini ekstraksi dilakukan dengan etanol 70% yang bersifat polar.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut dapat dikembangkan rumusan masalah sebagai berikut:

1. Berapa konsentrasi bunuh minimum (KBM) ekstrak etanol daun bintaro terhadap *Shigella sonnie* dan *Staphylococcus saprophyticus* dengan metode dilusi padat?
2. Senyawa kimia apa dalam ekstrak etanol daun bintaro yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Shigella sonnie* dan *Staphylococcus saprophyticus* dengan metode bioautografi?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui :

1. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol daun bintaro terhadap bakteri *Shigella sonnei* dan *Staphylococcus saprophyticus* dengan metode dilusi padat.
2. Senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak etanol daun bintaro yang mempunyai aktivitas antibakteri dengan metode bioautografi.

D. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman Bintaro (*Carbera odollam* Gaertn.)

a. Klasifikasi dari tanaman :

Divisio : Spermatophyta
 Sub divisio : Angiospermae
 Classis : Dicotyledoneae
 Sub Classis : Sympetalae
 Ordo : Contortae / Apocynales
 Familia : Apocynacea
 Genus : *Cerbera*
 Species : *Cerbera odollam* Gaertn.

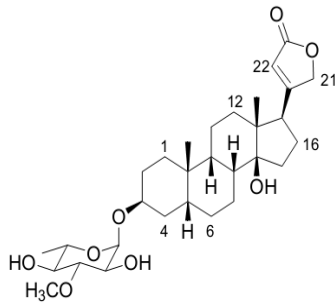
(Tjitrosoepomo, 2010)

b. Diskripsi tanaman

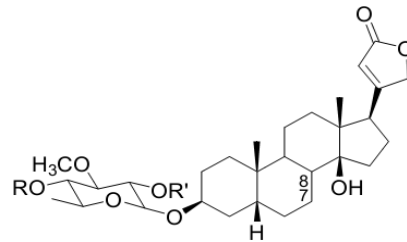
Bintaro merupakan tanaman pohon yang batangnya berkayu dan bercabang rendah. Bunga majemuk axilar pada bagian ujung percabangan, malai, aktinomorf, berwarna putih, pangkal petala saling berlekatan membentuk suatu tabung, corolla berwarna putih, harum, panjang tabung 1,5-2 cm. Daun memanjang, simetris, dan menumpul pada bagian ujung dengan ukuran bervariasi, tepi rata-rata memiliki panjang 25 cm, tersusun secara spiral terkadang tumpul pada ujung roset. Ujung benang sari yang membawa bingkai jatuh di bawah leher, tidak menutup jalan masuk ke tabung. Bagian pembatas antara petala yang membentuk tabung dan yang terlepas terdapat rambut-rambut yang tidak begitu lebat. Petala bagian apex menutup ke kiri, taju kelopak sempit, berbilangan 5. Bakal buah 2 dan saling lepas, kepala putik tebal dengan ujung terbelah tumpul. Buah batu, bentuk serupa bola, jika sudah masak berwarna ungu tua/gelap, berbiji 1-2. Biji tanpa gombak rambut (Steenis, 2002).

c. Kandungan kimia

Spesies Cerbera diketahui mengandung serangkaian glikosida jantung dari jenis cardenolide. Biji berisi cardenolides berasal dari tanghinigenin aglycones dan digitoxigenin, seperti cerberin, neriifolin, dan thevetin B. Cardenolides utama yang terkandung dalam kulit kayu dan akar adalah gentiobiosyl-thevetoside dan thevetoside glucosyl. Cardenolides di daun adalah neriifolin dan deacetyltanghinin (Khanh, 2001). Selain glikosida jantung, pada daun, buah dan kulit batang mengandung *saponin*. Daun dan buahnya juga mengandung polifenol, disamping itu kulit batangnya mengandung tanin (Salleh, 1997 *cit* Tarmadi *et al.*, 2007). Selain senyawa gentiobiosyl-thevetoside dan thevetoside glucosyl bagian akar juga mengandung senyawa steroid, flavonoid, saponin, dan tanin (Rahman *et al.*, 2011).



a. neriifolin



b. Thevetin B
 c. Cerberin
 d. Deacetyltanghinin

Keterangan: a. neriifolin,; b. Thevetin B ($R = \beta$ -gentiobiosyl, $R' = H$); c. Cerberin ($R = H$, $R' = Ac$); d. Deacetyltanghinin ($R = R' = H$, $C_{7,8}\beta\beta$ -epoxy)

2. Metode Penyarian (Ekstraksi)

Penyarian atau ekstraksi adalah penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih dimana zat yang diinginkan larut. Bahan mentah obat yang berasal dari tumbuh-tumbuhan atau hewan tidak perlu diproses lebih lanjut kecuali dikumpulkan dan dikeringkan (Ansel, 1989).

Metode penyarian yang akan digunakan tergantung dari wujud dan kandungan bahan yang disari. Pemilihan metode penyarian disesuaikan dengan kepentingan untuk memperoleh kandungan kimia dari suatu tanaman. Penelitian ini menggunakan metode penyarian maserasi. Maserasi merupakan proses penyarian yang paling sederhana dan banyak digunakan untuk menyari bahan obat yang kandungan organik dalam tumbuhan tersebut cukup tinggi dan telah diketahui jenis pelarut yang dapat melarutkan senyawa yang akan diisolasi. Keuntungan dari metode ini yaitu cara pengerjaannya yang mudah, alat yang digunakan sederhana, cocok untuk bahan yang tidak tahan pemanasan. Salah satu penyari yang dapat digunakan adalah etanol. Etanol 70% sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal, dimana bahan pengganggu (lemak dan klorofil) hanya sedikit larut dalam cairan pengekstrasi.

3. Bakteri Uji

a. *Shigella sonnei*

Sistematika dari bakteri ini adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Procaryote
Divisio	: Cyanobacteria
Ordo	: Eubacteriales
Famili	: Micrococcaceae
Genus	: <i>Shigella</i>
Species	: <i>Shigella sonnei</i> (Radji, 2011)

Bakteri *Shigella sonnei* merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang. Bakteri *Shigella sonnei* dapat menyebabkan desentri dan infeksi peradangan akut di usus besar dengan ciri-ciri tinja yang keluar encer disertai darah, nanah dan lendir (Gould dan Brooker, 2003). Selain itu dapat menyebar melalui sistemik yang menyebabkan meningitis. *Shigella* dapat mencemari makanan yang basah, susu, kacang-kacangan, kentang, ikan tuna, udang, jenis unggas seperti kalkun, sayur-sayuran dan buah.

b. *Staphylococcus saprophyticus*

Sistematika dari bakteri ini adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Procaryote
Divisio	: Cyanobacteria
Ordo	: Eubacteriales
Famili	: Micrococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus saprophyticus</i> (Radji, 2011)

Staphylococcus saprophyticus merupakan bakteri berbentuk kokus berdiameter 1 μm . Bakteri ini membentuk koloni dan tidak berpigmen. Bakteri *Staphylococcus saprophyticus* merupakan bakteri Gram positif yang dapat menginfeksi saluran kencing pada wanita (Rose dan Kaye, 1997). Tanda maupun gejala yang ditimbulkan susah dibedakan dengan infeksi bakteri patogen lain yang terdapat di saluran kemih lain.

4. Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa yang bisa menghambat pertumbuhan bakteri tertentu yang dapat menyebabkan penyakit. Berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada antibakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri dan bersifat membunuh bakteri. Serangan zat antibakteri dapat diprediksi dengan melihat struktur serta komposisi sel bakteri. Kerusakan pada salah satu komposisi dapat mengawali terjadinya perubahan-perubahan yang menuju kepada matinya sel tersebut.

a. Kerusakan pada dinding sel

Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukan atau mengubahnya setelah selesai terbentuk. Antibiotik yang bekerja dengan mekanisme ini adalah penisilin. Pembentukan dinding sel bakteri dapat dicegah oleh Penisilin dengan cara menghambat digabungkannya asam-N-asetilmuramat ke dalam struktur mukopeptida di dalam sel yang bertugas memberi bentuk dasar dinding sel bakteri.

b. Perubahan permeabilitas sel

Membran sitoplasma bertugas mengatur keluar masuknya bahan-bahan dari luar sel serta mempertahankan bahan-bahan tertentu di dalam sel. Membran memelihara integritas komponen-komponen seluler. Kerusakan pada membran isi dapat berakibat pertumbuhan sel menjadi terhambat atau lisis pada sel.

Perusakan struktur dinding sel dapat dilakukan oleh antibiotik Polimiksin, sehingga komponen-komponen lipoprotein mengalami disorientasi serta mencegah fungsi membrane yang bertugas sebagai perintang osmosis.

c. Perubahan molekul protein dan asam nukleat

Kelangsungan hidup suatu sel tergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiahnya. Senyawa antibakteri dapat mengubah keadaan tersebut dengan mendenaturasikan protein dan asam-asam nukleat sehingga terjadi kerusakan sel secara permanen.

Salah satu antibakteri kimiawi yang bekerja dengan cara mendenaturasi protein dan merusak membran sel adalah fenolat dan persenyawaan fenolat.

d. Penghambatan kerja enzim

Sulfonamid merupakan senyawa kemoterapik sintesis yang bekerja dengan cara bersaing dengan PABA (Asam p-amino benzoat) di dalam reaksi karena adanya kemiripan antara molekul PABA dan sulfonamida, sehingga dapat menghalangi sintesis asam folat sebagai asam esensial yang berperan dalam sintesis purin dan pirimidin. Dengan tidak terbentuknya enzim, maka aktivitas dalam sel secara normal akan terganggu.

e. Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein

Tetrasiklin merupakan antibiotik yang dapat menghambat sintesis protein dengan cara menghalangi terlibatnya RTA (RNA Transfer Aminoasit) pada jalur spesifik ribosom selama pemanjangan rantai peptida. Sedangkan antibiotik golongan kuinolon dan asam nalidiksat dapat menghambat enzim DNA-girase yang menghasilkan lilitan pada DNA untai ganda (Radji, 2010).

Senyawa yang berkhasiat sebagai antibakteri juga bisa berasal dari alam salah satunya dari tanaman seperti tanin, saponin, dan flavonoid (Fitrial *et al.*, 2008). Saponin merupakan senyawa yang dapat mengakibatkan hemolisis sel karena terjadi peningkatan permeabilitas membran sel pada bakteri. Flavonoid merupakan senyawa fenol yang cenderung dapat mengikat protein, sehingga proses metabolisme pada bakteri terganggu. Senyawa tanin dalam konsentrasi rendah dapat menghambat pertumbuhan bakteri, senyawa tanin pada konsentrasi tinggi dapat bekerja sebagai antimikroba dengan jalan menggumpalkan protoplasma pada kuman sehingga berikatan kuat dengan protein kuman (Masniari, 2010).

5. Uji Aktivitas Antibakteri

Pengaruh potensi antibakteri dari suatu zat dapat dilakukan dengan cara dilusi cair dan dilusi padat. Prinsip metode dilusi cair adalah dengan cara masing-masing konsentrasi obat ditambahkan suspensi bakteri dalam media, sedangkan pada dilusi padat tiap konsentrasi obat dicampur dengan media agar, lalu ditanami bakteri. Metode dilusi cair merupakan metode untuk menentukan konsentrasi minimal yang dapat menghambat dan membunuh bakteri (KHM dan KBM).

Analisis yang dilakukan untuk hasil uji dilusi padat terhadap bakteri adalah dengan mengamati ada atau tidak pertumbuhan bakteri yang dibandingkan dengan kontrol, KBM ditetapkan sebagai kadar minimal yang dapat membunuh bakteri.

6. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi merupakan suatu proses pemisahan dimana analit-analit dalam sampel terdistribusi antara 2 fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Kromatografi lapis tipis adalah salah satu jenis dari kromatografi. Kromatografi lapis tipis dalam pelaksanaannya lebih mudah dan murah dibandingkan dengan kromatografi kolom. Peralatan yang digunakan juga lebih sederhana dibandingkan jenis kromatografi yang lain.

a. Fase diam

Fase diam yang sering digunakan pada KLT adalah *silica* dan serbuk selulosa. Mekanisme yang digunakan sorpsi-desorpsi yaitu perpindahan solute dari fase diam ke fase gerak atau sebaliknya. Fase diam juga dapat dibuat dari silika yang telah dimodifikasi, resin penukar ion, gel eksklusi, dan siklodextrin yang digunakan untuk pemisahan kiral (Rohman, 2009).

Fase diam dalam KLT merupakan lapisan yang dibuat dari bahan halus berbutir yang ditempatkan pada suatu lempengan. Sifat terpenting dari fase diam adalah homogenitas dan besar partikel. Besar partikel yang umum digunakan adalah 1-25 mikron. Partikel yang butirannya kasar tidak dapat memberikan hasil yang memuaskan (Sastrohamidjojo, 2002).

b. Fase gerak

Cara yang paling sederhana adalah dengan menggunakan campuran 2 pelarut organik, dengan daya elusi campuran kedua pelarut ini dapat mudah diatur sehingga pemisahan dapat terjadi secara optimal. Fase gerak harus mempunyai kemurnian yang sangat tinggi karena KLT merupakan teknik yang sensitif. Daya elusi fase gerak harus diatur sehingga R_f solut antara 0,2-0,8 untuk memaksimalkan pemisahan (Rohman, 2009).

Pemilihan fase gerak harus menggunakan campuran pelarut organik yang mempunyai polaritas serendah mungkin karena untuk mengurangi serapan setiap komponen dari campuran pelarut. Jika komponen mempunyai sifat polar tinggi dalam campuran akan merubah sistem menjadi sistem partisi. Campuran yang

baik dapat memberikan fase gerak yang mempunyai kekuatan bergerak sedang, tetapi sebaiknya dicegah sejauh mungkin mencampur lebih dari dua fase gerak, terutama karena campuran yang lebih kompleks cepat mengalami perubahan fase akibat perubahan suhu (Sastrohamidjojo, 2002). Optimasi fase gerak yang dilakukan Kuddus *et al.*, (2011) untuk memisahkan senyawa-senyawa yang berada di dalam bintaro dengan menggunakan toluen : etilasetat (85:15) yang akhirnya digunakan untuk memfraksi dan mengisolasi senyawa aktif.

7. Uji Bioautografi

Bioautografi merupakan metode spesifik untuk mengetahui harga *Rf* ataupun isolasi dari senyawa murni yang memiliki aktivitas antibakteri dengan menggunakan KLT (Salni *et al.*, 2011). Bioautografi dibagi menjadi bioautografi langsung, bioautografi *overlay* dan bioautografi kontak. Bioautografi langsung dilakukan dengan menempelkan plat KLT di permukaan media agar yang telah disuspensikan bakteri. Area jernih menunjukkan adanya senyawa aktif. Bioautografi *overlay* dilakukan dengan meletakkan plat KLT di cawan petri dan dituangi media agar yang telah dicampur bakteri. Area hambatan diamati dengan disemprot tetrazolium klorida. Area jernih dengan latar belakang ungu menunjukkan adanya senyawa aktif (Pratiwi, 2008). Bioautografi kontak dilakukan dengan cara meletakkan lempeng kromatografi hasil elusi senyawa yang akan diuji di atas media padat yang sudah diinokulasi dengan bakteri uji. Adanya senyawa antimikroba ditandai dengan daerah jernih tidak ditumbuhi mikroba (Kusumaningtyas *et al.*, 2008).

E. Keterangan Empiris

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan data ilmiah mengenai aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun bintaro terhadap bakteri *Shigella sonnei* dan *Staphylococcus saprophyticus* dengan metode dilusi padat serta mengetahui senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri dengan analisis bioautografi pada lempeng KLT.