

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Mikroorganisme sangat erat hubungannya dengan kesehatan manusia, beberapa diantaranya ada bermanfaat dan yang lain merugikan. Banyak penyakit manusia, hewan, dan tumbuhan disebabkan oleh mikroba patogen seperti : jamur, bakteri, dan ganggang (Haryoto, 2013). Di Indonesia, penyakit infeksi masih merupakan masalah utama dibidang kesehatan. Bakteri merupakan suatu mikroorganisme yang dapat mudah tersebar dari satu inang yang terinfeksi kepada inang yang lainnya (Irianto, 2012). Beberapa diantara bakteri penyebab infeksi ialah *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* (Entjang, 2003). Pengobatan penyakit infeksi dibutuhkan suatu antibakteri untuk menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri tersebut (Pratiwi, 2008).

Pemanfaatan bahan alam sebagai zat aktif pembunuh bakteri merupakan salah satu alternatif untuk menghambat atau membunuh bakteri dengan harga terjangkau (Widjajanti, 1999). Tanaman buni (*Antidesma bunius* (L.) Spreng) merupakan salah satu tanaman yang dimanfaatkan sebagai obat. Tanaman ini memiliki banyak peluang jika dilakukan penelitian dibidang kesehatan khususnya. Pada awalnya tanaman buni dianggap tidak bermanfaat sehingga kurang dibudidayakan dan dimanfaatkan, padahal tanaman ini memiliki beberapa aktifitas farmakologis. Terbukti dengan berbagai penelitian yang telah dilakukan terhadap tanaman buni sebagai anti ophidian (Binorkar *et al.*, 2012), antidiabetes (Elya *et al.*, 2012), antikanker (Micor *et al.*, 2005), sitotoksik (Puspitasari *et al.*, 2009), antikanker (Subarnas *et al.*, 2012), antiradikal (Butkhup *et al.*, 2011), pewarna makanan alami (Amelia *et al.*, 2012). Dimasyarakat digunakan sebagai pengobatan tradisional seperti darah tinggi, jantung berdebar, dan sifilis (Wijayakusuma *et al.*, 2002).

Penelitian Habib *et al.*, (2011) menunjukkan bahwa pada ekstrak metanol tanaman *Antidesma ghaesembilla* memiliki potensi pada beberapa bakteri seperti

Salmonella typhi, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Shigella dysenteriae* menghasilkan zona hambat (0 sampai 17 mm) pada konsentrasi 400µg/disk sampai 1200µg/disk yang dibandingkan dengan kanamisin sebagai standar. Penelitian lain menunjukkan ekstrak akar *Antidesma venosum* mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) sebesar 0,0781 mg/mL dan terhadap *Bacillus subtilis* mempunyai KHM sebesar 0,1562 mg/mL (Mwangomo, 2012). Pada fraksi metanol daun buni mengandung senyawa saponin, gula, flavonoid dan tanin sedangkan pada kulit batang mengandung terpen, gula, dan flavonoid (Elya *et al.*, 2012). Penelitian Habib *et al.*, (2011) pada ekstrak metanol tanaman *Antidesma ghaesembilla* dengan kandungan fenol, flavonoid, resin, gula, dan tanin.

Berdasarkan uraian tersebut daun *Antidesma bunius* berasal dari genus yang sama dengan *Antidesma ghaesembilla* dan *Antidesma venosum* yaitu *Antidesma*, yang membedakan yaitu spesiesnya. Sehingga sangat memungkinkan kandungan dari fraksi nonpolar, semipolar, dan polar ekstrak etanol daun *Antidesma bunius* yang mirip dengan *Antidesma ghaesembilla* dan *Antidesma venosum* yang juga memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian ini dimaksudkan untuk menguji aktivitas antibakteri fraksi nonpolar, semipolar, dan polar ekstrak etanol daun buni terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* serta bioautografinya.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang diatas dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Apakah fraksi nonpolar, semipolar dan polar ekstrak etanol daun buni mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* serta berapa diameter zona hambat yang diperoleh ?
2. Senyawa kimia apakah yang terkandung dalam fraksi nonpolar, semipolar dan polar ekstrak etanol daun buni yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* ?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang dan rumusan masalah yang telah disebutkan, maka tujuan penelitian ini adalah :

1. Mengetahui aktivitas antibakteri fraksi nonpolar, semipolar, dan polar ekstrak etanol daun buni terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* dengan menentukan diameter zona hambat melalui metode difusi.
2. Mengetahui kandungan senyawa kimia yang terkandung di dalam fraksi nonpolar, semipolar, dan polar ekstrak etanol daun buni yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* dengan metode bioautografinya.

D. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman buni (*Antidesma bunius* (L.) Spreng)

a. Klasifikasi dari tanaman buni sebagai berikut:

- Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
 Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
 Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
 Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
 Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
 Sub Kelas : Rosidae
 Ordo : Euphorbiales
 Famili : Euphorbiaceae
 Genus : *Antidesma*
 Spesies : *Antidesma bunius* (L.) Spreng (Anonim, 2013)



b. Identifikasi

Pohon, tinggi 15-30 m. Daun bertangkai pendek, bentuk lanset sampai alliptis, boleh dikatakan gundul, panjang 9-25 cm. Tanaman berumah 2; bunga dalam tandan di ujung dan dalam ketiak, tandan yang jantan bentuk malai mengecil. Bunga jantan duduk atau bertangkai pendek, bau tidak enak; kelopak berbentuk bola cawan; pendek berlekuk 3-4, panjang 1-2 mm. Benang sari 3-4; tonjolan penebalan dasar bunga dengan taju yang tidak sama, gundul, dan

berseling dengan kelopak; putik yang rudimeter besar. Bunga betina bertangkai; kelopak bentuk cekungan, bertaju 3-4 pendek, panjang 1 mm, bakal buah gundul, bentuk telur-botol; kepala putik 3-4, pendek dan tebal, melengkung ke luar. Buah elliptis lebar, hijau kemudian merah, akhirnya ungu kehitaman, gundul, panjang 1 cm, dengan daging buah yang dapat dimakan dan biji yang batu yang pipih dengan rusuk yang berbentuk jala. Dihutan; sampai 1.300 m; juga banyak ditanam untuk buahnya (Steenis, 1997).

c. Kandungan kimia

Antidesma bunius (L.) Spreng (Buni) pada fraksi metanol daun mengandung senyawa saponin, sugar, flavonoid dan tanin sedangkan pada kulit batang mengandung terpen, sugar, dan flavonoid (Elya *et al.*, 2012). Kandungan kimia utama yang terkandung dalam buah buni antara lain flavonoid, tanin, fenolik, dan polifenol (Butkhup *et al.*, 2008).

2. Kromatografi Kolom

Saat ini kromatografi yang melibatkan kolom (tempat terdapatnya fase diam) seperti kromatografi cair kinerja tinggi dan kromatografi gas digunakan secara lebih luas dibanding dengan kromatografi planar.

Untuk pemisahan campuran-campuran dalam kolom, solut-solut dicirikan dengan waktu retensi dan faktor retensi yang berbanding lurus dengan perbandingan distribusi.

Kualitas pemisahan dengan kromatografi kolom dapat dikontrol dengan melakukan serangkaian uji kesesuaian sistem meliputi:

- a. Efisiensi kolom
- b. Resolusi atau daya pisah
- c. Simetris puncak
- d. Faktor retensi atau kapasitas kolom (Rohman, 2009).

3. *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi dari bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu:

Divisi	: Protophyta
Kelas	: Schizomycetes
Bangsa	: Eubacteriales

Suku : Micrococcaceae
Marga : *Staphylococcus*
Jenis : *Staphylococcus aureus* (Anonim, 1994).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif dengan diameter dari 0,5-1,5 μm , berbentuk bulat, dapat berdiri sendiri, berpasangan atau membentuk kelompok seperti anggur. Saat ini ada 32 spesies dan delapan subspecies dalam genus *Staphylococcus*. *Staphylococcus* bersifat anaerob fakultatif yang tumbuh oleh respirasi aerobik atau melalui fermentasi. Sebagian besar spesies memiliki kebutuhan gizi relatif kompleks namun pada umumnya *Staphylococcus* membutuhkan sumber organik nitrogen yang didapat dari lima sampai 12 asam amino esensial misalnya vitamin B termasuk tiamin dan nikotinamida (Harris, 2002).

Staphylococcus aureus mudah tumbuh pada kebanyakan pembenihan bakteriologik, dalam keadaan aerobik atau mikroaerobik. *Staphylococcus aureus* tumbuh paling cepat pada suhu kamar 37°C, paling baik membentuk pigmen pada suhu kamar (20°C) dan pada media dengan pH 7,2-7,4. Koloni pada perbenihan padat berbentuk bulat, halus menonjol, dan berkilau-kilauan membentuk pigmen. Bakteri ini merupakan bakteri Gram positif, tidak membentuk spora, tak bergerak, dan dapat tumbuh pada berbagai media pada suasana aerob. *Staphylococcus aureus* dapat memfermentasikan beberapa karbohidrat dan dapat menghasilkan pigmen yang berwarna, tidak dapat larut air (Jawetz *et al.*, 2005). *Staphylococcus aureus* dianggap sebagai patogen utama yang menginfeksi manusia dengan penurunan imunitas, dan orang-orang sehat di masyarakat. Bakteri ini ditemukan secara alami pada kulit dan di nasofaring dari tubuh manusia. Hal ini dapat menyebabkan infeksi lokal pada kulit, hidung, uretra, vagina dan saluran pencernaan, yang sebagian besar adalah ringan dan tidak mengancam jiwa (Harris, 2002).

4. *Bacillus subtilis*

Klasifikasi bakteri *Bacillus subtilis* adalah sebagai berikut :

Divisio : Bakteri
Filum : Firmicutes

Kelas : Bacilli
Ordo : Bacillales
Famili : Bacillaceae
Genus : *Bacillus*
Spesies : *Bacillus subtilis* (Jawetz *et al.*, 2005)

Menurut Lopez and Formstone (2007) *Bacillus subtilis* merupakan bakteri Gram positif. Bakteri ini berbentuk batang yang patogen terhadap manusia karena sering mencemari makanan. *Bacillus subtilis* menghasilkan enzim preteolitik subtilin. Infeksi dari *Bacillus subtilis* menyebabkan meningitis, endokarditis, infeksi mata, dan lainnya.

5. Antibakteri

Antibakteri merupakan suatu zat yang dapat mengganggu proses pertumbuhan bakteri (Pratiwi, 2008). Contoh yang lazim bertindak sebagai antibakteri meliputi beberapa antibiotika, antiseptika, dan desinfektan. (Irianto, 2012).

Menurut Jawetz *et al.*, (2005) beberapa target antibakteri yaitu:

- a. Kerusakan pada dinding sel
- b. Perubahan permeabilitas membran
- c. Perubahan molekul dan asam nukleat
- d. Penghambatan kerja enzim
- e. Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein

6. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri *Cup-plate technique* yaitu:

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

7. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi merupakan suatu proses pemisahan analit-analit dalam sampel yang terdistribusi pada sistem 2 fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Kromatografi lapis tipis merupakan kromatografi serapan, tetapi dapat juga merupakan kromatografi partisi karena bahan penyerap telah dilapisi air dari

udara (Rohman, 2009). Menurut Gandjar dan Rohman (2007) Sistem ini memiliki banyak memiliki keuntungan, misalnya peralatan yang diperlukan sedikit, murah, sederhana, waktu analisis cepat, daya pisah cukup baik, pemakaian pelarut dalam cuplikan sedikit dan kemungkinan penotolan cuplikan berganda (saling membandingkan langsung cuplikan praktis).

a. Fase diam

Fase diam untuk KLT adalah silika gel, alumina, kiselgur, dan selulosa dengan mekanisme sorpsi-desorpsi (suatu mekanisme perpindahan solute dari fase diam ke fase gerak dan atau sebaliknya) yang utama pada KLT yaitu partisi dan adsorpsi. Fase diam silika pada KLT biasanya sudah mengalami modifikasi yaitu resin penukar ion, gel eksklusi, dan siklodekstrin yang digunakan untuk pemisahan kiral (Rohman, 2009).

b. Fase gerak

Fase gerak yaitu dipilih berdasarkan faktor-faktor yang terdapat dalam pemisahan seperti kepolaran. Sistem yang paling sederhana untuk fase gerak ialah campuran 2 pelarut organik karena daya elusi campuran kedua pelarut ini dapat mudah diatur sedemikian rupa sehingga pemisahan yang terjadi optimal (Gandjar dan Rohman, 2007).

8. Bioautografi

Bioautografi adalah suatu teknik laboratorium untuk mendeteksi senyawa antibakteri dalam campuran yang kompleks dan matriks sehingga dihasilkan suatu antibakteri, antijamur, antiprotozoa, dan lainnya (Pratiwi, 2008).

Metode bioautografi terbagi menjadi 3 yaitu:

a. *Contact bioautography* atau bioautografi kontak

Pada *Contact bioautography* antibakteri berdifusi dari plat KLT ke media yang sudah diinokulasi bakteri. Kromatogram diletakkan menghadap ke bawah lapisan media dan biarkan beberapa menit atau jam untuk membiarkan bakteri berdifusi. Selanjutnya kromatogram diambil dan media diinkubasi. Dilihat dan diukur zona hambat pada permukaan media.

b. *Immersion or agar-overlay bioautography*

Pada *Immersion or agar-overlay bioautography* kromatogram dilapisi oleh media. Biasanya sebelum media dibiarkan memadat dalam suhu rendah sehingga

memungkin bakteri berdifusi dari kromatogram ke media. Setelah media terjadi pemadatan, diinkubasi dan dilakukan pewarnaan (biasanya dengan *tetrazolium dye*) lalu zona hambat antibakteri diukur dan dilihat. Antimikroba ditransfer dari pelat KLT ke lapisan media seperti dalam uji kontak tetapi selama inkubasi dan visualisasi media tetap dalam cawan petri seperti dalam bioautografi langsung. Kerugian utama dari metode ini adalah sensitivitas yang lebih rendah disebabkan oleh cairan antibakteri dalam lapisan agar dibandingkan dengan bioautografi langsung.

c. Direct bioautography atau bioautografi langsung

Pada *Direct bioautography* media dicelupkan dalam suspensi bakteri atau disemprotkan suspensi bakteri pada media tersebut. Media diinkubasi dan bakteri dibiarkan tumbuh di atas media. Visualisasi garam tetrazolium biasanya digunakan, dikonversi oleh dehydrogenases mikroorganisme hidup untuk intens berwarna, formazan. Bakteri yang dibunuh oleh antimikroba pada pelat KLT menyebabkan warna tidak diproduksi di tempat-tempat antibakteri dan apa yang disebut zona penghambatan yang pucat pada latar belakang berwarna (Choma, 2005).

E. Landasan Teori

Fraksi metanol daun buni (*Antidesma bunius* (L.) Spreng) mengandung senyawa saponin, gula, flavonoid dan tanin (Elya *et al.*, 2012) sedangkan *Antidesma ghaesembilla* mengandung senyawa fenol, flavonoid, resin, gula, dan tanin (Habib *et al.*, 2011). Aktivitas antibakteri ekstrak metanol tanaman *Antidesma ghaesembilla* dengan metode *disc diffusion* memiliki potensi pada beberapa bakteri dengan konsentrasi 400, 800, dan 1200 µg/disk pada *Salmonella typhi* menghasilkan diameter zona hambatnya berturut-turut sebesar 7, 12, dan 16 mm, *Bacillus cereus* menghasilkan diameter zona hambatnya berturut-turut sebesar 8, 12, dan 17 mm, *Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan diameter zona hambatnya berturut-turut sebesar 9, 12, dan 15 mm, dan pada *Shigella dysenteriae* menghasilkan diameter zona hambatnya berturut-turut sebesar 7, 12, dan 13 mm yang dibandingkan dengan kanamisin sebagai standar (Habib *et al.*, 2011).

Penelitian lain ekstrak etanol akar *Antidesma venosum* menunjukkan aktivitas antibakteri dengan metode dilusi terhadap *Staphylococcus aureus* menghasilkan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) sebesar 0,0781% mg/mL dan *Bacillus subtilis* mempunyai KHM sebesar 0,1562% mg/mL (Mwangomo *et al.*, 2012)

Berdasarkan kenyataan tersebut daun buni (*Antidesma bunius* (L.) Spreng) berasal dari genus yang sama dengan *Antidesma ghaesembilla* dan *Antidesma venosum* yaitu *Antidesma* tetapi dengan spesies berbeda sehingga sangat memungkinkan kandungan dari fraksi nonpolar, semipolar dan polar ekstrak etanol daun *Antidesma bunius* yang komponennya sama dengan *Antidesma ghaesembilla* dan *Antidesma venosum* yang juga memiliki aktivitas antibakteri.

F. Hipotesis

Fraksi nonpolar, semipolar dan polar ekstrak etanol daun buni (*Antidesma bunius* (L.) Spreng) mempunyai senyawa kimia yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*.