

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang Masalah**

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah dalam bidang kesehatan yang terus berkembang dari waktu ke waktu. Infeksi disebabkan oleh bakteri, virus, jamur, protozoa dan beberapa kelompok minor lain seperti mikroplasma, dan klamidia. Ada sekitar 50 spesies bakteri yang bersifat patogenik atau mampu menimbulkan penyakit. Beberapa contoh bakteri Gram-positif dan Gram-negatif yang dapat menyebabkan infeksi diantaranya adalah *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*.

Bakteri-bakteri penyebab infeksi agar dapat dibunuh biasanya menggunakan obat-obatan yang mengandung antibiotik sintesis. Terapi infeksi dengan antibiotik sintesis dapat membawa masalah tersendiri, yaitu adanya resistensi bakteri terhadap antibiotik tersebut dan gejala-gejala yang menunjukkan adanya efek samping dengan antibiotik. Upaya mencari alternatif lain dalam pengobatan infeksi adalah dengan penggunaan obat tradisional. Senyawa alami yang berpotensi sebagai antibakteri umumnya mengandung steroid, tanin, polifenol, flavonoid (Rahman *et al.*, 2011), alkaloid, saponin (Ahmad *et al.*, 2008).

Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antibakteri alami adalah tanaman bintaro (*Cerbera odollam*). Bintaro adalah tanaman mangrove yang termasuk dalam famili *apocynaceae* dan tumbuh secara luas di daerah pesisir selatan Asia Timur dan Samudera Hindia (Cheenpracha *et al.*, 2004). Bagian bijinya sangat beracun, karena mengandung cerberin sebagai kardenolid aktif utama (Gaillard *et al.*, 2004; Kuddus *et al.*, 2011). Ekstrak bintaro dapat dimanfaatkan sebagai analgesik, antikonvulsan, kardiotonik dan aktivitas hipotensi (Chang *et al.*, 2000). Daun, buah dan kulit batang bintaro mengandung saponin, kulit batangnya mengandung tanin, di samping itu daun dan buahnya juga mengandung polifenol (Salleh, 1997; Tarmadi *et al.*, 2007). Akar bintaro mengandung saponin, tanin, steroid, flavonoid, dan gums (Rahman *et al.*, 2011). Ekstrak metanol biji bintaro mengandung alkaloid, tanin, dan saponin (Ahmad *et al.*, 2008).

Penelitian Rahman *et al.* (2011) terhadap ekstrak metanol akar pohon bintaro mempunyai aktivitas antibakteri pada beberapa bakteri Gram-positif dan Gram-negatif. Zona hambat yang dihasilkan adalah 14,65 mm untuk bakteri *Salmonella typhi* (Gram-negatif) sedangkan zona hambat yang dihasilkan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Gram-positif) adalah 10,80 mm, dengan konsentrasi ekstrak 200 mg/disc. Penelitian Ahmad *et al.*, (2008) menunjukkan ekstrak metanol biji bintaro mampu menghambat beberapa bakteri seperti *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus saprophyticus*, *Streptococcus pyogenes*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, dan *Shigella dysenteriae*. Zona hambatan terhadap bakteri *Salmonella typhi* sebesar 15 mm dan *Staphylococcus aureus* sebesar 6 mm, dengan konsentrasi ekstrak 50 µg/mL.

Beberapa penelitian yang terkait membuktikan bahwa senyawa kimia pada bagian akar dan biji bintaro dapat larut dalam pelarut metanol yang merupakan pelarut polar dan juga belum ditemukannya penelitian yang menggunakan daun bintaro sebagai antibakteri. Sementara itu, kandungan bintaro adalah saponin steroid, fenolik, tanin, dan flavonoid yang dapat dimanfaatkan untuk antibakteri. Beberapa alasan inilah yang mendorong untuk dilakukan penelitian tentang aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% daun bintaro terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Gram-positif) dan bakteri *Salmonella typhi* (Gram-negatif) dengan metode dilusi padat beserta bioautografinya.

## **B. Perumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan tersebut, maka dapat dirumuskan suatu permasalahan yaitu:

1. Berapa Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol daun bintaro terhadap *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* dengan metode dilusi padat?
2. Golongan senyawa apa dalam ekstrak etanol daun bintaro yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* dengan metode bioautografi?

### C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah tersebut maka tujuan dari penelitian ini adalah untuk:

1. Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun bintaro terhadap *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* dengan menentukan nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) dengan metode dilusi padat.
2. Mengetahui golongan senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak etanol daun bintaro yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* dengan metode bioautografi.

### D. Tinjauan Pustaka

#### 1. Daun Bintaro

##### a. Deskripsi Tanaman Bintaro



A

B

**Gambar 1. Tanaman Bintaro**  
Pohon Bintaro (*Carbera odollam*) (A); Daun bintaro (B)

Gambar 1 merupakan tanaman bintaro yang mempunyai banyak manfaat. Bagian dari tanaman yang sering digunakan adalah akar, kulit batang, buah dan daun. Biasanya dimanfaatkan sebagai antilarva, antinoseptik, antibakteri, diuretik, dan yang lainnya (Chang *et al.*, 2000).

Klasifikasi tanaman bintaro sebagai berikut:

Divisio : Spermatophyta

Sub Divisio : Angiospermae

Classis : Dicotyledoneae

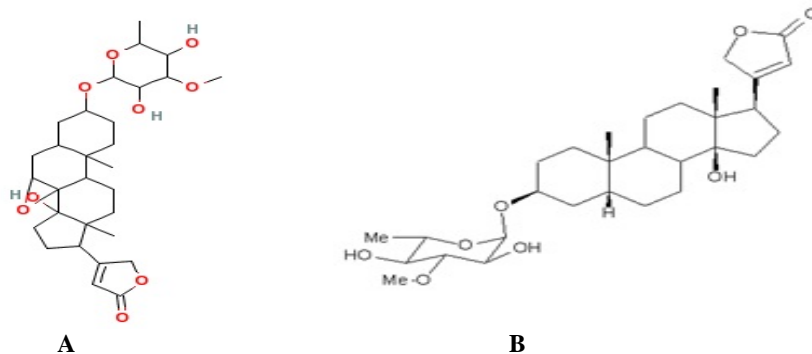
Sub Classis : Sympetalae

Ordo : Contortae / Apocynales  
 Familia : Apocynacea  
 Genus : Cerbera  
 Species : *Cerbera odollam* (Tjitrosoepomo, 2007)

Bintaro (*Cerbera odollam*) merupakan tanaman berupa pohon (Gambar 1). Batang berkayu dan bercabang rendah. Daun tunggal (Gambar 1) dengan duduk daun tersebar, bangun daun bulat telur terbalik sampai lanset, tepi rata, apex daun meruncing, basal daun runcing, warna hijau mengkilat, permukaan licin, pertulangan daun menyirip (Steenis, 2005).

#### b. Kandungan kimia

Spesies *Cerbera* diketahui mengandung serangkaian glikosida jantung dari jenis *cardenolide*. Biji berisi *cardenolide* berasal dari *tanghinigeninaglycones* dan *digitoxigenin*, seperti *cerberin*, *neriifolin* (Gambar 2), dan *thevetin B*. *Cardenolide* utama yang terkandung dalam kulit kayu dan akar adalah *gentiobiosyl-thevetoside* dan *thevetosideglucosyl*. *Cardenolide* di daun adalah *neriifolin* (Gambar 2) dan *deacetyltanghinin* (Gambar 2) (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; Tarmadi *et al.*, 2007). Akar bintaro mengandung saponin, tanin, steroid, flavonoid, dan gums (Rahman *et al.*, 2011). *Tanghinigenin* adalah suatu glikosida jantung yang terisolasi dari biji *Cerbera manghas* (HuaJiao *et al.*, 2010). Ekstrak metanol biji bintaro mengandung alkaloid, tanin, dan saponin (Ahmad *et al.*, 2008).



**Gambar 2. Struktur Kardenolida**  
 Struktur *Deacetyltanghinin* (A); Struktur *Neriifolin* (B)

### c. Aktivitas Tumbuhan

Bintaro memiliki banyak khasiat untuk berbagai pengobatan. Bintaro dapat dimanfaatkan sebagai analgesik, antikonvulsan, kardiotonik, dan aktivitas hipotensi (Chang *et al.*, 2000). Di Thailand, kulit kayu digunakan sebagai antipiretik, pencahar dan dalam pengobatan disuria. Bagian bunga diterapkan untuk mengobati wasir (Khanh, 2001). Penelitian Rahman *et al.*, (2011) menyatakan bahwa ekstrak metanol akar bintaro mempunyai aktivitas antibakteri, dan diuretik. Ekstrak metanol kulit batang menunjukkan aktivitas antioksidan (Kuddus *et al.*, 2011). Daun bintaro juga mempunyai potensi sebagai antikanker (Syarifah *et al.*, 2010).

## 2. Bakteri

### a. *Staphylococcus aureus*

#### 1) Klasifikasi bakteri

*Staphylococcus aureus* adalah bakteri Gram-positif, tidak bergerak ditemukan satu-satu, berpasangan, berantai pendek, tidak membentuk spora, tidak berkapsul, dan dinding selnya mengandung dua komponen utama yaitu asam teikhoat dan peptidoglikan. Sistematika klasifikasi *Staphylococcus aureus* sebagai berikut:

Domain	: <i>Bacteria</i>	
Kingdom	: <i>Eubacteria</i>	
Divisi	: <i>Firmicutes</i>	
Class	: <i>Bacilli</i>	
Order	: <i>Bacillales</i>	
Famili	: <i>Staphylococcaceae</i>	
Genus	: <i>Staphylococcus</i>	
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>	(Makgotiha, 2009)

#### 2) Morfologi dan Identifikasi bakteri

Metabolisme dapat dilakukan secara aerob dan anaerob. Infeksi yang terjadi disebabkan dari golongan bakteri ini biasanya menular atau menyebar.

*Staphylococcus aureus* ini memiliki sel yang berbentuk bola dengan garis tengah sekitar 1  $\mu\text{m}$  dan tersusun dalam kelompok tak beraturan. Biasanya bakteri ini ditemukan pada kulit dan hidung manusia (Radji, 2011). Bakteri Gram positif hampir seluruh dinding selnya terdiri dari lapisan peptidoglikan dengan polimer-polimer asam teikoat (Hart dan Shears *et al.*, 1997) yang bersifat permeabel, sehingga bakteri rentan terhadap agen antibakteri. Selain itu bakteri Gram positif tidak memiliki selaput luar berupa lipoprotein dan lipopolisakarida yang berfungsi sebagai penghalang masuknya antibakteri (Saravanan *et al.*, 2010), mencegah pecahnya protein periplasma, dan sebagai pelindung sel dari garam-garam empedu (Jawetz *et al.*, 2005).

#### b. *Salmonella typhi*

##### 1) Klasifikasi *Salmonella typhi*

*Salmonella sp.* adalah bakteri bentuk batang, pada pengecatan Gram berwarna merah muda (Gram-negatif). Sistematika klasifikasi *Salmonella typhi* sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Bacteria</i>	
Fillum	: <i>Proteobacteria</i>	
Class	: <i>Gamma Proteobacteria</i>	
Ordo	: <i>Enterobacteriales</i>	
Family	: <i>Enterobacteriaceae</i>	
Genus	: <i>Salmonella</i>	
Species	: <i>Salmonella typhimurium</i>	(Todar, 2005)

##### 2) Morfologi dan Identifikasi bakteri

Habitat *Salmonella sp.* di saluran pencernaan (usus halus) manusia dan hewan. Suhu optimum pertumbuhan *Salmonella sp.* adalah 37<sup>0</sup>C dan pada pH 6-8 (Julius *et al.*, 1990). *Salmonella sp.* bersifat aerob dan anaerob dan dapat menyebabkan demam tifoid. Bakteri *Salmonella typhi* merupakan bakteri batang Gram negatif dan tidak membentuk spora, serta memiliki kapsul. Bakteri ini bersifat fakultatif dan sering disebut sebagai *facultative intra-cellular parasites*. Dinding selnya terdiri atas murein, lipoprotein, fosfolipid, protein, dan

lipopolisakarida (LPS) dan tersusun sebagai lapisan-lapisan (Dzen, 2003). Ukuran panjangnya bervariasi, dan sebagian besar memiliki *peritrichous flagella* sehingga bersifat motil. *Salmonella typhi* membentuk asam dan gas dari glukosa dan *mannosa*. Bakteri ini tahan hidup dalam air yang membeku untuk waktu yang lama (Brooks *et al.*, 2005). Sel penyusun bakteri Gram negatif adalah lapisan peptidoglikan dan membran yang membungkus peptidoglikan pada dinding selnya. Komponen-komponen yang menyusun membran yaitu lipoprotein, fosfolipida, dan lipopolisakarida. Membran inilah yang berfungsi sebagai penghalang masuknya antibakteri ke dalam sel bakteri tersebut (Radji, 2010).

### 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.*, 2005).

Senyawa alami yang biasanya berpotensi sebagai antibakteri adalah steroid, tanin, dan flavonoid (Rahman *et al.*, 2011) saponin dan alkaloid (Ahmad *et al.*, 2008). Target dari antibakteri adalah sebagai berikut:

#### a. Dinding Sel

Bakteri memiliki lapisan luar yang kaku, disebut dinding sel yang dapat mempertahankan bentuk bakteri dan melindungi membran protoplasma di bawahnya (Jawetz *et al.*, 2001). Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya. Antibiotik yang bekerja pada daerah ini adalah golongan penisilin (Pelczar & Chan, 1988)

#### b. Perubahan Permeabilitas Sel

Membran sitoplasma mempertahankan bahan-bahan tertentu di dalam sel serta mengatur aliran keluar masuknya bahan-bahan lain. Membran memelihara integritas komponen-komponen seluler. Kerusakan pada membran ini akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel (Pelczar & Chan, 1988).

#### c. Molekul Protein dan Asam Nukleat

Hidup suatu sel bergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiahnya. Suatu antibakteri dapat mengubah keadaan ini dengan mendenaturasikan protein dan asam nukleat sehingga sel dapat diperbaiki lagi. Salah satu antimikroba kimiawi yang bekerja dengan cara mendenaturasi protein dan merusak membran sel adalah fenolat (Pelczar & Chan, 1988).

#### d. Enzim

Setiap enzim dari beratus-ratus enzim berbeda-beda yang ada di dalam sel merupakan sasaran potensial bagi bekerjanya suatu penghambat. Penghambatan ini banyak mengakibatkan terganggunya metabolisme. Sulfonamid merupakan zat kemoterapeutik sintesis yang bekerja dengan cara bersaing dengan PABA (asam *p*-aminobenzoat) di dalam reaksi, karena molekul PABA dan sulfonamid hampir sama, sehingga dapat menghalangi sintesis asam folat yang merupakan koenzim esensial yang berfungsi dalam sintesis purin dan pirimidin, dengan demikian karena tidak adanya koenzim, maka aktivitas seluler yang normal akan terganggu (Pelczar & Chan, 1988).

#### e. Asam Nukleat dan Protein

DNA, RNA dan protein memegang peranan penting dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel (Pelczar & Chan, 1988).

### 4. Uji Aktivitas Antibakteri

Tujuan utama dari aktivitas antibakteri yaitu untuk menentukan potensi suatu zat yang diduga memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap suatu bakteri tertentu (Jawetz *et al.*, 2005). Metode dilusi dilakukan dengan cara mengukur Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) (Pratiwi, 2008). Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode dilusi padat. Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri konsentrasi kemudian ditambahkan *suspending agent* lalu ditambahkan dengan media MH, setelah memadat ditambahkan suspensi bakteri dan diratakan dengan ose. Kadar terkecil



yang dapat menghambat bakteri disebut Kadar Hambat Minimum (KHM). Kemudian tabung yang tidak terdapat pertumbuhan bakteri dilakukan subkultur pada media padat. Media yang tidak terlihat adanya pertumbuhan disebut dengan Kadar Bunuh Minimal (KBM). Keuntungan dari metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba (Pratiwi, 2008).

## **5. Kromatografi Lapis Tipis**

Kromatografi merupakan suatu proses pemisahan antar zat-zat yang analit-analitnya terdapat dalam sampel yang terdistribusi antara 2 fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Peralatan yang digunakan juga lebih sederhana dibandingkan jenis kromatografi yang lain. Kromatografi lapis tipis adalah salah satu jenis dari bagian kromatografi (Rohman, 2009).

Optimasi fase gerak yang dilakukan Kuddus *et al.*, (2011) untuk memisahkan senyawa-senyawa yang berada di dalam bintango dengan menggunakan toluen:etilasetat (85:15) yang digunakan untuk memfraksi dan mengisolasi senyawa-senyawa aktif.

## **6. Bioautografi**

Bioautografi dibagi menjadi tiga metode, yaitu bioautografi langsung, bioautografi *overlay*, dan bioautografi kontak. Bioautografi yang digunakan adalah bioautografi kontak. Bioautografi kontak dilakukan dengan meletakkan lempeng kromatografi hasil elusi senyawa yang akan diuji diatas media padat yang sudah diinokulasi dengan mikroba uji. Adanya senyawa antimikroba ditandai dengan adanya daerah jernih yang tidak ditumbuhi mikroba (Kusumaningtyas *et al.*, 2008).

## **E. Keterangan Empiris**

Penelitian ini diharapkan dapat memperoleh data ilmiah tentang efek antibakteri ekstrak etanol daun bintango terhadap *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* dengan metode dilusi padat serta mengetahui senyawa-senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri beserta bioautografinya.