

## BAB 2

## TINJAUAN PUSTAKA

**2.1 *Staphylococcus aureus*****2.1.1 Klasifikasi**

Genus *Staphylococcus* terdiri dari sekurangnya 30 spesies. Tiga spesies utama yang penting secara medis klinik salah satunya adalah *Staphylococcus aureus* (Dzen, 2010).

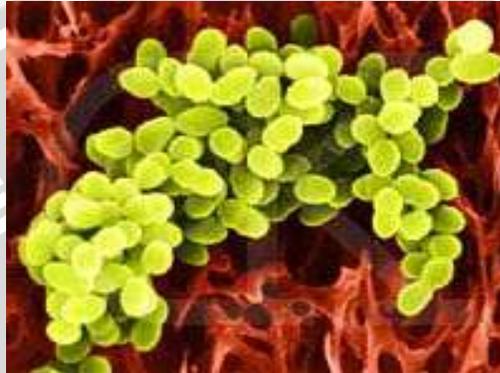
Taksonomi dari *S. aureus* adalah sebagai berikut.

Domain	: <i>Bacteria</i>
Phylum	: <i>Firmicutes</i>
Kelas	: <i>Bacilli</i>
Ordo	: <i>Bacillales</i>
Family	: <i>Staphylococcaceae</i>
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Domrachev et al., 2008)

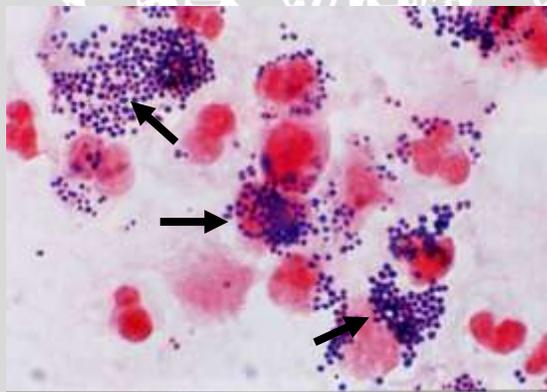
**2.1.2 Karakteristik Kuman****2.1.2.1 Ciri-Ciri Organisme**

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2  $\mu\text{m}$ , tersusun dalam yang tidak teratur seperti buah anggur (Gambar 2.1 dan gambar 2.2), bersifat fakultatif aerob atau anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. Koloni pada perbenihan padat

berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, dan berkilat. Sekitar 90% isolat klinik menghasilkan *S. aureus* yang mempunyai kapsul polisakarida yang berperan penting dalam virulensi bakteri (Jawetz *et al.*, 2004).



**Gambar 2.1. Gambaran Mikrografi Elektron *Staphylococcus aureus* (gambar diproduksi oleh Warwick University USA)**



**Gambar 2.2. Pewarnaan Gram *Staphylococcus aureus* (Todar, 2008)**

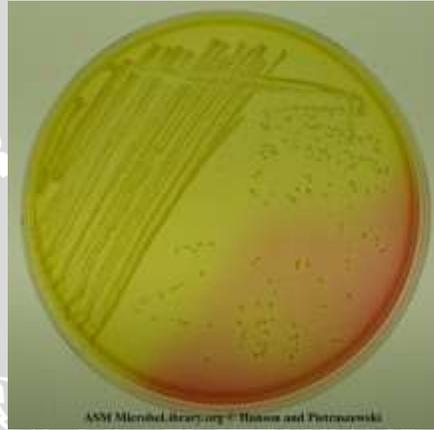
Keterangan:

Hasil pewarnaan ditunjukkan dengan tanda panah, dimana bakteri berwarna ungu berbentuk kokus tersusun tidak teratur seperti buah anggur.

### 2.1.2.2 Biakan

Untuk membiakkan stafilokokus diperlukan suhu optimal antara 28-38°C, atau sekitar 35 °C. Apabila bakteri tersebut diisolasi dari seorang penderita, suhu

optimal yang diperlukan adalah 37 °C. pH optimal untuk pertumbuhan *S.aureus* adalah 7,4 serta tidak mampu bertahan dalam suplementasi 3% hydrogen peroksida (Dzen dkk., 2010).



**Gambar 2.3 Koloni *Staphylococcus aureus* dalam Mannitol salt agar (sumber: Hanson and Pietraszewski, University of Maine, 2006)**

Keterangan:

*Mannitol salt agar* yang diinokulasi dengan *Staphylococcus aureus* menunjukkan fermentasi mannitol (*yellow medium*)

*Nutrient agar plate* (NAP) penting untuk mengetahui adanya pembentukan pigmen dan *S. aureus* akan membentuk pigmen berwarna kuning emas. Koloni yang tumbuh berbentuk bulat, berdiameter 1-2 mm, konveks dengan tepi rata, permukaan mengkilat dan konsistensinya lunak (Dzen dkk., 2010).

*S. aureus* dapat dibiakkan pada *blood agar*, pada strain *S. aureus* yang ganas dapat terlihat zona hemolisis yang jernih di sekitar koloni. Bakteri ini dapat memfermentasikan mannitol (gambar 2.3), dan juga toleran terhadap media dengan 7,5% NaCl. *Mannitol salt agar* digunakan untuk mendeteksi *S. aureus* yang berasal dari feces, makanan, debu, dan pakaian (Brooks *et al.*, 2007). Pada umumnya,

untuk membiakkan *S. aureus*, perlu medium yang mengandung asam amino dan vitamin-vitamin, misalnya threonin, asam nikotinat, dan biotin (Dzen *dkk.*, 2010).

### 2.1.2.3 Sifat-sifat Pertumbuhan

Ciri yang membedakan *Staphylococcus* dengan streptococcus adalah produksi katalase. *Staphylococcus* memfermentasikan karbohidrat secara lambat, menghasilkan asam laktat namun tidak menghasilkan gas. *Staphylococcus* relatif resisten terhadap pengeringan, panas (tahan pada suhu 50°C selama 30 menit) serta terhadap natrium klorida 9%, tetapi mudah dihambat oleh bahan kimia tertentu, seperti heksaklorofen 3% (Brooks *et al.*, 2007).

### 2.1.3 Struktur Antigen

*S. aureus* mengandung Ag-karbohidrat (Ag-KH) dan Ag-protein. Pada strain yang patogen ditemukan Ag-KH tipe A. Apabila Ag-KH tipe A disuntikkan secara intradermal pada penderita yang terinfeksi stafilokokus akan memberikan reaksi hipersensitif tipe cepat (*immediate type*) dalam 20-30 menit berupa *wheal* dan eritema (Dzen *dkk.*, 2010).

Sebagian besar bakteri *S. aureus* pada dinding selnya mengandung suatu komponen yang disebut protein A. Protein A ini mempunyai berat molekul sekitar 13.000 Da dan berikatan dengan peptidoglikan secara kovalen. Protein A dapat dikeluarkan ke dalam medium dan juga dapat berikatan dengan fragmen Fc dari imunoglobulin. Berdasarkan sifat ini, *S. aureus* dapat dipakai untuk membantu identifikasi; karena fragmen Fab yang bebas dapat berikatan dengan antigen yang spesifik (Dzen *dkk.*, 2010).

#### 2.1.4 Metabolit dan Faktor Virulensi *S. aureus*

*S. aureus* dapat menimbulkan penyakit melalui kemampuannya menyebar luas dalam jaringan dan melalui pembentukan berbagai zat ekstraseluler. Berbagai zat yang berperan sebagai faktor virulensi dapat berupa protein, termasuk enzim dan toksin. *S. aureus* memproduksi bahan metabolit yang dapat diklasifikasikan dalam tiga bentuk, yaitu metabolit non-toksin, eksotoksin, dan enterotoksin (Dzen, 2010).

##### 2.1.4.1 Metabolit non-toksin

a. Antigen permukaan (materi kapsul)

Berfungsi untuk mencegah proses fagositosis, mencegah reaksi koagulasi, dan mencegah melekatnya bakteriofaga.

b. Koagulasi

Koagulasi adalah suatu protein mirip enzim yang dapat menggumpalkan plasma yang mengandung oksalat atau sitrat. Koagulasi berikatan dengan protrombin dan keduanya menjadi aktif secara enzimatik dan menginisiasi polimerisasi fibrin. Koagulasi dapat menyimpan fibrin pada permukaan *staphylococcus*, sel fagositik atau destruksi *staphylococcus* dalam sel-sel tersebut (Brooks *et al*, 2007).

c. Hialuronidase

Dihasilkan oleh 93,6% galur dengan koagulasi yang positif, tapi tidak dibentuk oleh galur dengan koagulasi negatif. Secara *in vitro*, dapat dihasilkan bila medium diperkaya dengan tirosin dan triptofan. Dengan menghasilkan hialuronidase maka bakteri bersifat invasif, tapi sifat ini

terjadi pada fase awal dari infeksi dan cepat dinetralkan pada reaksi peradangan (Dzen *dkk.*, 2010).

d. Stafilokinase (fibrinolisin)

Enzim ini bekerja sebagai aktivator enzim protease dalam plasma untuk menghasilkan *lytic agent*. Enzim ini bersifat antigenik dan tidak tahan panas (Dzen *dkk.*, 2010).

e. Protease

Enzim ini bersifat proteolitik dan dapat menyebabkan nekrosis pada jaringan yang diinvasi, termasuk jaringan tulang (Dzen *dkk.*, 2010).

f. Lipase

Enzim ini bersifat antigenik. Pada inokulasi *staphylococcus* koagulase positif galur tertentu pada BAP darah manusia, terlihat pada permukaan koloni terdapat bercak-bercak lemak yang tersusun dari asam oktadekanoat. Ini terjadi karena lipase memutuskan ikatan asam ini dengan lipid (Dzen *dkk.*, 2010).

g. Fosfatase

Fosfatase erat hubungannya dengan patogenitas dan galur koagulase positif biasanya mengandung lebih banyak fosfatase daripada galur negatif, namun hal ini dapat berlaku juga sebaliknya. (Dzen *dkk.*, 2010).

h. DNase

DNA ase memecah DNA menjadi fosfomononukleotida dan merupakan suatu protein kompak yang terdiri dari rantai polipeptida tunggal dan terdapat pada permukaan sel (Dzen *dkk.*, 2010).

#### 2.1.4.2 Eksotoksin

Eksotoksin yaitu toksin yang disintesis di dalam sel mikroba, kemudian dikeluarkan ke substrat di sekelilingnya. Eksotoksin yang dihasilkan oleh bakteri biasanya bekerja secara spesifik terhadap sel-sel tertentu. Misalnya sel-sel saraf, otot, sel-sel pada saluran pencernaan, dan sebagainya. Eksotoksin stafilokokus bersifat mematikan, tidak tahan panas, dan dapat menyebabkan nekrosis lapisan dermis (Dzen *dkk.*, 2010). *Alpha toxin* (hemolisin) adalah protein heterogen yang dapat melisis eritrosit, merusak trombosit, pembuluh darah, dan mungkin identik dengan faktor letal dan faktor dermonekrotik eksotoksin. *Beta toxin* merusak spingomyelin dan bersifat racun untuk berbagai jenis sel, termasuk sel darah merah manusia. *Delta toxin* dapat merusak eritrosit manusia dan kuda (Brooks *et al.*, 2007). *Panton-Valentin (PV)* atau Leukosidin adalah toksin yang dapat mematikan sel darah putih pada host. Bersifat tahan terhadap panas, non hemolitik dan dinetralkan oleh kolesterol (Dzen *dkk.*, 2010).

#### 2.1.4.3 Enterotoksin

Enterotoksin adalah bahan atau zat racun yang dihasilkan oleh jasad renik (basil atau bakteri) yang menimbulkan gangguan pada usus. Enterotoksin dihasilkan ketika *S.aureus* tumbuh pada makanan yang mengandung karbohidrat dan protein. Manusia dan kera yang memakan 25 µg enterotoksin akan mengalami muntah dan diare. Efek muntah ini mungkin akibat perangsangan sistem saraf pusat setelah toksin bekerja pada reseptor-reseptor dalam usus (Brooks *et al.*, 2007).

#### 2.1.4.4 Toksin Epidermolitik

Toksin ini menyebabkan terjadinya *scalded skin syndrome*. Sindroma ini berupa pengelupasan epidermis kulit sebagai akibat lisisnya perlekatan antar sel pada *stratum germinativum*, tanpa disertai peradangan dan kematian sel.

#### 2.1.4.5 Toxic shock syndrome toxin

Toksin ini menyebabkan terjadinya sindrom klinik berupa panas (febris), ruam kulit, hipotensi bahkan sampai syok. Diperkirakan toksin ini merangsang sel-sel imunokompeten dalam jumlah yang cukup banyak, sehingga digolongkan sebagai super antigen (Dzen dkk., 2010).

#### 2.1.5 Patogenesis dan Patologi

Sebagian bakteri stafilokokus merupakan flora normal pada kulit, saluran pernafasan, dan saluran pencernaan makanan pada manusia. Bakteri ini juga ditemukan di udara dan lingkungan sekitar. Namun *S. aureus* yang patogen bersifat invasif, menyebabkan hemolisis, membentuk koagulase, dan mampu meragikan manitol (Warsa, 1994).

Bakteri *S. aureus* dapat menyerang seluruh tubuh. Manifestasi klinisnya tergantung dari bagian tubuh yang terkena infeksi seperti pada kulit dapat terjadi furunkel sampai *scalded skin syndrome*, infeksi di kuku yaitu paronikhia, osteomielitis pada infeksi tulang, tonsilitis, bronkhitis dan pneumonitis pada infeksi saluran pernapasan. Dari bentuk-bentuk klinis di atas yang sering menimbulkan kematian adalah septisemia, endokarditis, ensefalitis, dan *toxic shock syndrome* atau sindroma syok toksik (SST) (Dzen dkk., 2010).

Kontaminasi langsung *S. aureus* pada luka terbuka (seperti luka pasca bedah) atau infeksi setelah trauma (seperti osteomyelitis kronis setelah fraktur terbuka) dan meningitis setelah fraktur tengkorak, merupakan penyebab infeksi nosokomial (Jawetz *et al.*, 2004). Keracunan makanan dapat disebabkan kontaminasi enterotoksin dari *S. aureus*. Waktu onset dari gejala keracunan biasanya cepat dan akut, tergantung pada daya tahan tubuh dan banyaknya toksin yang termakan. Gejala keracunan ditandai oleh rasa mual, muntah-muntah, dan diare yang hebat tanpa disertai demam (Jawetz *et al.*, 2004).

Sindroma syok toksik (SST) pada infeksi *S. aureus* timbul secara tiba-tiba dengan gejala demam tinggi, muntah, diare, mialgia, ruam, dan hipotensi, dengan gagal jantung dan ginjal pada kasus yang berat. SST sering terjadi dalam lima hari permulaan haid pada wanita muda yang menggunakan tampon, atau pada anak-anak dan pria dengan luka yang terinfeksi stafilokokus. *S. aureus* dapat diisolasi dari vagina, tampon, luka atau infeksi lokal lainnya, tetapi praktis tidak ditemukan dalam aliran darah (Jawetz *et al.*, 2004).

### 2.1.6 Epidemiologi

Manusia merupakan tempat koloni alamiah dari *S. aureus*. Tiga puluh sampai dengan lima puluh persen manusia dewasa sehat terkolonisasi bakteri ini, dengan 10–30% terkolonisasi secara persisten. Seseorang yang terkolonisasi oleh *S. aureus* akan terjadi peningkatan resiko untuk mendapat infeksi tumpangan lainnya. Rata-rata kolonisasi *staphylococcus* tinggi pada pasien-pasien dengan diabetes mellitus (DM) tipe 1, pengguna obat-obat intravena, menjalani hemodialisis rutin, menjalani pembedahan, *acquired immunodeficiency syndrome* (AIDS), sirosis hati, dan defek

pada kualitas atau kuantitas leukositnya (Samathkumar, 2007). Usia, jenis kelamin, dan tempat tinggal tidak memiliki pengaruh yang bermakna terhadap kejadian infeksi *S. aureus* pada pasien RSUP Dr. Kariadi Semarang periode 2008-2009 (Anna, 2010).

Angka kejadian infeksi bakteri *S. aureus* saat ini telah meningkat dengan pesat dan menjadi masalah kesehatan yang serius karena *S. aureus* juga merupakan penyebab utama pada infeksi nosokomial di rumah sakit pada luka operasi dan infeksi yang terkait dengan *indwelling medical devices* (Todar, 2008).

## 2.2 Biofilm

Biofilm dapat dibentuk oleh satu jenis spesies mikroba, dapat juga terbentuk oleh lebih dari satu jenis mikroba. Selama dalam biofilm, populasi menjalani kehidupan yang kompleks termasuk melakukan berbagai reaksi biokimia dan menghasilkan substrat yang spesifik. Dari segi fisiologi, pada jenis mikroba yang sama, cluster sel yang tumbuh membentuk biofilm berbeda dengan sel planktonik/ sel tunggal. Sel tunggal bersifat *floating* dan berenang pada medium cair, sedangkan sel dalam biofilm harus dapat merespon berbagai faktor termasuk mengenal sisi perlekatan spesifik atau non spesifik yang ada pada substrat (Hoffman *et al*, 2005; Karatan and Watnick, 2009).

### 2.2.1 Definisi Biofilm

Biofilm merupakan suatu agregat mikroba sejenis maupun berbeda jenis yang melekat pada permukaan substrat biologis seperti sel, jaringan dan matrik polimer maupun non biologis termasuk substrat sintetik, dimana satu sel dengan sel

yang lainnya saling terikat dan melekat pada substrat dengan perantaraan suatu matrik *extracellular polymeric substance* (EPS) atau disebut juga *exopolysaccharide*. Kemampuan bakteri membentuk biofilm berkorelasi positif dengan tingkat virulensi (kemampuan bakteri untuk menyebabkan penyakit) (Hall-Stoodley, 2004; Nuryastuti, 2010).

Biofilm terdiri dari sel-sel mikroorganisme yang melekat erat ke suatu permukaan sehingga berada dalam keadaan diam (*sesil*), tidak mudah lepas atau berpindah tempat (*irreversible*). Pelekatan ini seperti pada mikroba disertai oleh penumpukan bahan-bahan organik yang diselubungi oleh matrik polimer ekstraseluler yang dihasilkan oleh mikroba tersebut. Matrik ini berupa struktur benang-benang bersilang satu sama lain yang dapat berupa perekat bagi biofilm. Biofilm terbentuk khususnya secara cepat dalam sistem yang mengalir dimana suplai nutrisi tersedia secara teratur bagi mikroba. Pertumbuhan mikroba secara ekstensif disertai oleh sejumlah besar polimer ekstraseluler, menyebabkan pembentukan lapisan biofilm (Jamilah, 2003).

Penelitian tentang biofilm bermula pada tahun 1650, saat Anthony Von Leeuwenhoek pertama kali menyebutkan biofilm pada tulisannya. Lalu pada tahun 1942, Zobell mendefinisikan biofilm sebagai komunitas prokariotik multiseluler yang berasal dari lingkungan. Namun demikian, biofilm baru disadari keberadaannya oleh peneliti pada tahun 1970. Ketika itu, Costerton menunjukkan peran signifikan biofilm pada penyakit infeksi. Selanjutnya pada awal 90-an, terbukti bahwa biofilm berperan penting dalam kejadian infeksi alat-alat medis. Biofilm dikaitkan dengan kejadian resistensi terhadap antibiotika dan ketahanan terhadap sistem imunitas seluler dan

humoral *host*. Untuk mengendalikan biofilm, perlu adanya pengetahuan mengenai struktur biofilm, proses pembentukan biofilm, dan proses regulasi di tingkat molekuler (Pace *et al.*, 2006).

### 2.2.2 Struktur Biofilm

Struktur biofilm secara umum dapat diidentifikasi meliputi: substrat dimana bakteri menempel, film yang terkondisi di atas substrat, matriks biofilm, cairan dan udara. Lapisan film terbentuk dari glikoprotein dan lipid, contohnya protein dari urin pada kateter atau sisa makanan pada gigi. Matriks biofilm merupakan bagian terpenting biofilm, terdiri dari sel bakteri, eksopolisakarida (EPS), dan air. Komponen utama matriks biofilm adalah air (95-99%), sel bakteri hanya sekitar 2-5%, sedangkan EPS sebanyak 2% dari total matriks. Substansi lainnya yang terkandung dalam matriks meliputi DNA, RNA, protein dan enzim yang total berjumlah 2%. EPS merupakan struktur yang sangat terhidrasi, biopolimer berbentuk gel yang melingkupi bakteri menjadi struktur tiga dimensi yang menjadi karakteristik biofilm dan agregat bakteri. Komposisi EPS tidak hanya penting untuk perlekatan dan stabilisasi matriks, tetapi juga untuk membentuk heterogenitas dan meningkatkan ketersediaan nutrisi dalam biofilm (Jass *et al.*, 2003).

### 2.2.3 Pembentukan Biofilm

Pada prinsipnya dalam pembentukan biofilm dibutuhkan 3 hal, yaitu bakteri, glikokalik, dan permukaan luar sel bakteri. Apabila salah satu dari ketiganya tidak ada, maka biofilm tidak akan terbentuk. Biofilm dapat menjadi sangat sulit untuk dimatikan karena adanya material glikokalik. Banyak infeksi persisten yang terjadi di

dalam tubuh disebabkan oleh biofilm bakteri (Narins, 2003). Proses pembentukan biofilm dapat berlangsung hanya dalam beberapa jam (Yusuf, 2010).

Mikroba mengembangkan berbagai mekanisme untuk melekat pada substrat. Menurut Aparna dan Yadav (2008), perlekatan mikroba pada substrat tampaknya diinduksi oleh sinyal lingkungan seperti perubahan nutrisi, konsentrasi nutrisi, pH, temperatur, konsentrasi oksigen, osmolaritas, dan besi. Namun jenis sinyal yang dibutuhkan berbeda pada setiap jenis mikroba. Menurut Jamilah (2003), biofilm juga terbentuk karena adanya pembentukan matriks ekstraselular (eksopolimer) yang terdiri dari polisakarida berupa kitin,  $\beta$ -glukan dan mannoprotein.

Biofilm banyak terbentuk pada permukaan dinding berongga, seperti pada pipa. Belum ditemukan mikroba yang tidak mampu membentuk biofilm pada material pipa apapun jenisnya. Mikroba mempunyai kemampuan adhesi yang sama pada semua jenis substrat, seperti *stainless steel* dan *teflon (Kynar)*. Oleh sebab itu, kemampuan bakteri dalam menghasilkan berbagai jenis enzim, dalam hal ini ektoenzim dan eksternal enzim, merupakan faktor utama yang sangat penting dalam menginisiasi terbentuknya interaksi antara sel dan substrat (Beech *et al*, 2005).

Banyak jenis bakteri mempunyai adhesin yang berfungsi untuk mengikatkan diri pada reseptor permukaan. Pili adalah salah satunya. Hidrofobisitas dinding sel juga penting dalam meningkatkan afinitas sel terhadap permukaan substrat. Dengan mengubah komposisi lipid dan protein pada outer membran, maka akan terjadi perubahan muatan dan hidrofobisitas sehingga dinding sel menjadi lebih hidrofobik. Namun, selain pili dan hidrofobisitas dinding sel, adhesi bakteri pada

permukaan dimediasi oleh struktur lain berupa matriks *extracellular polymeric substances* (EPS) (Wingender *et al*, 1999).

EPS dapat berupa kapsul sebagai bagian integral dari matriks biofilm, yang kemudian dapat dilepaskan ke lingkungan (media cair) sebagai suatu planktonik atau free EPS. Pada umumnya, EPS yang dihasilkan oleh mikroba merupakan campuran makromolekul kompleks seperti protein, polisakarida, lipid, dan asam nukleat, dimana komposisinya berbeda pada masing-masing jenis mikroba, status fisiologi sel, dan berbagai faktor lingkungan lain (Wingender *et al*, 1999).

Terdapat lima tahap pembentukan biofilm pada substrat sebagai berikut:

*Tahap pertama.* Terbentuknya biofilm dimulai dengan perlekatan sel mikroba planktonik pada permukaan substrat. Meskipun mikroba mempunyai kemampuan adhesi yang sama pada semua jenis substrat, namun sifat permukaan yang kasar lebih disenangi, dan lebih cepat terbentuk pada material hidrofobik seperti teflon dan plastik dibandingkan pada gelas dan logam. Sel-sel pada tahap perlekatan awal tidak melekat dengan kuat karena hanya mengandalkan kekuatan ikatan *van der Waals*. Setelah itu, koloni akan mengikatkan diri lebih kuat pada permukaan dengan menggunakan pili. Selama tahap ini, sel bakteri mengalami pertumbuhan logaritmik (Aparna and Yadav, 2008).

Koloni awal berperan sebagai fasilitator bagi sel lainnya untuk mencari sisi perlekatan selanjutnya sebagai tempat pembuatan matriks biofilm. Bagi sel-sel yang tidak mampu melekat pada permukaan, melalui suatu *quorum sensing* (QS), sel tersebut berperan memacu sel-sel dalam koloni untuk pembentuk matriks (Aparna and Yadav, 2008).

Perlu diketahui bahwa perkembangan dan integritas struktur biofilm sangat tergantung pada QS yaitu molekul ekstraseluler, *pheromon*, yang dapat meningkatkan komunikasi diantara bakteri. Viabilitas atau kelangsungan hidup komunitas biofilm tergantung pada respon gen terhadap stres dan penghantaran sinyal yang diterima melalui QS yang didifusikan (Aparna and Yadav, 2008).

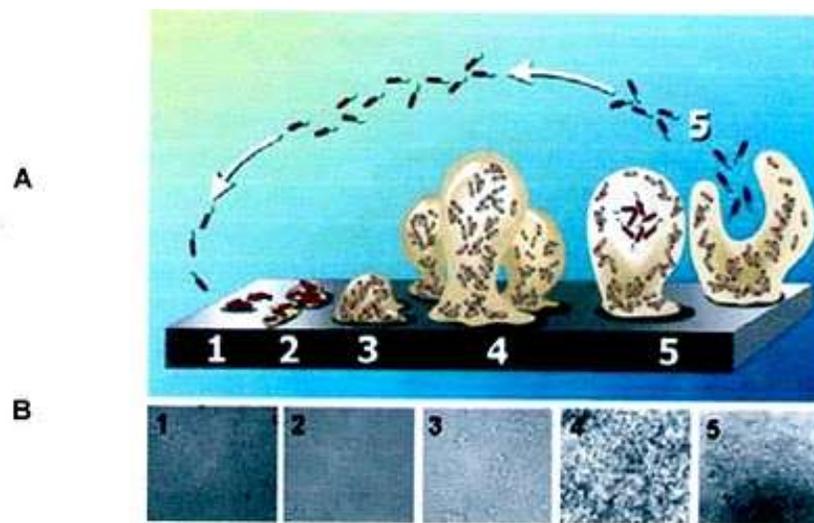
*Tahap kedua*, bakteri mengalami multifikasi sambil mengeluarkan sinyal kimia untuk berkomunikasi secara internal. Substansi EPS mulai dihasilkan berdasarkan mekanisme genetik. EPS kemudian akan menarik nutrisi dan bakteri planktonik. Agregat sel terbentuk sementara motilitas sel menjadi semakin menurun sejalan dengan semakin progresifnya lapisan agregat (Aparna and Yadav, 2008).

*Tahap ketiga*. Selama tahap maturasi, biofilm terus tumbuh sejalan dengan pertumbuhan koloni. Semakin lama biofilm semakin berkembang dengan penambahan ukuran dan perubahan bentuk (Gambar 2.4). Pada tahap ini, ketebalan biofilm lebih dari 10  $\mu\text{m}$  (Aparna and Yadav, 2008). Perlekatan bakteri akan menjadi ireversibel, dikarenakan oleh interaksi antara protein dan produksi dari EPS.

*Tahap keempat*. Ketebalan lapisan biofilm pada tahap ini mencapai lebih dari 100mm dan dapat mencapai 300-400 mm (Aparna and Yadav, 2008)

*Tahap kelima*. Biofilm akan memasuki tahap kelima beberapa hari setelah tahap keempat. Pada tahap ini terjadi *disperse* sel sehingga memungkinkan beberapa bakteri meninggalkan biofilm untuk berkembang kembali menjadi sel planktonik. Pada tahap dispersi, sel-sel dalam koloni akan terlepas sendiri atau bersama sebagian komponen matriks dimana biofilm akan didegradasi

oleh enzim *dispersi B* dan *deoxyribonuclease* (Kaplan *et al*, 2003; Izano *et al*, 2008), sekaligus enzim tersebut berperan sebagai agen anti-biofilm (Kaplan *et al*, 2004; Xavier *et al*, 2005). Pada *Pseudomonas aeruginosa* dan *Candida albicans*, asam lemak *cis-2-decenoic acid* diketahui mampu menginduksi dispersi dan menghambat pertumbuhan koloni biofilm (Davies *et al*, 2009).



**Gambar 2.4 Pembentukan Biofilm (Davies, D., 2003)**

Keterangan:

A) Perkembangan biofilm pada substrat. B) Photomicrograph perkembangan biofilm. Terdapat 5 tahap pembentukan biofilm yaitu 1) perlekatan awal pada substrat, 2) perlekatan irreversibel, 3) maturasi I, 4) maturasi II, dan 5) dispersi. Matrik biofilm tersusun dari EPS, protein, dan DNA, dimana EPS tersusun dari 50-90% karbon organik. Pada masing-masing tahap diperlukan komponen dan molekul yang berbeda dalam peranannya membentuk biofilm, misalnya flagellae, pili type IV, DNA, dan eksopolisakarida. (gambar: <http://xnet.rrc.mb.ca/davidb/biofilms.htm>)

#### 2.2.4 Faktor Lingkungan yang Mempengaruhi Pembentukan Biofilm

Biofilm akan terbentuk pada permukaan yang lembab, hal ini disebabkan mikroba dapat bertahan hidup jika ia mendapatkan kelembaban yang cukup. Pada prosesnya biofilm memproduksi suatu bahan yang licin (berlendir) pada sebuah permukaan, kemudian akan menempel dengan baik di permukaan tersebut jika

keadaan minimum bakteri tersebut terpenuhi. Beberapa lokasi yang dapat dijadikan tempat hidup biofilm meliputi material alami di atas dan di bawah tanah, besi, plastik dan jaringan sel. Selama kita dapat menemukan kombinasi nutrisi, air dan sebuah permukaan yang tidak mengandung senyawa beracun, disana sangat mungkin kita temukan biofilm (Lappin-Scott, 2003).

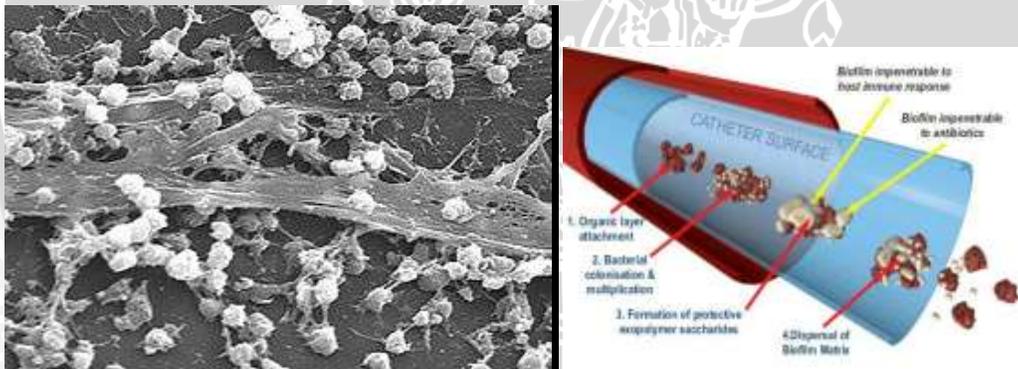
Pembentukan biofilm juga dipengaruhi oleh beberapa faktor dari lingkungan yang bisa berpotensi menjadi toksik untuk sel bakteri. Bakteri yang terpapar osmolaritas yang tinggi, suhu yang tinggi, detergen, urea, dan adanya *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC) konsentrasi dari antibiotik tertentu, glukosa dan *oxidative stress*, menunjukkan peningkatan ekspresi dari *ica* dan pembentukan biofilm (Nuryastuti, 2010).

### 2.2.5 Pembentukan Biofilm pada Alat Medis

Di bidang kesehatan biofilm dikenal sangat berbahaya karena menjadi penyebab dari 80% penyakit. Biofilm di kateter dan peralatan kesehatan lainnya bisa menyebabkan infeksi dan bahkan juga penolakan implant. Beberapa penyakit yang disebabkan biofilm adalah dental karies, periodontitis, endokarditis, infeksi paru, infeksi kandung kemih, infeksi yang terkait dengan peralatan artifisial (implant). Di lain pihak di dalam sistem pencernaan, terutama di usus besar keberadaan biofilm sangat bermanfaat bagi kesehatan (PERMI, 2010). Masalah yang ditimbulkan biofilm pada alat medis dapat menyebabkan kerusakan alat, terjadinya infeksi berulang, dan resistensi antibiotik.

Sekitar 80% dari semua penyakit infeksi mikrobial pada manusia diketahui berhubungan dengan biofilm. Misalnya, infeksi saluran urin, infeksi kateter (Gambar

2.5), infeksi telinga tengah, pembentukan *dental plaque* dan gingivitis (Karatan and Watnick, 2009), terbentuknya lapisan pada lensa kontak (Imamura *et al*, 2008), endocarditis, infeksi kistik fibrosis, dan infeksi permanen pada sambungan *prosthetic heart valves* (Lewis, 2001; Parsek and Singh, 2003). Pada hampir 80% dari seluruh pasien pengidap sinusitis kronis, ditemukan biofilm pada jaringan sampel operasinya yang ditandai dengan silia dan sel goblet yang tidak normal (cenderung seperti hilang/lebih pendek) (Sanclement *et al*, 2005). Contoh lainnya mengenai hubungan biofilm dengan penyakit gigi adalah dental caries. Polimer air ludah dan produk ekstraseluler bakteri biofilm akan membentuk *dental plaque* pada gigi semua jenis hewan. (Apicella *et al*, 2010).



**Gambar 2.5 Biofilm *Staphylococcus aureus* di dalam selang kateter**  
(sumber: Bosma, *et al.*, 2009 dan Wikipedia, 2011)

### 2.2.6 Resistensi terhadap Antimikroba

Biofilm juga merupakan suatu jenis pertahanan sel. Berdasarkan studi *in vitro*, mikroorganisme dalam bentuk biofilm dapat menghindari sistem pertahanan inang dan lebih resisten terhadap serangan zat antimikroba 10–1.000 kali dibandingkan dalam keadaan sel planktonik (Monroe, 2007).

Bakteri membentuk biofilm untuk mendongkrak daya hidup (*survival*) dan pertumbuhannya. Biofilm juga berfungsi sebagai mekanisme pertahanan fisik bagi bakteri karena bersifat licin, sehingga ia terhindar dari gerusan yang seharusnya dapat menyapu bersih sel-sel yang tidak menempel. Secara kimiawi, biofilm mampu membentengi bakteri dari penetrasi senyawa yang beracun bagi dirinya, seperti antibiotik dan beberapa jenis desinfektan (Aryani, 2012).

Biofilm menjaga kesatuan formasinya dengan saling berikatan satu sama lain pada untai molekul gula. Hal tersebut yang kemudian disebut sebagai EPS atau *extracellular polymeric substance*, yaitu terbentuknya polimer antar biofilm, sehingga kemungkinan untuk melepas menjadi sulit. Karena dengan mengekskresikan EPS ini, masing-masing biofilm sangat mungkin saling mendukung untuk berkembang dalam dimensi yang kompleks dan sangat erat (utuh). Matriks yang terbentuk dengan EPS ini akan melindungi sel dan memudahkan komunikasi antar sel melalui isyarat biokimia. Beberapa biofilm berada dalam fasa cair, dimana keadaan tersebut membantu sel dalam mendistribusikan zat yang dibutuhkan dan memberi sinyal molekul pada sel. Matriks ini cukup kuat, oleh sebab itu pada kondisi-kondisi tertentu, biofilm dapat berwujud padat. Masing-masing layer dalam biofilm akan mempunyai ketebalan yang berbeda, hal ini sangat dipengaruhi oleh keadaan lingkungan tumbuhnya (Lappin-Scott, 2003).

Resistensi antibiotik terhadap biofilm *S.aureus* dapat dijelaskan dengan 2 hal, yakni 1) antibiotik tidak mencapai bakteri yang ada di lapisan yang lebih dalam pada biofilm karena kesulitan migrasi melintasi *exopolysaccharide gel* (EPS), dan 2)

bakteri di lapisan dalam biofilm mungkin berada pada keadaan metabolik yang membuatnya tidak mempan dengan antibiotik (Lappin-Scott, 2003).

Tingginya persentase keterlibatan biofilm dalam berbagai penyakit infeksi disebabkan karena adanya berbagai mekanisme patogenik yang dikembangkan oleh biofilm, antara lain: 1) melekat pada permukaan substrat, 2) membelah dengan intensitas tinggi untuk meningkatkan efisiensi metabolik komunitasnya, 3) menghindari dari mekanisme fagositosis inang, 4) meningkatkan jumlah sel, 5) mengubah gennya sehingga menjadi gen yang virulen, 6) memproduksi toksin dalam jumlah banyak, 7) memproteksi diri dari agen antimikroba, dan 8) menyebarkan dan mentransmisi agregat ke tempat yang baru (Aparna and Yadav, 2008).

Klorinasi terhadap biofilm seringkali gagal karena hanya dapat membunuh bakteri pada lapisan bagian luar biofilm. Resikonya bila agen antibakteri diaplikasikan berulang-ulang dapat meningkatkan resistensi biofilm (Hidayati, 2011).

### 2.2.7 Epidemiologi

Biofilm *S. aureus* sering menyebabkan infeksi kronis pada pasien dengan *implanted medical devices*, beberapa diantaranya adalah *Central Venous Catheter* (CVC) dan kateter urin. Pasien dengan pemakaian kateter urin jangka waktu pendek (sampai 7 hari) sekitar 10-50% mengalami infeksi. Sedangkan pasien dengan pemakaian kateter urin jangka waktu panjang (lebih dari 28 hari) hampir semuanya mengalami infeksi (Donlan and Consterton., 2002). Setelah diteliti, dari sampel urin pasien dengan infeksi akibat kateter urin, 83,3% merupakan *strain S.aureus*

penghasil biofilm (Gad *et al.*, 2009). Sedangkan pada pemasangan CVC yang mempunyai tingkat infeksi mencapai 3-5% (Donlan *and* Consterton *et al.*, 2002), 56,2% merupakan *S. aureus* penghasil biofilm.

## 2.2.8 Tes Pembentukan Biofilm

### 2.2.8.1 Metode Tabung

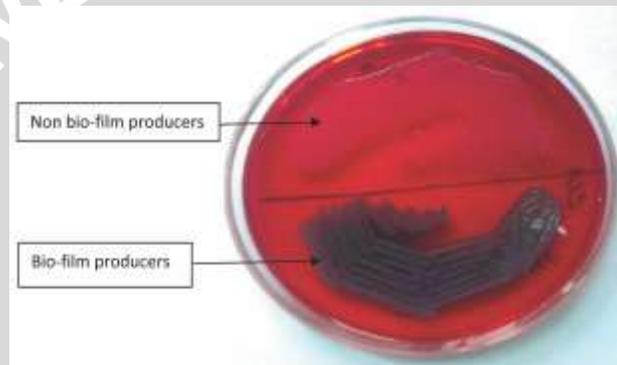
*S. aureus* yang sudah teridentifikasi ditanam dalam *Nutrient Broth* dan diinkubasi pada suhu 37°C semalam. Bakteri yang sudah tumbuh pada *Nutrient Broth* ditanam kembali pada NAP kemudian diinkubasi pada suhu 37°C semalam. Mikroba kultur semalam dimasukkan ke tabung TSBglu (10mL) dan diinkubasikan 37°C selama 24 jam. Lalu tabung dicuci dengan PBS (pH 7,3) dan dikeringkan airnya. Tabung yang sudah dikeringkan diberi kristal violet (0,1%) dan kelebihan warna dibuang dan tabung dicuci dengan *deionized water*. Tabung dikeringkan dan dilihat warna sebagai pertanda pembentukan biofilm (Christensen *et al.*, 2000).



Gambar 2.6 Tes Pembentukan Biofilm dengan Metode Tabung (Ira, 2013)

### 2.2.8.2 Metode Congo Red Agar (CRA)

Metode ini digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri memproduksi biofilm. *Agar plate* diberi 5% sukrosa dan *stain Congo Red* (0,8 g/L). Setiap *plate* diinkubasi selama 24 sampai 72 jam dalam suhu 37°C. Hasil yang positif akan ditunjukkan dengan adanya koloni berwarna hitam dengan konsistensi *dry crystalline* (Moore, 2009).

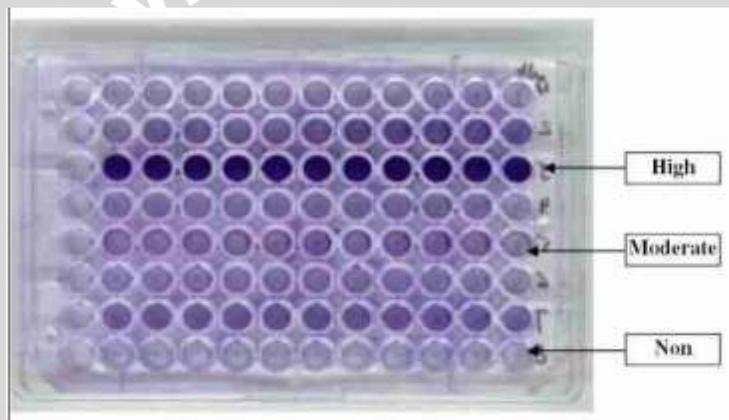


Gambar 2.7 Tes Pembentukan Biofilm dengan Metode Congo Red Agar (Niveditha dkk, 2013)

### 2.2.8.3 Metode Microtiter-Plate Test

Untuk melakukan tes terhadap pembentukan biofilm oleh bakteri *S. aureus* dapat digunakan *microtiter-plate test*. Langkah-langkahnya adalah dengan memindahkan sebanyak 200 µl bakteri yang telah dikultur sebelumnya ke dalam sterile *96-well flat-bottomed plastic tissue culture plate*. *Well* yang sebagai kontrol negatif hanya diisi oleh *fresh broth*. Kemudian semua plates diinkubasi secara aerobik selama 24 jam dalam suhu 37°C. Setelah itu, isi setiap well di aspirasi dan dicuci 3 kali menggunakan 250 µl *sterile physiological saline*. *Well-plates* dikocok secara kuat untuk menghilangkan seluruh bakteri yang tidak menempel. Sisa bakteri

yang menempel difiksasi dengan 200  $\mu$ l 99% methanol di setiap *well* selama 15 menit. Kemudian dikosongkan dan dikeringkan. Kemudian setiap *well* dilakukan proses pewarnaan dengan menggunakan 0,2 ml 2% *crystal violet* selama 5 menit. Lalu dilakukan pembilasan dengan menggunakan air keran dan dikeringkan. Untuk menganalisis secara kuantitatif pembentukan biofilm, ditambahkan 200  $\mu$ l dari 1M HCl isopropanol di setiap *well*. Kemudian dilakukan pengukuran *Optical Density* (OD) pada 595 nm menggunakan *micro plate reader* (Nuryastuti, 2010).



**Gambar 2.8 Tes Pembentukan Biofilm dengan Metode *Microtiter plate* (Mathur dkk, 2006)**

### 2.3 Pare (*Momordica charantia*)

#### 2.3.1 Taksonomi

- Kingdom : Plantae
- Subkingdom : Tracheobionta
- Super Divisi : Spermatophyta
- Divisi : Magnoliophyta
- Kelas : Magnoliopsida
- Sub Kelas : Dilleniidae

Ordo : Violales  
Famili : Cucurbitaceae  
Genus : Momordica  
Spesies : *Momordica charantia* (Tati, 2004)

**2.3.2 Tanaman Pare**



**Gambar 2. 9 Tanaman Pare (Lee et al, 2009)**



**Gambar 2.10 Biji Pare (Huang, 2010)**

Tanaman pare adalah sejenis tanaman menjalar dengan buahnya panjang bergerigi dan runcing ujungnya. Tanaman setahun, merambat atau memanjat dengan alat pembelit atau sulur dengan karakteristik umum berbentuk spiral, banyak bercabang, dan berbau tidak enak. Tanaman pare mempunyai biji banyak, coklat kekuningan, bentuknya pipih memanjang, keras (Cahyadi, 2009).

Ada 3 jenis tanaman pare, yaitu pare gajah, pare kodok dan pare hutan. Pare gajah berdaging tebal, warnanya hijau muda atau keputihan, bentuknya besar dan panjang dan rasanya tidak begitu pahit. Pare kodok buahnya bulat pendek, rasanya pahit. Pare hutan adalah pare yang tumbuh liar, buahnya kecil-kecil dan rasanya pahit. Untuk memperoleh buah yang panjang dan lurus, biasanya pada ujung buah yang masih kecil digantungkan batu. Daun dari pare yang tumbuh liar, dinamakan daun tunding. Daun ini dikatakan lebih berkhasiat bila digunakan untuk pengobatan. Daun dan buahnya yang masih muda dapat dimakan sebagai lalapan mentah atau setelah dikukus terlebih dahulu, lalu dimasak sebagai sayuran, tumis, sambal goreng, serta gado-gado. Tanaman ini juga dapat digunakan untuk membunuh serangga. Perbanyakan atau pembudidayaan tanaman pare dilakukan dengan biji. (Tati, 2004).

### **2.3.3 Morfologi**

Perawakan tumbuhan pare menjalar atau memanjat, batangnya berusuk 5 dengan panjang 2-5 m. Tanaman ini memiliki tangkai yang panjangnya 1,5 sampai 5,3 cm, letak berseling, bentuknya bulat panjang, dengan panjang 3,5 sampai 8,5 cm, lebar 4 cm, berbagi menjari 5-7, pangkal berbentuk jantung, dan warnanya hijau tua (Cahyadi, 2009).

Bentuk dari daunnya adalah tunggal, bertangkai, bentuk membulat, dengan pangkal bentuk jantung, garis tengah 4-7 cm, tepi berbagi 5-9 lobus, berbintik-bintik tembus cahaya, taju bergigi kasar hingga berlekuk menyirip, memiliki sulur daun, dan tunggal (Steenis, 1997).

Tanaman pare memiliki bunga yang tunggal, tangkai bunga 5-15 cm dekat pangkalnya dengan daun pelindung bentuk jantung hingga bentuk ginjal. Kelopaknya ada lima, bentuk lonceng, dengan banyak rusuk atau tulang membujur, yang berakhir pada 2-3 sisik yang melengkung ke bawah.

Dimana mahkotanya juga lima, berlekatan, penampang bentuk roda, bentuk memanjang hingga bulat telur terbalik, dan bertulang. Bunga jantan memiliki benang sari 3, kepala sari oranye, semula bergandengan satu dengan yang lainnya, kemudian lepas dan ruang sari bentuk S. Bunga betina memiliki bakal buah berparuh panjang, berduri tempel halus dan berambut panjang, serta putik berjumlah 3 (Deptan, 2010).

Buah pare termasuk tipe *peppo* (ketimun) memanjang, bintil-bintil tidak beraturan, oranye, dengan panjang 5-7 cm (pada tanaman yang tumbuh secara liar) hingga 30 cm (pada tumbuhan yang ditanam) (Steenis, 1997). Buah bulat memanjang berbentuk seperti silindris, warna buah hijau dan jika sudah masak kemudian dipecah, buah berwarna oranye dengan 3 katup (Cahyadi, 2009).

Di dalam buah terdapat biji yang cukup banyak, berwarna coklat kekuningan pucat, bentuknya pipih memanjang dan keras. Jika buah masih mentah maka biji akan berwarna putih (Cahyadi, 2009).

Akar tanaman ini tunjang, sisi berserabut yang berkembang luas di kawasan sekeliling. Tumbuh atau memanjat dengan alat pembelit atau sulur berbentuk spiral, banyak bercabang (Departemen Teknologi Pertanian DKI Jakarta, 2009).

#### 2.3.4 Habitat dan Distribusi Geografis

Tanaman pare banyak terdapat di daerah tropika, tumbuh baik di dataran rendah dan dapat ditemukan tumbuh liar di tanah terlantar, tegalan, serta dibudidayakan atau ditanam di pekarangan dengan dirambatkan di pagar, untuk diambil buahnya. Tanaman ini tidak memerlukan banyak sinar matahari, sehingga dapat tumbuh subur di tempat-tempat yang agak terlindung (Cahyadi, 2009).

Tanaman pare termasuk golongan Cucurbitaceae yang banyak digemari masyarakat dan mempunyai nilai ekonomis yang masih rendah. Dari hasil laporan tahunan Dinas Tanaman Pangan (2009) menyatakan bahwa produksi sayur-sayuran terutama pare masih tergolong sangat rendah dengan luas lahan yang kurang dari 1 ha dan produksi kurang dari 1 ton/ha, dengan total produksi per tahun 10,5 ton dengan luas areal 13,4 ha.

#### 2.3.5 Kandungan Kimia Tanaman Pare

Daun, buah dan akar mengandung zat pahit (tipe kukurbitasin suatu triterpen tetrasiklik) yaitu kukurbitasin A,B,C,D,E,I, dan *saponin* (Hegnauer, 1986). Daun pada tumbuhan ini mengandung zat-zat : zat pahit, asam damar, protein, besi, kalsium, fosfor, vitamin A, B1 dan C (Tati, 2004). Daun juga mengandung momordisina, momordina, karantina, resin, asam trikosanik, asam resinat, *saponin*, serta minyak lemak yang terdiri dari asam oleat, asam linoleat, asam stearat dan L.oleostearat (Cahyadi, 2009).

Buah mengandung *saponin*, *alkaloid* (sedikit), asam amino bebas, 5-hidroksitriptamin, momordisin, momordikosid F-1,F-2,G,I, asam oksalat, asam oleat, pektin, polipeptida P, asam stearat, stigmasterol, *rubixantin* (Hegnauer, 1986). Buah pare mengandung *albuminoid*, karbohidrat, zat warna, karantin, *hydroxytryptamine*, vitamin A, B dan C. Setiap 100 gr bagian buah yang dapat dimakan mengandung 29 kilo kalori; 1,1 gr protein; 0,3 gr lemak; 6,6 gr karbohidrat; 45 mg kalsium; 64 mg fosfor; 1,4 mg besi; 180 s.l. nilai vit A; 0,08 mg vit B1; 52 mg vit C dan 91,2 gr air (Tati, 2004).

Biji pada umumnya mengandung 20-40% protein salah satunya MAP 30 (*Momordica Antiviral Protein 30*), juga terdapat kukurbitin yang merupakan suatu asam amino dan 30-50% minyak lemak dengan komponen utama asam oleat, asam linoleat (70-90%), zat pahit (momordikosid A,B,C,D,E,K,L), *saponin*, visin, *phytofluene*, urease (Hegnauer, 1986). Biji pare juga mengandung *saponin*, *alkaloid*, triterpenoid, asam momordial dan momordisin. Selain itu, terdapat juga momordin I dan momordin II, kedua zat ini merupakan RIPs (*Ribosome Inactivating Proteins*). RIPs merupakan sekelompok sitotoksin yang mempunyai aktifitas menghambat sintesis protein. Di dalam biji terkandung pula lektin yang memiliki sifat menghambat sintesis protein (Cahyadi, 2009).

### 2.2.6 Senyawa Penghambat Biofilm

Secara umum tumbuhan pare memiliki zat-zat seperti tanin, terpenoid, *alkaloid*, dan *flavonoid* yang sangat berguna sebagai antimikrobal secara *in vitro* (Saeed, 2005).

- Istilah *alkaloid* dalam dunia medis dan kimia organik telah lama menjadi bagian penting dan tak terpisahkan dalam penelitian yang telah dilakukan selama ini, baik untuk mencari senyawa *alkaloid* baru ataupun untuk penelusuran bioaktivitas. Senyawa *alkaloid* merupakan senyawa organik terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh *alkaloid* berasal dari tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Secara organoleptik, daun-daunan yang berasa sepat dan pahit, biasanya teridentifikasi mengandung *alkaloid*. Selain daun-daunan, senyawa *alkaloid* dapat ditemukan pada akar, biji, ranting, dan kulit kayu. Berdasarkan literatur, diketahui bahwa hampir semua *alkaloid* di alam mempunyai keaktifan biologis dan memberikan efek fisiologis tertentu pada makhluk hidup. Sehingga tidaklah mengherankan jika manusia dari dulu sampai sekarang selalu mencari obat-obatan dari berbagai ekstrak tumbuhan. Fungsi *alkaloid* menurut beberapa ahli pernah mengungkapkan bahwa *alkaloid* diperkirakan sebagai pelindung tumbuhan dari serangan hama dan penyakit, pengatur tumbuh, atau sebagai basa mineral untuk mempertahankan keseimbangan ion. Pada senyawa *alkaloid* memanfaatkan sifat reaktif gugus basa pada senyawa *alkaloid* untuk bereaksi dengan gugus asam amino pada sel bakteri (Champbel, 2002).

*Alkaloid* secara umum mengandung paling sedikit satu buah atom nitrogen yang bersifat basa dan merupakan bagian dari cincin heterosiklik. Kebanyakan *alkaloid* berbentuk padatan kristal dengan titik lebur tertentu atau mempunyai kisaran dekomposisi. *Alkaloid* dapat juga berbentuk *amorf* atau cairan. Dewasa

ini telah ribuan senyawa *alkaloid* yang ditemukan dan dengan berbagai variasi struktur yang unik, mulai dari yang paling sederhana sampai yang paling sulit.

Dari segi biogenetik, *alkaloid* diketahui berasal dari sejumlah kecil asam amino yaitu ornitin dan lisin yang menurunkan *alkaloid* alisiklik, fenilalanin dan tirosin yang menurunkan *alkaloid* jenis isokuinolin, dan triptopan yang menurunkan *alkaloid* indol. Reaksi utama yang mendasari biosintesis senyawa *alkaloid* adalah reaksi *mannich* antara suatu aldehida dan suatu amino primer dan sekunder, dan suatu senyawa enol atau fenol. Biosintesis *alkaloid* juga melibatkan reaksi rangkap oksidatif fenol dan metilasi. Jalur poliketida dan jalur mevalonat juga ditemukan dalam biosintesis *alkaloid* (Champbel, 2002).

Niu dan Gilbert (2004) menyatakan bahwa senyawa eugenol dan senyawa sinamaldehida memiliki aktivitas antibiofilm. Kemampuan senyawa-senyawa fenolik dan aldehid untuk mengaktifkan enzim bakteri, kemungkinan menyebabkan terhambatnya aktivitas enzim glukosiltransferase yang digunakan *S. mutans* untuk mensintesis sukrosa dalam media menjadi glukran. Akibatnya, pembentukan biofilm juga menjadi terhambat karena glukran (sebagai media pelekatan bakteri) jumlahnya sedikit atau terbatas (Khan *et al.* 2008).

- Senyawa *tanin* adalah senyawa fenolik kompleks yang memiliki berat molekul 500-3000. *Tanin* disusun oleh senyawa polifenol alami yang merupakan metabolit sekunder tanaman tertentu. Polifenol memiliki spektrum luas dengan sifat kelarutan pada suatu pelarut yang berbeda-beda. Hal ini disebabkan oleh gugus hidroksil pada senyawa tersebut yang dimiliki berbeda jumlah dan posisinya. Karena *tanin* merupakan persenyawaan polifenol yang mengandung

gugus hidroksil maka mekanisme yang sama dengan mekanisme oleh senyawa *flavonoid* yakni dalam merusak sel bakteri memanfaatkan perbedaan kepolaran antara lipid penyusun sel bakteri dengan gugus alkohol pada rantai polifenol dari senyawa tanin. Walaupun struktur kimia dari flavonoid dan tanin tidaklah sama namun karena keduanya sama-sama memiliki persenyawaan fenol yang memiliki gugus hidroksil di dalamnya maka mekanisme dalam menginaktivkan bakteri juga dilakukan dengan memanfaatkan perbedaan polaritas antara lipid dengan gugus hidroksil. Apabila sel bakteri semakin banyak mengandung lipid maka akan semakin banyak diperlukan senyawa tanin untuk membuat bakteri tersebut lisis (Champbell, 2002).

Aktivitas antimikroba dari *tannin* adalah inaktivasi *adhesin* dan enzim, menghambat pertumbuhan dan menghambat kerja enzim *protease* (Cowan, 1999). *Tannin* dapat dijadikan antibiofilm karena diduga dapat menghambat proses pembentukan biofilm pada tahap *primary attachment* dan *secondary attachment* (Rahmadianti, 2011).

- Ekstrak biji pare juga mengandung senyawa golongan *terpenoid* yang dapat terakumulasi dalam jaringan lipid membran sel bakteri, dan menyebabkan terganggunya struktur dan fungsi dari membran sel disebabkan oleh ekspansi (pembengkakan) membran sel dan perubahan permeabilitas membran sel bakteri. Mekanisme dari *terpenoid* diduga dengan disrupti membran *lipophilic compound*. *Triterpenoid* ini dapat ditemukan pada cengkeh, dengan adanya mekanisme aksi dari *terpenoid* yang bersifat bakteriosidik, diharapkan dapat mengganggu pembentukan biofilm pada *primary attachment*. (Cowan, 1999).

- *Flavonoid* pada biofilm yang paling berperan adalah memiliki kemampuan dalam menghambat senyawa adhesin (Hertiani *dkk.*, 2009). Aktivitas *flavonoid* kemungkinan disebabkan oleh kemampuannya untuk mengikat adesi, membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler terlarut, dan membentuk kompleks dengan dinding sel bakteri, serta sifat lipofilik *flavonoid* yang mungkin dapat merusak membran mikroba. *Flavonoid* terutama berupa senyawa yang larut dalam air, tetapi dapat diekstraksi dengan etanol (Cowan, 1999)

Padahal adhesin merupakan salah satu faktor utama yang mempengaruhi pembentukan biofilm disamping eksopolisakarida (EPS). Adhesin berperan pada perlekatan sel bakteri di permukaan substrat. Mekanisme ini yang akan mengganggu proses pembentukan biofilm karena menghambat pembentukan *polysaccharide intercellular adhesin* (Jass *et al.*, 2003).

Aktivitas biologis senyawa *flavonoid* terhadap bakteri dilakukan dengan merusak dinding sel dari bakteri yang terdiri atas lipid dan asam amino akan bereaksi dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid sehingga dinding sel akan rusak dan senyawa tersebut dapat masuk ke dalam inti sel bakteri. Selanjutnya dengan inti sel bakteri juga senyawa ini akan kontak dengan DNA pada inti sel bakteri dan melalui perbedaan kepolaran antara lipid penyusun DNA dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid akan dapat terjadi reaksi sehingga akan merusak struktur lipid dari DNA bakteri sehingga inti sel bakteri juga akan lisis dan bakteri juga akan mengalami lisis dan mati. Mekanisme aktivitas biologis oleh senyawa flavonoid ini berbeda dengan yang dilakukan oleh senyawa alkaloid, dimana senyawa flavonoid dalam merusak sel bakteri memanfaatkan

perbedaan kepolaran antara lipid penyusun sel bakteri dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid (Gunawan, 2009).

### 2.3.7 Khasiat Pare

Setiap bagian tanaman pare memiliki khasiat yang berguna untuk dijadikan obat tradisional. Tanaman yang rasanya pahit ini bersifat sebagai anti radang, penambah nafsu makan, dan penurun panas. Kegunaan lainnya yaitu mengatasi cacingan pada anak, menyuburkan rambut anak, diabetes, batuk rejan, ambeien, menambah ASI, disentri, menghilangkan bekas luka (Tati, 2004). Di Meksiko, seluruh bagian tanaman digunakan untuk mengobati diabetes dan disentri (Taylor, 2005).

Bagian buahnya dimanfaatkan untuk obat batuk, pembersih darah, penambah nafsu makan, penurun panas, penyegar badan, mengobati diabetes dan radang tenggorokan (Cahyadi, 2009). Untuk mengobati disentri atau kencing manis biasanya digunakan 2 buah pare segar (Virdi, 2003). Di Brazilia, buahnya digunakan untuk antitumor, mengobati luka, reumatik, malaria, inflamasi, gangguan menstruasi, diabetes, kolik, demam, dan cacing. Selain itu, buahnya dapat menginduksi terjadinya aborsi dan mengatasi penyakit-penyakit kulit seperti vaginitis, hemoroid, skabies, gatal-gatal kemerahan, dan lepra (Taylor, 2005) .

Daun digunakan sebagai obat cacing, obat luka, peluruh haid, pencahar, dan penurun panas (Cahyadi, 2009). Daun pare digunakan pada disentri, kencing manis (Virdi, 2003), membangkitkan nafsu makan, pelancar ASI, sakit *liver*, bisul (obat luar), radang kulit bernanah (obat luar) dibutuhkan 1 buah segar lalu dilumatkan dan dioleskan (Tati, 2004). Di Nikaragua, daun juga berfungsi untuk

mengobati nyeri perut, diabetes, demam, malaria, masalah pada kulit, gangguan menstruasi, hipertensi, dan infeksi. Di Amazon, daun dikonsumsi sebagai teh yang berguna untuk diabetes, campak, hepatitis, dan demam (Taylor, 2005). Bunga dapat memacu enzim pencernaan (Cahyadi, 2009). Akar pare juga digunakan padadisentri amoeba (Tati, 2004).

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

