

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang Masalah

Infeksi merupakan masalah yang paling banyak dijumpai pada kehidupan sehari-hari. Kasus infeksi dapat disebabkan oleh bakteri atau mikroorganisme yang patogen. Mikroba masuk ke dalam jaringan tubuh dan berkembang biak dalam jaringan (Waluyo, 2004), di negara berkembang hampir 15 juta orang meninggal setiap tahunnya diakibatkan oleh penyakit infeksi. Beberapa penyakit yang masuk dalam daftar 10 penyakit terbanyak yang diderita masyarakat Indonesia diantaranya diare, infeksi saluran pernapasan akut dan pneumonia. Penyebab penyakit infeksi tersebut adalah bakteri *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus subtilis* (Gunawan, 2007).

Hal tersebut mendorong penemuan sumber obat-obatan antimikroba lain dari bahan alam sebagai alternatif pengobatan infeksi yang sudah ada. Akhir-akhir ini banyak ditemukan berbagai macam antimikroba dari bahan alam seperti pada tanaman, rempah-rempah atau mikroorganisme. Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat adalah biji kacang panjang (*Vigna unguiculata* (L) Walp). Kandungan yang terdapat dalam tanaman ini adalah saponin, tanin, flavonoid, glikosida, alkaloid, karbohidrat, dan polifenol (Sandeep, 2014). Salah satu fungsi senyawa aktif flavonoid dan tanin adalah sebagai antibakteri (Wijayakusuma dan Dalimarta, 2006).

Penelitian Sandeep (2014) menjelaskan bahwa ekstrak air dan etanol biji kacang panjang pada konsentrasi 300 µg/ml dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*. Identifikasi senyawa aktif pada biji kacang panjang yaitu ekstrak air mengandung flavonoid, glikosida, alkaloid, tanin, saponin, dan polifenol, sedangkan ekstrak etanol mengandung karbohidrat, alkaloid, glikosida, saponin, steroid, tanin, dan polifenol.

Penelitian ini merupakan lanjutan penelitian Sandeep (2014) dengan cara memfraksinasi ekstrak air dan etanol biji kacang panjang secara partisi cair-cair. Fraksinasi menggunakan pelarut non polar *n*-heksan dan pelarut polar air. Namun penelitian ini fokus pada aktivitas antibakteri dari fraksi air. Senyawa-senyawa yang bersifat polar dalam ekstrak biji kacang panjang akan ditarik oleh fraksi air dan harapannya senyawa tersebut mempunyai aktivitas antibakteri. Berdasarkan uraian diatas penelitian ini dimaksudkan untuk membandingkan aktivitas antibakteri fraksi air yang berasal dari ekstrak air dan etanol biji kacang panjang terhadap *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* secara in-vitro. Harapannya hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar dari penemuan senyawa antibakteri baru dari biji kacang panjang.

## **B. Perumusan Masalah**

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, maka rumusan permasalahan pada penelitian ini adalah :

1. Apakah terdapat perbedaan aktivitas antibakteri yang berasal dari fraksi air ekstrak air dan etanol biji kacang panjang (*Vigna unguiculata* (L) Walp)

dilihat dari nilai KHM (Konsentrasi Hambat Minimal) terhadap *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*?

2. Berapakah nilai KHM (Konsentrasi Hambat Minimal) fraksi air dari ekstrak air dan etanol biji kacang panjang terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*?

### C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

1. Mengetahui adanya perbedaan aktivitas antibakteri fraksi air dari ekstrak air dan etanol biji kacang panjang (*Vigna unguiculata* (L) Walp) terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*.
2. Menentukan nilai KHM (Konsentrasi Hambat Minimal) dari fraksi air ekstrak air dan etanol biji kacang panjang terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*.

### D. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah memberikan bukti ilmiah dan informasi mengenai aktivitas antibakteri fraksi air yang berasal dari ekstrak air dan etanol biji kacang panjang (*Vigna unguiculata* (L) Walp) terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*.

### E. Tinjauan Pustaka

#### 1. Kacang Panjang (*Vigna unguiculata* (L) Walp)

Kacang panjang (Gambar 1) dikenal dengan berbagai macam nama daerah. Di pasaran Internasional, kacang panjang dikenal dengan nama *yard long bean*

atau *cow peas* atau *asparagus bean* (Amerika), *paythenkai* (Thailand), *jurokusasage* (Jepang), *taukok* (Cina), *sitao* (Filipina), kacang panjang atau kacang belut (Malaysia). Di Indonesia, kacang panjang dikenal dengan nama kacang turus (Jawa Barat) dan kacang lanjaran (Jawa Tengah) (Setijo, 2006).

Kacang panjang merupakan tanaman semusim yang bersifat membelit (merambat) dan setengah membelit dengan tinggi kurang lebih 2,5 meter. Bagian batang tanaman ini umumnya tumbuh tegak, silindris, lunak dan berwarna hijau dengan permukaan licin. Batangnya panjang liat dan sedikit berbulu serta berbuku-buku hampir tidak jelas. Daun melekat pada tangkai daun yang agak panjang, letak daun bersusun tiga, berwarna hijau muda sampai hijau tua. Bunga berbentuk seperti kupu-kupu, terletak pada tangkai yang panjang, dan warna bunga bervariasi antara putih, kuning atau biru. Biji kacang panjang berbentuk polong yang ukuran panjangnya 15-25 cm dan ramping, serta berwarna hijau keputih-putihan atau putih (buah muda), atau kemerah-merahan namun setelah tua menjadi putih kekuning-kuningan atau hijau kekuning-kuningan (Rukmana, 1995).

Biji kacang panjang berkhasiat sebagai pencahar, diuretik, anthelmintik, mengurangi anoreksia, mengatasi konstipasi dan penyakit kuning (Setijo, 2006). Kacang panjang mengandung fitoestrogen berupa isoflavon yang mempunyai efek menyerupai estrogen. Selain itu, kacang panjang mengandung enam antosianin yakni sianidin 3-O-galaktosida, sianidin 3-O-glukosida, delphinidin 3-O-glukosida, malvidin 3-O-glukosida, peonidin 3-O-glukosida, dan petunidin 3-O-glukosida. Kandungan lainnya adalah flavonol glikosida, yakni kaempferol 3-O-glukosida,

quersetin, quersetin 3-O-glukosida, kuersetin 3-O-6'-asetilglukosida (Wong dan Chang, 2004). Daun dan akarnya mengandung saponin dan polifenol (Hutapea, 1994), protein, karbohidrat, lemak, serat, kalsium, besi, fosfor, potasium, sodium, vitamin B1, vitamin B2, vitamin C, dan niasin (Handri dan Rafira, 2003).

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang ditetapkan (Depkes RI., 1995). Menurut Depkes RI., (1979) dikenal tiga macam ekstrak yaitu ekstrak cair, ekstrak kental, dan ekstrak kering.

Ekstrak etanol biji kacang panjang mengandung senyawa karbohidrat, alkaloid, glikosida, saponin, steroid, tanin dan polifenol sedangkan ekstrak air biji kacang panjang mengandung flavonoid, glikosida, alkaloid, tanin, saponin dan polifenol (Sandeep, 2014). Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah sokletasi dan infundasi. Prinsip sokletasi adalah dengan memanaskan pelarut hingga membentuk uap dan membasahi sampel. Pelarut yang sudah membasahi sampel kemudian akan turun menuju labu pemanasan dan kembali menjadi uap untuk membasahi sampel, pelarut yang ditempatkan didalam labu akan menguap ketika melewati pipa samping alat soklet dan mengalami pendinginan saat melewati kondensor. Pelarut yang telah berkondensasi tersebut akan jatuh pada bagian dalam alat soklet yang berisi sampel yang telah dibungkus

dengan kertas saring dan merendamnya hingga mencapai bagian atas tabung sifon. Satu daur sokletasi dapat dikatakan telah terlewati, apabila alat sokletasi berisi pelarut telah terendam pelarut sampai bagian atas tabung sifon, kemudian seluruh bagian pelarut tersebut akan tertarik dan ditampung pada labu tempat pelarut awal. Proses ini sangat baik untuk senyawa yang tidak terpengaruh oleh panas (Darwis, 2000). Pelarut etanol 96% digunakan sebagai cairan penyari pada metode sokletasi yaitu dengan pertimbangan melarutkan berbagai senyawa dari non polar, semi polar sampai, merupakan pelarut universal, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% keatas, tidak beracun, netral, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, untuk menguapkan pelarut dibutuhkan waktu yang relatif lebih cepat.

Prinsip Infundasi yaitu dengan cara menyari simplisia menggunakan air pada suhu 90°C selama 15 menit. Infundasi merupakan proses yang umum digunakan untuk menyari zat aktif yang larut dalam air dan bahan-bahan nabati. Pelarut aquadest digunakan karena stabil, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, tidak beracun, dan alami, namun kekurangan aquades sebagai cairan penyari yaitu tidak selektif, sari dapat ditumbuhi kapang atau kuman sehingga cepat rusak, dan penguapannya diperlukan waktu yang lama (Depkes RI., 1986).

Fraksinasi adalah suatu proses untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dengan golongan utama yang lain pada tumbuhan berdasarkan perbedaan kepolaran. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan terlarut dalam pelarut polar, begitu juga senyawa yang bersifat non polar akan

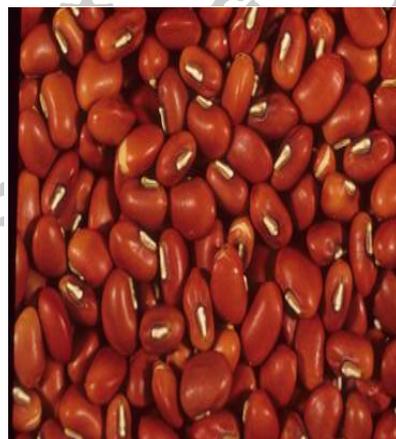
terlarut dalam pelarut non polar (Harborne, 1996). Fraksinasi dilakukan untuk memisahkan senyawa-senyawa berdasarkan kepolaran zat aktif dan fraksi air dipilih untuk menarik senyawa polar seperti, flavonoid, polifenol, glikosida, tanin dan saponin. Ekstrak air maupun ekstrak etanol dipartisi menggunakan pelarut *n*-heksan yang bertujuan untuk menarik senyawa-senyawa yang non polarnya saja, kemudian didapatkan fraksi polarnya yaitu air dan diuji aktivitas antibakterinya.

Klasifikasi tanaman kacang panjang sebagai berikut (Haryanto, 2007)

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Fabales
Suku	: Fabaceae
Marga	: <i>Vigna</i>
Jenis	: <i>Vigna unguiculata</i> (L) Walp



(1a)



(1b)

**Gambar 1. Pohon kacang panjang (1a) dan biji kacang panjang (1b) (Dokumentasi pribadi)**

## 2. Mikrobiologi

Mikrobiologi adalah ilmu pengetahuan tentang makhluk-mahluk kecil yang hanya dapat dilihat mikroskop (bahasa Yunani: *micros* artinya kecil, *bios* artinya hidup, *logos* artinya ilmu) (Dwijoseputro, 2001). Salah satu contoh makhluk-mahluk kecil tersebut adalah bakteri. Bakteri dapat dibedakan dari bentuknya maupun melalui pengecatan Gram. Organisme yang termasuk ke dalam golongan mikroorganisme adalah bakteri, jamur, dan virus (Pratiwi, 2008).

Bakteri adalah sel prokariot yang khas, uniseluler dan tidak mengandung struktur yang terbatas membran di dalam sitoplasmanya. Sel-sel khas berbentuk bola, batang atau spiral. Bakteri umumnya berdiameter sekitar 0,5-1  $\mu\text{m}$  dan panjang 1,5-2,5  $\mu\text{m}$ . Reproduksi terutama dengan pembelahan biner sederhana yaitu suatu proses aseksual. Beberapa dapat tumbuh pada suhu 0°C, dan ada juga yang tumbuh dengan baik pada sumber air panas yang suhunya 90°C atau lebih. Bakteri juga amat penting untuk memelihara lingkungan kita yaitu dengan menghancurkan bahan yang tertumpuk di daratan dan lautan. Beberapa macam menimbulkan penyakit pada binatang (termasuk manusia) dan tumbuhan. Organisme ini sangat luas penyebarannya di lingkungan kita sehari-hari (Pelczar dan Chan, 2007).

Bakteri dapat dibedakan dari bentuknya melalui metode pengecatan Gram, dan digolongkan menjadi 2 golongan yaitu: bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif (Jawetz *et al.*, 2005). Bakteri Gram negatif diantaranya *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Salmonella typhi* sedangkan *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* adalah contoh bakteri Gram positif. Penelitian ini

menggunakan bakteri Gram positif *Bacillus subtilis* dan Gram negatif *Eschericia coli*.

a. *Bacillus subtilis*

*Bacillus subtilis* merupakan bakteri berbentuk batang kecil dengan ukuran  $0,3-2,2 \times 1,2-7,0 \mu\text{m}$ , mempunyai ujung persegi dan tersusun dalam rantai panjang, tergolong Gram positif, motil, menghasilkan spora yang biasanya resisten pada panas, dan bersifat aerob (beberapa spesies bersifat anaerob fakultatif). Bakteri ini beserta endosporanya tersebar luas dalam tanah, tumbuhan, dan air dan terbawa oleh partikel-partikel debu di udara, resisten terhadap pertumbuhan lingkungan, tahan terhadap panas kering dan menyebabkan penyakit pada manusia dengan sistem imun terganggu, misalnya gastroenteritis akut dan meningitis (Jawetz *et al.*, 1996).

Genus *Bacillus* mempunyai sifat fisiologis yang menarik karena tiap-tiap jenis mempunyai kemampuan yang berbeda-beda, diantaranya : mampu mendegradasi senyawa organik seperti protein, pati, selulosa, hidrokarbon dan agar, mampu menghasilkan antibiotik, berperan dalam nitrifikasi dan denitrifikasi, serta bersifat khemolitotrof, asidofilik, atau thermofilik (Buckle, 1985). Morfologi bakteri *Bacillus subtilis* dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Morfologi bakteri *Bacillus subtilis* (Hepworth, 2002)

Klasifikasi *Bacillus subtilis* sebagai berikut (Irianto, 2006) :

Kingdom : Procaryotae  
Divisi : Bacteria  
Kelas : Schizomycetes  
Bangsa : Eubacteriales  
Suku : Bacillaceae  
Marga : *Bacillus*  
Jenis : *Bacillus subtilis*

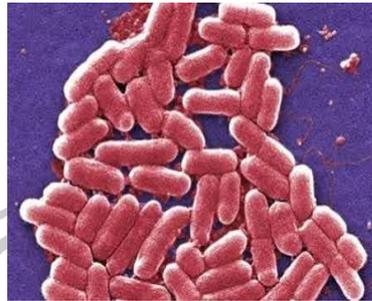
b. *Escherichia coli* (*E.Coli*)

*Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek (kokobasil) yang memiliki panjang sekitar 2  $\mu\text{m}$ , berdiameter 0,7  $\mu\text{m}$ , lebar 0,4-0,7  $\mu\text{m}$  dan bersifat anaerob fakultatif. *Escherichia coli* termasuk ke dalam bakteri heterotrof yang memperoleh makanan berupa zat organik dari lingkungannya karena tidak dapat menyusun sendiri zat organik yang dibutuhkannya. Zat organik diperoleh dari sisa organisme lain. Bakteri ini menguraikan zat organik dalam makanan menjadi zat anorganik, yaitu  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , energi, dan mineral (Ganiswarna, 1995).

*Escherichia coli* merupakan flora normal saluran pencernaan manusia atau hewan. Manifestasi klinis infeksi *E.coli* dengan bakteri enterik lain tergantung pada tempat infeksi dan tidak dapat dibedakan dengan gejala atau tanda dari proses-proses yang disebabkan oleh bakteri lain. Penyakit-penyakit lain yang disebabkan oleh *E.coli* adalah infeksi saluran kemih, mulai dari

sistitis sampai pielonefritis, pneumonia, meningitis pada bayi baru lahir, infeksi luka terutama luka di dalam abdomen (Karsinah dkk., 1994).

Morfologi bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada gambar 3.



**Gambar 3. Morfologi bakteri *Escherichia coli* (Bonang, 1986)**

Klasifikasi *Escherichia coli* adalah (Jawetz *et al.*, 2005) :

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Species	: <i>Escherichia coli</i>

### 3. Antibakteri

Antibakteri adalah obat pembasmi mikroba atau bakteri, khususnya bakteri yang merugikan manusia. Antibakteri yang ideal bersifat “toksisitas selektif” yang artinya obat ini merugikan parasit tanpa merugikan inangnya. Antibakteri dapat bersifat bakteriostatik atau bakterisidal. Bakteriostatik adalah antimikroba yang hanya menghambat pertumbuhan mikroorganisme, sedangkan bakterisidal

yaitu antimikroba yang membunuh atau menyebabkan kematian pada mikroorganisme (Ganiswara, 1995).

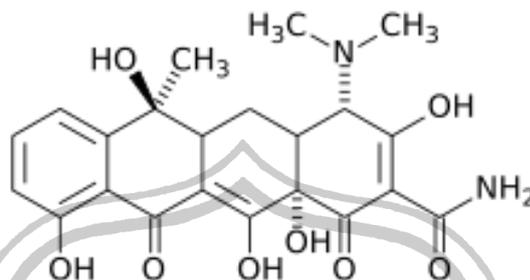
Mekanisme kerja antibakteri berdasarkan struktur kimia dan mekanisme aksi, dibedakan sebagai berikut: 1) Agen yang menghambat sintesis dinding sel bakteri; 2) Agen yang bekerja langsung pada membran sel mikroorganisme, meningkatkan permeabilitas dan menyebabkan kebocoran senyawa intraseluler; 3) Agen yang mengganggu fungsi ribosom subunit 30<sub>S</sub> atau 50<sub>S</sub> secara reversibel menghambat sintesis protein; 4) Agen yang mempengaruhi metabolisme asam nukleat bakteri; 5) Antimetabolit adalah substansi yang secara kompetitif menghambat metabolit mikroorganisme karena memiliki struktur yang mirip dengan substrat normal bagi enzim metabolisme (Pratiwi, 2008).

#### **4. Tetrasiklin Sebagai Kontrol Positif**

Tetrasiklin merupakan kelompok antibiotika yang dihasilkan oleh jamur *Streptomyces aureofaciens* atau *S. rimosus*, berspektrum luas yang aktif terhadap bakteri Gram positif maupun Gram negatif. Tetrasiklin bersifat bakteriostatik yang mempunyai mekanisme menghambat sintesis protein. Hal ini dilakukan dengan cara mengikat unit ribosom sel kuman 30<sub>S</sub> sehingga t-RNA tidak menempel pada ribosom yang mengakibatkan tidak terbentuknya amino asetil RNA (Tan dan Rahardja, 2008).

Pemerriannya berupa serbuk hablur, kuning, tidak berbau, agak higroskopis, mudah larut dalam air, larut dalam larutan alkali hidroksida dan larutan karbonat, larut dalam metanol, etanol, praktis tidak larut dalam kloroform

dan dalam eter, bersifat stabil di udara tetapi pada pemaparan terhadap cahaya matahari yang kuat dalam udara lembab menjadi gelap (Depkes RI., 2000). Kerangka struktur dari tetrasiklin dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Struktur Kimia Tetrasiklin (Marry, 2001)

## 5. Uji Aktivitas Antibakteri

Penelitian ini digunakan metode dilusi cair dan aktivitas antibakteri ditandai dengan jernihnya suatu medium berisi bakteri yang dicampur dengan bahan uji. Metode ini mengukur MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) atau KHM (Kadar Hambat Minimum). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambah dengan mikroba uji. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba ditetapkan sebagai KHM. Selanjutnya larutan KHM dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba ditetapkan sebagai KHM (Pratiwi, 2008).

Kelebihan uji dilusi adalah uji tersebut memungkinkan adanya penentuan hasil kuantitatif dan kualitatif secara bersama-sama, yang menunjukkan jumlah obat tertentu yang diperlukan untuk menghambat (atau membunuh)

mikroorganisme yang diuji. Nilai KHM dapat membantu dalam penentuan tingkat resistensi namun kekurangan metode dilusi ini adalah memerlukan banyak tenaga dan waktu serta perlu biaya yang mahal karena hanya dapat menguji satu bahan antimikroba dalam satu kegiatan, memerlukan banyak alat dan bahan serta memerlukan ketelitian dalam proses pengerjaannya termasuk persiapan konsentrasi antimikroba yang bervariasi (Jawetz *et al.*, 2005).

#### **F. Landasan Teori**

Hasil penelitian Sandeep (2014) menjelaskan bahwa ekstrak air dan etanol biji kacang panjang (*Vigna unguiculata* (L) Walp) memiliki aktivitas antibakteri pada konsentrasi 300 µg/ml terhadap *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*. Ekstrak etanol biji kacang panjang mengandung senyawa karbohidrat, alkaloid, glikosida, saponin, steroid, tanin dan polifenol sedangkan ekstrak air biji kacang panjang mengandung flavonoid, glikosida, alkaloid, tanin, saponin dan polifenol.

Kandungan senyawa aktif yang berbeda dari fraksi yang berbeda kemungkinan menghasilkan aktivitas antibakteri yang berbeda, seperti pada penelitian Suliantri dkk (2012) yang membuktikan bahwa dari 17 fraksi yang dihasilkan mengandung senyawa aktif yang berbeda dan menghasilkan aktivitas antibakteri yang berbeda.

#### **G. Hipotesis**

Ada perbedaan aktivitas antibakteri fraksi air yang berasal dari ekstrak air dan etanol biji kacang panjang (*Vigna unguiculata* (L) Walp) terhadap *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*.