

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan utama, tidak hanya di Indonesia tetapi juga di seluruh dunia, serta menjadi penyebab kematian tertinggi secara global (Rahman et al., 2023). Berdasarkan tinjauan global tahun 2022, dari total 13,7 juta kematian akibat infeksi pada tahun 2019, sekitar 7,7 juta di antaranya disebabkan oleh 33 jenis bakteri. Angka ini setara dengan 13,6% dari seluruh kematian di dunia (Diop et al., 2025). Infeksi terjadi ketika organisme patogen seperti bakteri, virus, jamur atau parasit masuk ke dalam tubuh manusia dan mengganggu fungsi normal organ maupun sistem tubuh (Puluhulawa & Paneo., 2024). Salah satu bakteri yang menjadi penyebab terbesar infeksi adalah *Staphylococcus aureus*, yaitu bakteri yang umumnya terdapat pada permukaan kulit maupun rongga hidung manusia (Lestari et al., 2022; Hanina et al., 2022). Sekitar 30% populasi manusia mengalami kolonisasi oleh *S. aureus* dengan prevalensi infeksi berkisar antara 18–30% (Meylina et al., 2024). Bakteri ini mampu menginfeksi jaringan maupun organ tubuh dan menimbulkan penyakit dengan gejala khas berupa peradangan, nekrosis, serta pembentukan abses (Niken & Yusuf., 2024).

Pengobatan infeksi akibat *S. aureus* dilakukan dengan pemberian antibiotik (Niken & Yusuf., 2024). Namun penggunaan antibiotik dalam jangka panjang dapat menyebabkan terjadinya resistensi terhadap bakteri (Meylina et al., 2024). *World Health Organization* (WHO) bahkan memperkirakan bahwa pada tahun 2050 resistensi antibiotik dapat mengakibatkan hingga 10 juta kasus kematian (Putri et al., 2023). Oleh sebab itu, diperlukan penemuan antibakteri baru yang efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen tersebut (Nisyak et al., 2022).

Salah satu senyawa yang dapat menjadi alternatif terapi dalam mengatasi resistensi antibiotik adalah asam deoksikolat, yaitu asam empedu sekunder yang terbentuk dari metabolisme asam empedu primer (*cholic acid*) oleh bakteri di usus (Whitmore et al., 2025). Asam deoksikolat memiliki nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) sebesar 1 mM terhadap *S. aureus* dengan aktivitas antibakteri 20 kali lebih kuat dibandingkan asam empedu primer. Pada konsentrasi tersebut, asam deoksikolat bersifat bakterisidal, sementara pada konsentrasi yang lebih rendah yaitu 0,4 mM, asam deoksikolat masih mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* (Sannasiddappa et al., 2017). Namun, penelitian mengenai potensi asam deoksikolat sebagai antibakteri pada pemodelan hewan infeksi masih sangat terbatas. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk bisa menguji efek antibakteri asam deoksikolat dalam pemodelan penyakit yang lebih efisien.

Salah satu organisme model yang dapat digunakan untuk pengujian efek antibakteri secara *in vivo* adalah *Drosophila melanogaster* yang memiliki sekitar 75% kesamaan genetik homolog dengan manusia. Selain itu, *D. melanogaster* memiliki beberapa keunggulan yaitu mudah dipelihara, tingkat reproduksi yang tinggi, serta

biaya pemeliharaan yang relatif rendah (Nainu, 2018). *D. melanogaster* juga dapat diinfeksi oleh bakteri *S. aureus* sehingga berpotensi digunakan sebagai hewan model dalam penelitian infeksi bakteri (Nainu et al., 2025). Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan pengujian efek antibakteri asam deoksikolat terhadap *S. aureus* menggunakan model infeksi *D. melanogaster*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah bagaimana pengaruh pemberian asam deoksikolat terhadap fenotipe *D. melanogaster* yang terinfeksi *S. aureus*, berdasarkan tingkat kelangsungan hidup dan jumlah koloni bakteri (CFU)?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian asam deoksikolat terhadap fenotipe *D. melanogaster* yang terinfeksi *S. aureus*, berdasarkan tingkat kelangsungan hidup dan jumlah koloni bakteri (CFU).

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

2.1.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, autoklaf (Hirayama®), Blender, BSC II (*Biosafety Cabinet Class II*), cawan petri, *Disposable syringe* (OneMed®), inkubator (Memmert®), *micropestle* (Axyste®), *microtube*, mikropipet (Dragonlab®), oven (Memmert®), *vial* dan *plugs Drosophila* (Biologix®).

2.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah agar, aluminium foil, asam deoksikolat (sigma®), asam propionat, *aquadest*, *brewer's yeast*, *corn meal*, *D. melanogaster* (Oregon-R), etanol 70% (onemed®), gas CO₂, glukosa, *Mannitol Salt Agar* (MSA), metil paraben, *Nutrient Agar* (NA), pisang, *sodium chloride* (NaCl) 0.9%, sukrosa, dan suspensi biakan *S. aureus* ATCC 6538P.

2.2 Metode Penelitian

2.2.1 Penyiapan hewan coba

Pada penelitian ini digunakan model uji berupa lalat buah (*D. melanogaster*) *wild-type* (Oregon-R) yang diperoleh dari koleksi *Laboratory Host Defense and Responses*, *Kanazawa University*. Pemeliharaan lalat buah dilakukan dalam vial kultur yang berisi pakan standar dengan kondisi lingkungan terkontrol pada suhu 25°C (As'ad et al., 2023).

2.2.2 Preparasi sampel

Asam deoksikolat dilarutkan dengan menggunakan etanol 70%. Selanjutnya, larutan asam deoksikolat dibuat dalam larutan stok dengan konsentrasi 1000 µM, 200 µM, dan 40 µM, kemudian larutan stok tersebut diencerkan dalam pakan perlakuan menjadi beberapa konsentrasi yaitu 50 µM, 10 µM, dan 2 µM (As'ad et al., 2023).

2.2.3 Pembuatan pakan

Dalam penelitian ini, pakan yang digunakan untuk *D. melanogaster* terdiri dari pakan standar dan pakan perlakuan (penambahan asam deoksikolat). Pakan standar dibuat dari campuran agar 1,8 g, gula pasir 9 g, ragi 5 g, tepung jagung 15 g, serta air hingga mencapai 200 mL. Semua bahan ditimbang sesuai takaran, kemudian dipanaskan pada suhu $\pm 100^{\circ}\text{C}$ selama 1 jam sambil diaduk hingga mengental. Setelah suhu turun, ditambahkan 900 µL asam propionat dan 800 µL metil paraben. Campuran akhir kemudian dimasukkan ke dalam vial dan dibiarkan memadat selama 24 jam. Pakan perlakuan dibuat dengan variasi konsentrasi asam deoksikolat 50 µM, 10 µM,

dan 2 μ M. Setiap konsentrasi asam deoksikolat dicampurkan ke dalam pakan standar dan disiapkan masing-masing dalam lima replikasi.

2.2.4 Uji model infeksi *S. aureus* pada *D. melanogaster*

Larva instar ke-2 dimasukkan ke dalam tabung *microtube* yang mengandung 1000 μ L pisang yang telah dihancurkan dan 500 μ L suspensi bakteri *S. aureus* dengan konsentrasi 5×10^8 CFU/ml, kemudian diinkubasi selama 3 jam. Selanjutnya, larva dicuci menggunakan larutan NaCl 0,9% dan dipindahkan ke dalam vial yang berisi pakan perlakuan untuk melanjutkan ke tahap pengujian berikutnya (Ramond et al., 2021).

2.2.5 Uji kelangsungan hidup *D. melanogaster*

Uji kelangsungan hidup (*survival assay*) dilakukan untuk menilai lama hidup pada masing-masing kelompok perlakuan yang dimulai dari larva instar ke-2 hingga menjadi lalat dewasa. Empat kelompok larva yang diinfeksi *S. aureus* dan satu kelompok larva tanpa infeksi yang telah dipindahkan ke pakan baru sesuai kelompok perlakuannya, kemudian diamati setiap hari dan dicatat jumlah larva yang berkembang menjadi pupa serta jumlah pupa yang berkembang menjadi lalat dewasa (As'ad et al., 2023; Sukarsih et al., 2021).

2.2.6 Perhitungan jumlah koloni bakteri (CFU)

Perhitungan jumlah koloni bakteri (CFU) pada *D. melanogaster* dilakukan menggunakan larva terinfeksi maupun larva tanpa infeksi yang dipelihara pada pakan dengan perlakuan serupa seperti pada uji *survival*. Selanjutnya, lima lalat dewasa dari setiap kelompok diambil dan dihancurkan secara manual menggunakan *micropestle*, lalu ditambahkan 1 ml *aquadest* steril ke dalam *microtube* untuk memperoleh homogenat yang merata. Untuk mengurangi kepadatan sel bakteri, homogenat diencerkan dengan metode pengenceran bertingkat yaitu 1 ml homogenat dimasukkan ke dalam 9 ml *aquadest* steril dalam vial hingga diperoleh pengenceran 10^{-3} . Selanjutnya, sebanyak 1 ml dari tiap pengenceran diinokulasikan ke dalam cawan petri, lalu ditambahkan medium *Mannitol Salt Agar* (MSA). Jumlah koloni *S. aureus* yang tumbuh setelah inkubasi 1x24 jam pada suhu 37°C dihitung dan dinyatakan dalam satuan CFU/mL (Sukarsih et al., 2021; Nainu et al., 2025).

2.2.7 Analisis data

Data dari uji kelangsungan hidup dan data perhitungan jumlah koloni bakteri dianalisis menggunakan metode ANOVA satu arah (*one-way ANOVA*). Seluruh analisis statistik dilakukan dengan bantuan *software GraphPad Prism*® 9. Hasil disajikan dalam bentuk rata-rata $\pm$ SD, dengan nilai $p < 0,05$ dianggap memiliki perbedaan signifikan secara statistik.