

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Kasus infeksi bakteri masih menjadi salah satu masalah kesehatan utama di Indonesia. Kondisi ini umumnya disebabkan oleh paparan lingkungan yang kurang higienis, sehingga mendukung pertumbuhan dan penyebaran bakteri patogen. Beberapa bakteri yang sering menimbulkan infeksi pada manusia antara lain *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Amalia dan Trimulyono, 2018).

S. aureus adalah bakteri gram positif berbentuk kokus dengan diameter sekitar 0,7-1,2 μm . Bakteri ini tersusun dalam kelompok tidak beraturan menyerupai buah anggur, bersifat fakultatif anaerob, tidak memiliki kemampuan bergerak, serta tidak membentuk spora. *E. coli* merupakan salah satu anggota famili Enterobacteriaceae yang memiliki bentuk batang dan bersifat gram negatif. Bakteri ini secara normal hidup sebagai mikroflora di dalam usus, tetapi pada keadaan tertentu dapat berubah menjadi patogen. *E. coli* diketahui dapat menyebabkan berbagai infeksi seperti infeksi saluran kemih, infeksi pada saluran pencernaan, serta infeksi luka setelah operasi, sehingga diperlukan solusi untuk mengatasinya, seperti penggunaan antibiotik (Rianti dkk., 2022).

Penggunaan antibiotik merupakan solusi utama dalam mengatasi infeksi bakteri selama lebih dari 70 tahun. Namun, efektivitas terapi antibiotik saat ini semakin terbatas akibat meningkatnya kasus resistensi antibiotik bakteri patogen, yang berimplikasi pada tingginya risiko kegagalan pengobatan (Kolar, 2022). Sebagai contoh, antibiotik yang sering digunakan utamanya untuk infeksi bakteri *S. aureus* dan *E. coli* adalah kloramfenikol. Kloramfenikol merupakan antibiotik berspektrum luas yang bekerja dengan cara menghambat sintesis protein pada bakteri, sehingga efektif terhadap bakteri Gram positif (*S. aureus*) maupun Gram negatif (*E. coli*). Namun, seiring berkembangnya zaman, kekuatan dari infeksi bakteri juga semakin menguat, menjadikan sebagian antibiotik termasuk kloramfenikol menjadi resisten (Islmiyati dan Husen, 2025).

Resistensi antibiotik merupakan fenomena ketika bakteri mampu mengembangkan mekanisme pertahanan, sehingga menurunkan efektivitas antibiotik dalam menghambat maupun membunuh bakteri tersebut (Mandagi dkk., 2022). Berdasarkan data *World Health Organization* (WHO), pada tahun 2019 tercatat sebanyak 1,27 juta kematian disebabkan oleh *antimicrobial resistance*

(AMR). Angka tersebut diproyeksikan akan terus meningkat pada tahun 2050 diperkirakan dapat mencapai hingga 10 juta kematian (WHO, 2023).

Meningkatnya kasus resistensi antibiotik mendorong perlunya pencarian sumber antibiotik alternatif yang lebih aman dan efektif. Indonesia sebagai negara dengan tingkat keanekaragaman hayati yang tinggi memiliki potensi besar dalam penyediaan senyawa bioaktif dari berbagai organisme (Hanum dan Kasiamdari, 2013). Salah satu bentuk keanekaragaman hayati yang diketahui mampu menghasilkan berbagai metabolit sekunder dengan aktivitas biologis, termasuk aktivitas antibakteri adalah *lichen* (Silviana dan Asri, 2022).

Lichen atau lumut kerak merupakan sumber alami berbagai senyawa aktif baru yang terbentuk dari hubungan simbiotik antara alga (*ficobion*) atau *cyanobacteria* (*photobiont*) dengan jamur (*mycobiont*). Organisme ini dapat tumbuh di berbagai jenis substrat seperti batang pohon, tanah, dinding, batu, maupun permukaan lain, serta mampu beradaptasi pada beragam kondisi lingkungan, mulai dari wilayah gurun hingga daerah kutub (Amalia dan Trimulyono, 2018). *Lichen* tumbuh pada batang pohon pinus karena batang pinus menyediakan habitat yang sesuai. pH yang sedikit asam (sekitar 3–4) dengan kondisi cahaya yang memadai sangat mempengaruhi pertumbuhan *lichen*. Selain itu, kulit batang pinus yang memiliki pertumbuhan yang lambat namun stabil, kasar, terutama di bagian pangkal, juga memudahkan *lichen* menempel dan berkembang (Backlund dkk., 2016). Pertumbuhan *lichen* pada batang pohon didukung oleh karakteristik inang, seperti permukaan kulit batang yang kasar, retak-retak, dan memiliki banyak lekukan sehingga mampu menahan air, humus, dan kelembapan dari lingkungan sekitar. Kondisi tersebut mempermudah organisme epifit, termasuk *lichen*, untuk melekat dan tumbuh dengan baik pada batang pohon (Rahayu dan Roziaty, 2018), serta memproduksi beragam metabolit sekunder yang memiliki aktivitas biologis yang bermanfaat bagi makhluk hidup, di antaranya *baeomycesic acid* (sebagai *inhibitor 5-lipoxygenase*), *lecanoric acid* (sebagai antioksidan), *lobaric acid* (sebagai antitumor, antiproliferasi, antiinflamasi, dan antioksidan), asam vulpinat (sebagai antijamur, antikanker, dan antioksidan). serta yang paling penting adalah *salazinic acid*, *squamatic acid*, dan *thamnolic acid*, yang berfungsi sebagai antibakteri. Begitupun dengan *usnic acid* yang berfungsi sekaligus sebagai antikanker dan juga antibakteri (Paguirigan dkk., 2022).

Aktivitas antimikroba telah banyak dilaporkan pada *lichen* yang menghasilkan senyawa bioaktif, seperti atranorin, asam salazinat, asam lekanorat,

dan asam usnat, yang memiliki sifat antibakteri terhadap berbagai mikroorganisme yang berpengaruh terhadap kesehatan manusia. Pada penelitian yang dilakukan oleh Condo dkk., (2023) ekstrak etanol *lichen* juga dilaporkan efektif terhadap bakteri patogen gram-positif maupun gram-negatif, bahkan senyawa aktif *lichen* terbukti mampu menghambat pertumbuhan bakteri resisten antibiotik seperti *S. aureus* (Condo dkk., 2023).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Karyawati dkk., (2023) menunjukkan bahwa ekstrak *lichen Usnea barbata* mampu menghambat pertumbuhan *Salmonella typhimurium*, yang dibuktikan dengan terbentuknya zona hambat pada semua konsentrasi ekstrak. Aktivitas antibakteri yang dihasilkan termasuk kategori sedang, dan besarnya zona hambat cenderung meningkat seiring peningkatan konsentrasi. Hal ini menguatkan bahwa *lichen*, khususnya *Usnea barbata*, memiliki potensi sebagai sumber senyawa antibakteri alami meskipun efektivitasnya masih perlu ditingkatkan melalui penggunaan konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi (Karyawati dkk., 2023).

Di Indonesia, diperkirakan terdapat sekitar 17.000 jenis *lichen* (Widodo dkk., 2023). Pada penelitian ini, *lichen* yang diambil dari pohon pinus di kawasan Hutan Pinus Malino menyimpan potensi keberagaman hayati yang sangat tinggi, yang dapat menghasilkan berbagai metabolit sekunder dengan aktivitas biologis penting. Keanekaragaman tersebut membuka peluang untuk mengeksplorasi potensi berbagai jenis *lichen*, salah satunya jenis *lichen* yang tumbuh di kawasan Hutan Pinus Malino sebagai sumber senyawa antibakteri alami, khususnya dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli* yang merupakan bakteri patogen penyebab infeksi pada manusia. Hal ini diharapkan dapat berdampak positif bagi bidang kesehatan, keilmuan, maupun perekonomian masyarakat.

Berdasarkan uraian yang telah disebutkan, perlu dilakukan penelitian terhadap aktivitas antibakteri *lichen* yang tumbuh pada batang pohon pinus di kawasan Hutan Pinus Malino untuk mengetahui kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli*.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak *lichen* yang diperoleh dari pohon pinus di kawasan Hutan Pinus Malino mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*?

I.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui apakah ekstrak *lichen* yang diperoleh dari pohon pinus di kawasan Hutan Pinus Malino memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli*.

BAB II

METODE PENELITIAN

II.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah autoklaf, ayakan no. 4 dan no. 16, *blender*, cawan petri, cawan porselen, corong 75 mm, Erlenmeyer 250 mL, gelas beaker 100 mL, gelas beaker 250 mL, gelas ukur 10 mL, gelas ukur 100 mL, *hotplate*, mikropipet 20-200 μ L, oven, *rotary vacuum evaporator*, timbangan digital.

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah *aquadest*, *blank paper disc* 6 mm, *cotton swab*, etanol 70%, etanol 96%, *handscoon*, kloramfenikol (100 mg/mL), kultur bakteri murni *S. aureus* ATCC-6538P PK/5 dan *E. coli* ATCC-25922, *lichen*, media *nutrient agar*, natrium klorida 0,9%, *silica gel*, dan *ziplock*.

II.2 Metode Penelitian

II.2.1 Pengambilan dan penyiapan sampel *lichen*

Sampel *lichen* diambil pada permukaan batang pohon pinus di kawasan Hutan Pinus Malino yang masih sehat, berwarna hijau, lalu dimasukkan ke dalam plastik sampel *ziplock* dan diberikan *silica gel* (Silvana dan Asri, 2022).

II.2.2 Identifikasi sampel *lichen*

Identifikasi dilakukan dengan menggunakan pendekatan kualitatif deskriptif dengan teknik pengumpulan data berupa studi literatur, dokumentasi, ataupun eksplorasi lapangan. Sampel dikumpulkan di area yang telah ditentukan, yakni Hutan Pinus Malino, lalu dilakukan determinasi tanaman oleh pihak ketiga yakni Laboratorium Biologi Universitas Negeri Makassar, dengan mengamati ciri morfologi dari sampel *lichen* tersebut (Ulfa dkk., 2023).

II.2.3 Ekstraksi *lichen* (maserasi)

Sampel yang telah diidentifikasi selanjutnya akan diekstraksi dengan metode maserasi. Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan 100 g talus *lichen* yang terlebih dahulu disortasi, kemudian dikeringkan dalam oven, dan dihaluskan hingga menjadi serbuk. Serbuk kemudian diayak menggunakan ayakan no. 4 dan no. 16, lalu direndam dalam pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:10, tepatnya sebanyak 1000 mL, selama 5 hari. Setelah dilakukan proses penyaringan, serbuk yang telah melewati proses dapat direndam kembali menggunakan pelarut yang sama dengan jumlah yang sama (remaserasi). Filtrat yang diperoleh kemudian dipisahkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 60°C hingga diperoleh ekstrak kental *lichen* (Silvana dan Asri, 2022).

II.2.4 Penyiapan alat

Alat-alat yang akan digunakan dicuci hingga bersih lalu disterilkan. Alat-alat gelas yang tidak berskala dan alat lain yang tahan terhadap pemanasan disterilkan menggunakan oven pada suhu 160°C selama 2 jam, sedangkan alat-alat gelas yang berskala disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Yusri dkk., 2023).

II.2.5 Penyiapan media

Media *Nutrient Agar* (NA) dibuat dengan menimbang sebanyak 7 gram serbuk NA, kemudian dilarutkan dengan 250 mL *aquadest* ke dalam labu Erlenmeyer kemudian dipanaskan hingga larut sempurna selama ± 40 menit. Setelah larut, media disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Hainil dkk., 2022).

II.2.6 Penyiapan suspensi bakteri uji

Penyiapan suspensi biakan bakteri uji dilakukan dengan cara meremajakan biakan murni bakteri uji dalam media NA, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Setelah proses peremajaan, sebanyak 1 ose diambil dan diencerkan menggunakan NaCl 0,9% hingga tingkat kekeruhannya setara dengan standar Mc. Farland 0,5 (Rizki dkk., 2021).

II.2.7 Penyiapan larutan uji

Sampel uji dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu kontrol positif kloramfenikol (100 mg/mL), kontrol negatif *aquadest* steril, serta perlakuan dengan ekstrak *lichen* pada konsentrasi 1% (10 mg/mL), 2,5% (25 mg/mL), 5% (50 mg/mL) dan 10% (100 mg/mL). Kontrol positif kloramfenikol disiapkan dengan melarutkan 100 mg kloramfenikol ke dalam 1 mL etanol 96%. Adapun ekstrak *lichen* masing-masing dibuat sebanyak 10 mL dengan cara dilarutkan ke dalam pelarut etanol 96%, sehingga diperoleh ekstrak dengan masing-masing konsentrasi 1% (0,1 gram/10 mL), 2,5% (0,25 gram/10 mL), 5% (0,5 gram/10 mL), dan 10% (1 gram/10 mL).

II.2.8 Uji aktivitas antibakteri ekstrak *lichen* dari pohon pinus

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak *lichen* dari pohon pinus dilakukan dengan metode difusi, dengan menggunakan *paper disc* berdiameter 6 mm. Setelah dilakukan pembuatan dan sterilisasi media *Nutrient Agar* (NA), dilakukan persiapan suspensi bakteri uji, larutan ekstrak, serta kontrol yang telah dipreparasi sebelumnya. Setiap perlakuan dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Biakan uji dalam larutan suspensi yang telah dipreparasi digoreskan menggunakan *cotton swab* pada media uji yang telah dipadatkan dengan metode goresan bertumpuk. Masing-

masing konsentrasi ekstrak dan kontrol diteteskan sebanyak 20 μL pada *paper disc*, lalu didiamkan selama 5 menit hingga kering dan ditempelkan pada permukaan media. Seluruh perlakuan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Parameter yang diamati berupa zona hambat, yaitu area di sekitar *paper disc* yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri sebagai indikator daya hambat ekstrak terhadap *S. aureus* dan *E. coli* (Silviana dan Asri, 2022).

II.2.9 Analisis data

Hasil uji yang diperoleh akan dianalisis lebih lanjut menggunakan *software* Microsoft Excel® untuk dilakukan penarikan kesimpulan.