

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Telaah Pustaka

##### 1. Herba Lampasau

Paku sayuran atau *Diplazium esculentum swartz*, juga dikenal sebagai lampasau oleh penduduk lokal Kalimantan Tengah, Tumbuhan paku (Pteridophyta) adalah spesies dari genus Diplazium dan famili Polypodiaceae. Tanaman Lampasau telah dimanfaatkan secara empiris oleh penduduk setempat sebagai obat pereda nyeri. Pteridophyta, sering dikenal sebagai filidophyta, termasuk 20.000 atau lebih spesies tanaman yang umumnya dikenal sebagai pakis. (Mehltreter, klaus, 2010).

##### a. Klasifikasi Herba Lampasau (*Diplazium esculentum swartz*)



**Gambar 2. 1. *Diplazium esculentum swartz***

(Mehltreter, klaus, 2010)

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Divisio	: Pteridophyta
Kelas	: Filicinae
Bangsa	: Polypodiales
Familia	: <i>Polypodiaceae</i>
Genus	: <i>Diplazium</i>
Spesies	: <i>Diplazium esculentum swartz</i>

(Boughton, elizabeth, 2005)

b. Kandungan Kimia

Steroid, triterpenoid, fenol, flavon, dan flavonoid hanyalah beberapa bahan kimia yang ditemukan dalam *Diplazium esculentum swartz*, seperti dicatat oleh Kaushik et al. (2011). Dengan dosis 500mg/kg BB, bagian n-butanol dari ekstrak metanol herba lampasau menunjukkan kemanjuran analgesik, seperti dilansir Irianti (2011). Senyawa seperti flavonoid, alkaloid, tanin, terpenoid, dan saponin ditemukan dalam fraksi n-butanol. (Asih dan Setiawan, 2008; Dewi, 2009; Damayanti, 1986.) (Puspita 1988).

Sebagai inhibitor biofilm, flavonoid mungkin berguna. Penghambatan pembentukan biofilm oleh flavonoid dan tanin terjadi melalui penekanan molekul adhesi antar sel IcaA dan IcaD. ICA akan memfasilitasi pengembangan PIA (*Polysaccharide Intercellular Adhesion*), langkah penting dalam proses pembentukan biofilm. Pembuatan komponen biofilm terganggu jika adhesi antar sel tersumbat, karena ini mencegah produksi PIA (*Polysaccharide Intercellular Adhesion*). (Aviantina, 2019).

c. Manfaat Herba Lampasau (*Diplazium esculentum swartz*)

Penelitian sebelumnya oleh Saputri & Putri (2017) menunjukkan bahwa konsentrasi 20% ekstrak etanol dari lampasau herba menunjukkan efek penyembuhan pada luka sayatan. Tanaman lampasau mengandung senyawa yang diduga memberikan efek penyembuhan ini, antara lain flavonoid dengan sifat antibakteri, saponin dengan sifat antiseptik, dan tanin dengan sifat astringen.

## 2. Salep

a. Definisi

Produk semi-padat yang dirancang untuk aplikasi topikal pada kulit atau selaput lendir disebut salep. Salep memiliki berbagai aplikasi obat, kosmetik, dan terapeutik karena

perannya sebagai pembawa bahan aktif. Basa hidrokarbon, basa serapan (*absorption base*), *water-washable base*, dan *water-soluble base* adalah empat kategori yang membentuk basis salep (Allen dkk., 2011).

Kemanjuran terapeutik salep dipengaruhi oleh basis salep, sehingga memilih basa yang tepat sangat penting. Basis salep yang berbeda diperlukan untuk salep yang ditujukan untuk epidermis, mukosa, salep penetrasi, atau bentuk krim. Pembawa sediaan semisolid dipilih berdasarkan kelarutan dan stabilitas obat di dalam pangkalan, serta jenis luka kulit yang sedang dirawat (Zulfa et al, 2018).

Bahan aktifnya larut dalam air, alih-alih menggunakan minyak, gel digunakan sebagai dasar untuk salep ini. Salep yang larut dalam air memiliki beberapa contoh standar, seperti salep polietilen glikol (PEG) dan campuran PEG (Ansel, 2008). Produk yang terbuat dari campuran polietilen glikol dengan berat molekul tinggi dan rendah akan memiliki viskositas salep dan akan melunak atau meleleh saat dioleskan ke kulit (Joenoos,2003).

b. Evaluasi sediaan salep

Beberapa tes yang digunakan untuk mengevaluasi formulasi salep adalah: pengamatan organoleptik; uji homogenitas; Tes PH; pengukuran daya salep; pengukuran viskositas; penentuan properti aliran; dan uji stabilitas (Hasrawati et al, 2019). Memeriksa kekuatan penyebaran salep dilakukan untuk melihat seberapa baik persiapan menyebar pada kulit; daya sebaran yang tinggi menunjukkan basis salep berkualitas tinggi, yang penting untuk pengiriman bahan aktif yang efektif (Naibaho et al, 2013). Agar formulasi topikal menjadi efektif, diperlukan kisaran dispersi 5-7 cm (Ulaen et al, 2012). Ada juga tes adhesi untuk menentukan seberapa baik salep tetap menyala. Kepatuhan terhadap

perawatan topikal membutuhkan minimal empat detik (Ulaen et al, 2012)

### 3. *Staphylococcus aureus*

#### a. Taksonomi

Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut Rosenbach (ITIS, 2012). :

Kindom : Eubacteria

Filum : Firmicutes

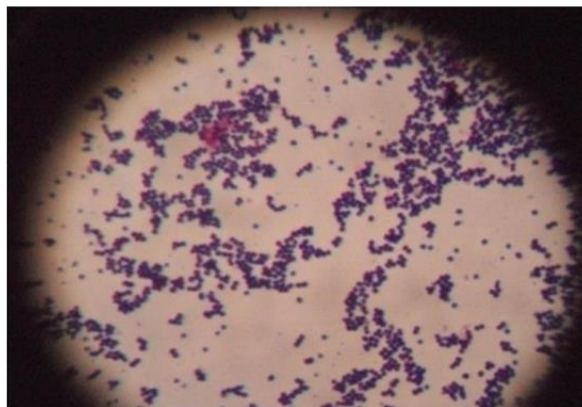
Classis : Bacilli

Ordo : Bacillales

Family : *Staphylococcaceae*

Genus : *Staphylococcus*

Species : *Staphylococcus aureus* Rosenbach (ITIS, 2012).



**Gambar 2. 2. *Staphylococcus aureus* (Toelle dan Lenda., 2014)**

#### b. Morfologi

Impetigo, paronychia, abses, selulitis, dan infeksi dan gangguan kulit lainnya adalah beberapa dari banyak yang menjadi tanggung jawab bakteri *S. aureus*, seperti yang dinyatakan oleh Locke et al (2012). Ini dapat menyebabkan pneumonia di paru-paru, menginfeksi endokardium di jantung, dan menyebabkan osteomielitis dan artritis septik pada tulang dan sendi. Karena luka dan memar yang diderita selama

operasi dan penggunaan peralatan medis, *S. aureus* adalah sumber utama infeksi nosokomial (Radji, 2011).

*S. aureus* adalah penyebab berbagai bentuk infeksi dan sindrom pada manusia, termasuk infeksi kulit dan jaringan lunak. Dipercayai bahwa 50% hingga 60% individu terpapar *S. aureus* untuk sementara atau permanen oleh karena itu, ada kemungkinan infeksi yang cukup tinggi. *S. aureus* adalah salah satu dari 12 penyebab infeksi bakteri yang paling menonjol di Amerika Serikat dan negara-negara industri lainnya. (Kobayashi, dkk., 2015) Salah satunya adalah Ulkus Kaki Diabetikum. Spesies yang paling umum ditemukan pada Ulkus Kaki Diabetik adalah *S. aureus*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Enterococcus faecalis* (Dana & Bauman, 2015).

c. Hubungan *S. aureus* Terhadap Biofilm penyebab Foot Ulkus Diabetikum

Menurut penelitian (Foreman et al., 2011), *S. aureus* adalah mikroorganisme pembentuk biofilm terkemuka. Produksi eksotoksin dapat terus berjalan sementara organisme memantapkan diri dalam biofilm, di mana mereka aman dari serangan oleh pertahanan inang. Juga, pergeseran dari fenotip bakteri planktonik ke biofilm menghasilkan peningkatan produksi racun *S. aureus*. *S. aureus* memiliki berbagai fitur biologis yang menjadikannya patogen yang kuat, seperti kemampuan untuk mengganggu membran epitel dan inaktivasi peptida antimikroba (J Shaun et al, 2010).

Telah dikatakan bahwa ulkus kaki diabetik mudah terinfeksi oleh bakteri dan kuman lainnya (Sinaga dan Tarigan, 2012). Ulkus kaki diabetik adalah rumah bagi mikroorganisme yang menghasilkan biofilm, yang dapat memperlambat proses penyembuhan. Sangat penting untuk menjelaskan pentingnya mengidentifikasi jenis mikroorganisme pembentuk biofilm dan

keterlibatannya dalam menghalangi fisiologi proses penyembuhan. Bakteri *S. aureus* adalah jenis bakteri biofilm umum yang dapat menyebabkan infeksi pada luka diabetes. Biofilm dapat diidentifikasi baik secara manual maupun dengan pemindaian mikroskop elektron (SEM) (Pugazhendhi dan Dorairaj, 2018). Karena biofilm dapat melawan banyak obat yang berbeda dan respons imun tubuh inang, kehadiran mereka dalam luka secara langsung menghambat penyembuhan mereka. (Bianchi et al., 2016; Malone and Swanson, 2017). Biofilm mengikat eksudat luka dan terbentuk di dasar luka, akhirnya menembus struktur yang lebih dalam di jaringan (Malone dan Swanson, 2017). Faktor risiko terkait biofilm yang perlu diidentifikasi antara lain kontrol glikemik yang buruk (HbA1c >8%), derajat cedera, ukuran luka (4 cm), durasi luka (>3 bulan), lama diabetes (10-19 tahun), paparan antibiotik, kekambuhan dalam 6 bulan, riwayat amputasi, riwayat rawat inap DFI dalam 3 bulan terakhir, dan riwayat resistensi multidrug (Bjarnsholt, 2013).

Ada banyak bukti yang menghubungkan biofilm dengan patofisiologi penekanan penyembuhan luka (Bianchi et al., 2016). Menurut Snow, biofilm dalam arteri menyebabkan peradangan persisten (Snow et al., 2016). Di hadapan toleransi antibiotik dan biosida dan penekanan kekebalan inang, seperti halnya dengan biofilm, yang bertanggung jawab untuk menghasilkan penyakit yang tidak biasa (infeksi kronis), ini layak (IWWI, 2016)

#### **4. Antibakteri**

##### **a. Definisi**

Antibakteri adalah bahan kimia yang dapat membunuh bakteri atau mencegahnya berkembang biak dengan mengganggu proses metabolisme mereka. Agar efektif sebagai antibakteri, agen harus dapat secara selektif

menargetkan dan menghancurkan bakteri penyebab penyakit tanpa membahayakan pasien. Ada sejumlah variabel, termasuk pH, suhu stabilitas senyawa, konsentrasi bahan, dan waktu inkubasi, yang mempengaruhi kapasitas zat antibakteri untuk membunuh kuman (Jawetz, 2005).

Bahan antibakteri adalah bahan yang mencegah pertumbuhan bakteri lebih lanjut atau langsung membunuh bakteri. Beberapa mikroorganisme patogen dan penghancur makanan diketahui terhambat oleh senyawa aktif yang ditemukan dalam berbagai ekstrak tumbuhan (Kapitan, 2017). Khasiat agen antibakteri meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasinya (Rahmawati dan Bintari, 2014). Menurut Pandiangan (2008), peningkatan konsentrasi bahan kimia antibakteri akan mengakibatkan kematian bakteri yang lebih cepat.

b. Uji Aktivitas Antibakteri

Kerentanan bakteri terhadap bahan kimia antibakteri dapat diukur dengan uji aktivitas, dan senyawa murni dengan aktivitas antibakteri dapat diisolasi melalui proses ini.

Pengujian kerentanan antimikroba dilakukan dengan menggunakan metode difusi. Kertas disk digunakan dalam proses ini. Zat uji ditempatkan pada kertas cakram dan kemudian ditempatkan ke dalam media agar yang diinokulasi bakteri. Area media yang bebas dari pertumbuhan mikroba, menunjukkan adanya agen antimikroba. Metode difusi ini memiliki manfaat karena mudah diterapkan (tidak memerlukan peralatan unik) dan menawarkan lebih banyak kelonggaran dalam hal obat mana yang dapat diuji (Katrin et al., 2015).

Metode difusi memiliki prinsip mengukur potensi antibakteri dengan mengamati diameter didaerah hambatan bakteri yang disebabkan adanya perpindahan zat antibakteri dari letak awal pemberian ke letak difusi. Metode ini dapat

menggunakan kertas cakram atau lubang sumuran pada media yang telah diinkubasi

## 5. Biofilm

### a. Definisi

Bakteri, jamur, ganggang, dan protozoa semuanya dapat membentuk biofilm, yang merupakan komunitas mikroorganisme yang hidup bersama dalam matriks pelindung polimer ekstraseluler yang dibuat oleh mikroba itu sendiri. Biofilm dapat melindungi bakteri dari tekanan lingkungan seperti kekeringan, bakteriofag, amuba, dan biosida industri. Selain itu, sel biofilm biasanya lebih resisten terhadap antibiotik daripada sel planktonik.

Beberapa biofilm bahkan dapat tumbuh pada kateter urin dan peralatan medis lainnya. Akibatnya, biofilm menjadi masalah kesehatan yang serius (Abidah, 2020). Biofilm terbentuk ketika molekul anorganik dan organik menyerap satu sama lain di saluran akar, menyebabkan koloni menetap di sana (Hamzah,H, 2020).

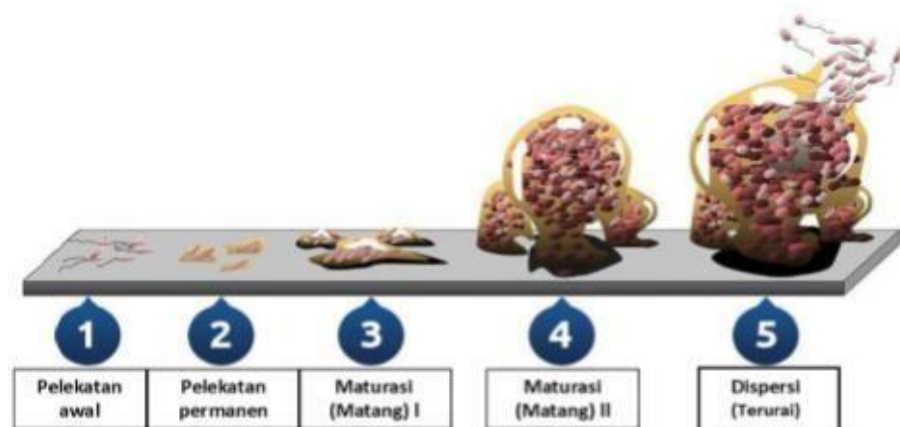
### b. Mekanisme

Biofilm mampu terbentuk pada substrat abiotik dan biotik. Bahan seperti kaca, plastik, stainless steel, dan implan medis adalah contoh permukaan abiotik. Sel epitel, kulit manusia, dan jaringan hewan adalah contoh permukaan biotik (Abidah, 2020).

Ada lima fase berbeda untuk pengembangan biofilm, dimulai dengan adhesi awal bakteri ke permukaan, yang dapat dimediasi oleh protein (rambut halus sel). Bakteri menggunakan EPS sebagai metode perlekatan permanen (Extracelullar Polymeric Substance). Definisi Pematangan I - Tahap pertama dalam proses biofilm mencapai kematangan penuh.



Pada tahap ini, yang dikenal sebagai Pematangan II, biofilm sepenuhnya berkembang dan bakteri siap untuk menyerang daerah baru. Beberapa bakteri akan menjajah lingkungan baru dan menyebar. Lingkungan yang penuh tekanan atau tidak menyenangkan dapat mendorong pengembangan biofilm (Monroe, 2007).



**Gambar 2. 3. Proses Pembentukan Biofilm (Monroe, 2007).**

c. Uji Pembentukan Biofilm

1) Metode Tabung

Biofilm dapat dideteksi secara kualitatif menggunakan metode tabung dengan melihat garis biofilm yang dihasilkan di dasar dan dinding tabung. Ketika garis-garis muncul di bagian dalam tabung dan di bagian bawahnya, itu berarti biofilm positif telah terbentuk. 1 menunjukkan biofilm minimal atau tidak ada, 2 menunjukkan biofilm moderat, dan 3 menunjukkan biofilm yang kuat (Abidah, 2020).

2) Metode *Congo Red Agar*

Perubahan warna pada koloni bakteri merupakan salah satu cara metode *Congo Red Agar* (CRA) dapat digunakan untuk deteksi biofilm kualitatif. Komponen media CRA adalah sebagai berikut: kaldu infus jantung otak (37 g/L), sukrosa (50 g/L), agar (nomor 1) (10 g/L), dan indikator *Congo Red* (pada 8 g/L). Pelat CRA disuntik

dengan bakteri, dan kemudian diinkubasi pada suhu 37 derajat Celcius selama 24 jam di lingkungan aerobik. Koloni yang membentuk biofilm dicirikan oleh rona gelap dan konsistensi kristal yang kering. Biofilm merah muda atau merah tidak diproduksi oleh koloni, yang bukan produsen biofilm (Abidah, 2020).

### 3) Metode *Microtiter Plate* (MtP)

Salah satu cara yang paling dapat diandalkan untuk menemukan biofilm adalah dengan pendekatan kuantitatif, dan itulah yang Anda dapatkan dengan metode pelat mikrotiter. Pembaca pelat mikro digunakan untuk mengukur biofilm (microELISA). Skrining agen antibiofilm terhadap biofilm bakteri dapat dilakukan dengan menggunakan metode ini. Pengontrol yang mengandung media diperlakukan sebagai perangkat kosong. Keberadaan biofilm dapat ditentukan dengan mengukur nilai kosong OD dari isolat. Isolat dianggap sebagai bakteri pembentuk biofilm jika nilai OD-nya lebih besar daripada yang kosong (Abidah, 2020).

## 6. ***Diabetic Foot Ulcer***

### a. Definisi

Salah satu efek jangka panjang diabetes melitus yang paling ditakuti adalah ulkus kaki diabetik (DFU). Selain masalah makrovaskular dan mikrovaskular, keberadaan neuropati sensorik, motorik, dan otonom adalah diagnostik ulkus kaki diabetik (DFU). Komplikasi seperti bisul, infeksi, gangren, amputasi, dan kematian hampir selalu memerlukan perawatan medis yang luas dan investasi keuangan yang tinggi (Simerjit et al, 2013).

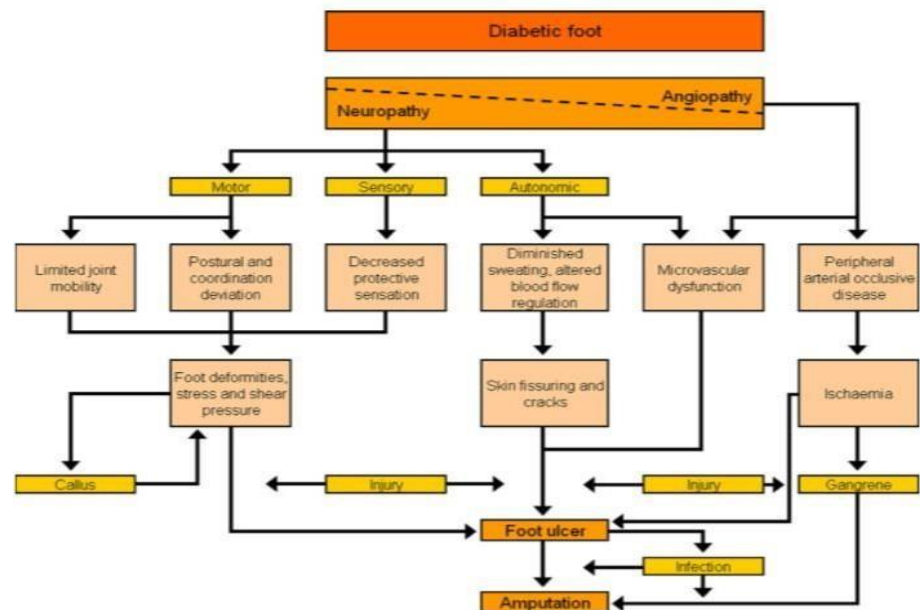


**Gambar 2. 4. Diabetic Foot Ulcer**

(Sumber : <http://news.unair.ac.id/2021/06/18/saludi-salep-luka-diabetes-kombinasi-ekstrak-rumput-laut-dan-ekstrak-kulit-buah-manggis/>)

b. Patogenesis

Penurunan pergerakan tendon Achilles menyebabkan deformitas *equines*. Terdapat bukti yang sangat kuat bahwa tekanan kaki yang tinggi berhubungan dengan ulserasi pada pasien diabetes

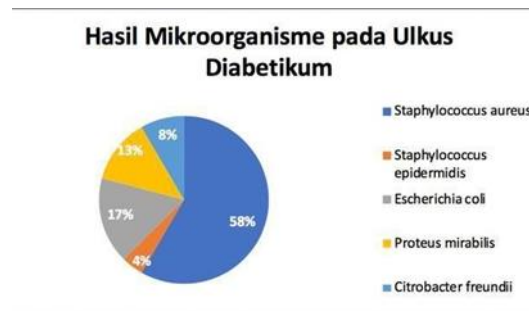


**Gambar 2. 5. Patogenesis Diabetic Foot Ulcer.(Sumber: Lepantalo (2011))**

c. Hubungan *Diabetic Foot Ulcer* terhadap *S. aureus*

Dalam penelitian yang dilakukan di RSUD Dr. H. Abdul Moeloek di Bandar Lampung, *Staphylococcus aureus* (58%), *Staphylococcus epidermidis* (4%), *Citrobacter freundii* (8%),

Escherichia (17%), dan Proteus mirabilis (13%) diisolasi dari isolat swab pasien dengan ulkus diabetes.



**Gambar 2. 6. Hasil Mikroorganisme pada Ulkus Diabetikum (Haula et al, 2018)**

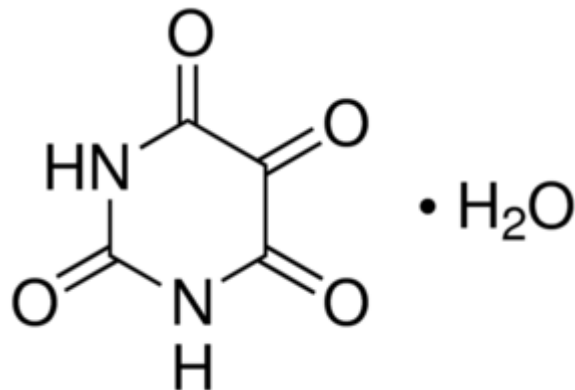
Dalam bakteri gram positif, Staphylococcus aureus adalah yang paling umum, terhitung 58 persen dari semua isolat (14 dari total 24). Dalam hasil kultur ulkus diabetik, Staphylococcus aureus adalah bakteri yang paling umum, menurut International Working Group on the Diabetic Foot (2015). (Lipsky dkk, 2015). Beberapa faktor virulensi, termasuk racun, menjelaskan kapasitas Staphylococcus aureus untuk menginduksi ulkus diabetes. Racun termasuk racun pembentuk pori (PFTs), eksfoliatin, eksotoksin superantigen (SAGs), dan inhibitor diferensiasi sel epidermis (EDIs) semuanya dalam kategori ini (EDIN) (EDIN) (Remy Dunyach *et al*, 2016)

## 7. Aloksan

Ada sejumlah zat yang dapat digunakan untuk menginduksi diabetes secara artifisial, dan aloksan adalah salah satunya. Secara kimiawi, Aloksan terdiri dari 2,4,5,6- tetraoxypyrimidine, 1,3-Diazianin 2,4,5,6-tetron (IUPAC), dan Mesoxalylurea acid 5 - oxobarbitirat. Aloxane, turunan urea, secara istimewa membahayakan sel-sel pulau beta pankreas pada hewan seperti kelinci, tikus, tikus, dan anjing (Skudelzki, 2001).

Hidrofilik dan secara kimiawi tidak stabil, aloksan adalah bahan kimia yang tidak menarik. Pada 37 °C dan pH netral, waktu

paro adalah 1,5 menit, meskipun bisa jauh lebih lama pada suhu yang lebih rendah. Alloxane, diabetogenik, dapat diberikan secara intravena, intraperitoneal, atau subkutan. Umumnya, dosis intravena BB 65 mg/kg diberikan, sedangkan dosis intraperitoneal dan subkutan dua hingga tiga kali lebih tinggi (Szkudelski, 2001).



**Gambar 2. 7. Struktur aloksan monohydrate**

Sumber: [www.abcam.com/ps/datasheet/images/143/ab143569/Alloxan-monohydrate-ab143569-ChemicalStructure-3.jpg](http://www.abcam.com/ps/datasheet/images/143/ab143569/Alloxan-monohydrate-ab143569-ChemicalStructure-3.jpg)

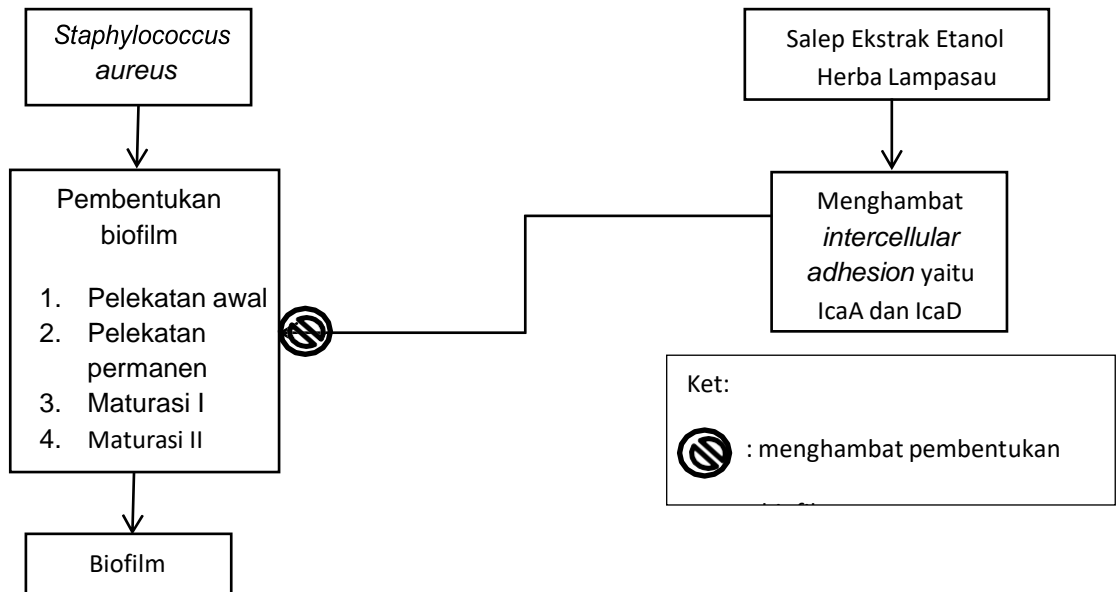
Diabetes eksperimental (hiperglikemik) dapat diinduksi dengan cepat pada hewan dengan pemberian aloksan. Injeksi aloksan intravena, intraperitoneal, atau subkutan adalah semua yang Anda butuhkan untuk mendapatkan obat ke tempat yang harus dituju. Seperti halnya diabetes tipe 1 pada orang, aloksan dapat menginduksi diabetes mellitus yang bergantung pada insulin pada hewan (*diabetes alloxane*). Toksik, alloxane terakumulasi secara selektif melalui transporter glukosa, GLUT2, dalam sel beta pankreas penghasil insulin (Suharmiati, 2009).

Aloksan larut dalam air; larutan kuningnya dalam air panas berubah menjadi tidak berwarna saat mendingin, dan larutan berair merahnya mengubah kulit menjadi merah setelah kontak kulit yang berkepanjangan (Suharmiati, 2009).

Struktur aloksan mirip dengan glukosa. Alloxane menginduksi respons GLUT 2 dalam sel beta pankreas tikus, yang menerjemahkannya menjadi glukosa dan mengangkutnya ke dalam sitosol. Ini menghasilkan proses redoks yang melibatkan

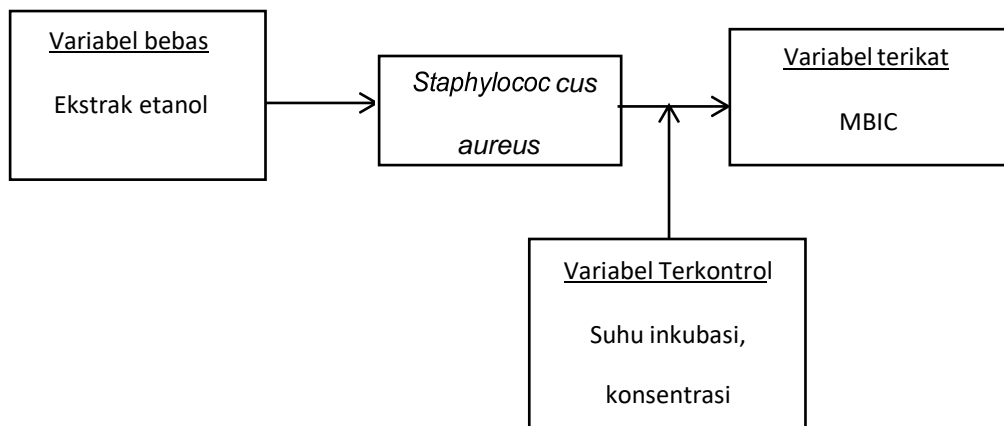
alloxane, yang menghasilkan spesies oksigen reaktif dan superoksida (Lenzen, 2008).

## B. Kerangka Teori Penelitian



Gambar 2. 8. Kerangka Teori Penelitian

## C. Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 2. 9. Kerangka Konsep Penelitian

## D. Hipotesis

Ekstrak etanol Herba Lampasau memiliki aktivitas penghambatan biofilm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dalam luka ulkus diabetikum.