

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Demam tifoid, penyakit umum di negara-negara yang tergolong memiliki *higiene* sanitasi buruk, kejadian demam tifoid yang disebabkan oleh *Salmonella typhi* di angka 76,3% di dunia (GBD, 2019). Penularannya melalui jalur fekal-oral, konsumsi makanan yang terkontaminasi, kontak langsung dengan individu yang terinfeksi, maupun kontak dengan individu yang pernah terinfeksi sebelumnya (Alba *et al.*, 2016). Gejala demam tifoid yang disebabkan bakteri *Salmonella typhi* yang ditandai dengan *malaise*, demam berkepanjangan, rasa tidak nyaman di area *gastrointestinal*, dan jika ditingkat akut bisa menyebabkan *perforasiintestinal*. Di negara maju seperti Amerika Serikat dan Eropa Barat, demam tifoid hampir tidak ada lagi setelah pengenalan filtrasi dan klorinasi pasokan air. Berbanding terbalik dengan negara-negara berkembang, di mana kurangnya infrastruktur air bersih dan terbatasnya pengolahan sanitasi yang semakin diperparah dengan urbanisasi penduduk (Pitzer *et al.*, 2019). Identifikasi demam tifoid dilakukan menggunakan metode uji *blood-culture*, tes ini memerlukan biaya yang mahal, sensitivitasnya terbatas, dan lambat, dengan hasil yang memerlukan waktu 3 – 5 hari (Aiemjoy *et al.*, 2020).

Laporan kejadian demam tifoid global setiap tahun, sekitar 11-20 juta kasus terjadi di seluruh dunia, sekitar 128.000-161.000 kematian (WHO, 2018). Menurut World Health Organization (WHO) tahun 2019, rata-rata terdapat

900.000 kasus per tahun, dengan lebih dari 200.000 kematian. Data dari Dinas Kesehatan Jawa Timur juga mengungkapkan fakta yang mencengangkan. Pada tahun 2017, terdapat 88.379 penderita demam tifoid di daerah tersebut. Angka itu meningkat drastis menjadi 99.906 penderita pada tahun 2018, dan mencapai 163.235 penderita pada tahun 2019 (Dinkes Jatim, 2020). Angka penderita demam tifoid di Indonesia memang cukup mengkhawatirkan. Menurut Profil Kesehatan Indonesia tahun 2018, setidaknya ada 41.081 kasus penderita demam tifoid dan paratifoid yang harus dirawat inap di rumah sakit. Angka yang cukup mencengangkan adalah terdapat 279 penderita yang meninggal dunia akibat penyakit ini (Kemenkes RI, 2018). Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) juga memberikan gambaran yang menarik. Prevalensi demam tifoid di Indonesia mencapai 1,7%, dengan distribusi tertinggi pada usia 5-14 tahun, diikuti oleh usia 1-4 tahun, usia 15-24 tahun, dan usia kurang dari 1 tahun (Riskesdas, 2018). Hal ini menunjukkan bahwa anak-anak dan remaja merupakan populasi yang paling rentan terhadap demam tifoid di Indonesia.

Salmonella typhi adalah bakteri berbentuk batang dan termasuk bakteri gram negatif yang dilengkapi dengan flagela. Seluruh permukaan bakteri ini ditutupi oleh kapsul yang berperan dalam virulensi dan menghindari fagositosis di dalam tubuh inang, sehingga membantu dalam menyebabkan infeksi. Bakteri ini masuk melalui saluran pencernaan dan menyebar ke berbagai organ tubuh, termasuk hati, limpa, dan kelenjar getah bening (Khan & Shamim, 2022).

SPI-1 type III secretion system (T3SS-1) digunakan bakteri *Salmonella typhi* menembus lapisan epitel usus kecil, terutama melalui sel *mikrofold* (M)

pada *Peyer's patcher*. Bakteri ini kemudian menyerang sel M sehingga merusak penghalang usus dan mengganggu hubungan antara sel epitel usus, sehingga meningkatkan permeabilitas usus (Rathinam *et al.*, 2019). Masuk ke dalam saluran usus, *Salmonella typhi* diidentifikasi oleh sel dendritik dan makrofag melalui reseptor pengenalan pola *toll-like receptors* (TLRs) dan *NOD-like receptors* NLRs yang mendeteksi *pathogen associated molecular patterns* (PAMPs) seperti lipopolisakarida (Rathinam *et al.*, 2019). Kemampuan beradaptasi di dalam tubuh dengan memodifikasi lipopolisakarida, sehingga dapat menghindari pengenalan di reseptor TLR4 dan menyebabkan kerusakan DNA yang dapat menekan respons inflamasi usus, sehingga berpotensi meningkatkan frekuensi pembawa penyakit kronis tanpa gejala (Del Bel Belluz *et al.*, 2016).

Pembentukan biofilm merupakan hasil interaksi antara mikroorganisme yang terjadi melalui mekanisme *quorum sensing* (QS). Pada bakteri Gram negatif, *quorum sensing* melibatkan produksi dan deteksi sinyal AHL (*Acyl Homoserine Lactones*). Sinyal AHL yang dihasilkan oleh bakteri ini berperan penting dalam membentuk biofilm (Jahan *et al.*, 2022). Ketika bakteri Gram negatif melekat pada permukaan yang sesuai, mereka mulai menghasilkan sinyal AHL. Sinyal ini akan berdifusi ke sekitar lingkungan sekitarnya dan dapat dideteksi oleh bakteri lain dalam populasi yang sama. Setelah mencapai ambang batas tertentu, sinyal AHL akan mengaktifkan ekspresi gen spesifik dalam bakteri tersebut. Aktivasi gen-gen ini akan memicu produksi dan sekresi *extracellular polymeric substance* (EPS) oleh bakteri Gram negatif. EPS

berperan sebagai matriks pelindung yang kokoh, yang membantu mengikat bakteri pada permukaan dan membentuk biofilm. EPS juga memberikan kestabilan struktural pada biofilm dan melindungi bakteri di dalamnya dari faktor lingkungan yang tidak menguntungkan (Kadhon *et al.*, 2022). Jenis *autoinducers* Biofilm yang terbentuk oleh *Salmonella typhi* adalah AI-2 (*autoinducers-2*). AI-2 disintesis oleh enzim *LuxS* (*LuxS Autoinducer Synthase*) dan terakumulasi di ekstraseluler. Kemudian, AI-2 diinternalisasi oleh transporter tipe *Lsr ABC* dan difosforilasi oleh enzim *LsrK kinase*. berperan dalam pengaturan aktivitas genetik pada kepadatan populasi tinggi melalui mekanisme QS (Vijayababu *et al.*, 2021).

Chitosan adalah polisakarida kationik turunan kitin yang terdapat dalam eksoskeleton serangga, krustasea, dan beberapa fungi terdiri dari β -(1-4) *N-acetyl glucosamine* dan *D-glucosamine* dengan gugus amina. Struktur kimia yang relatif stabil, serta sifat polikationik, tidak berbahaya, tidak beracun, dan mudah terdegradasi. Bersifat biokompatibel dengan berbagai organ, jaringan, dan sel. Molekul memiliki aktivitas fisik dan fisiologis, dan dapat diubah secara kimiawi atau enzimatik (Huq *et al.*, 2022). Aktivitas antibakteri dengan mengikat dinding sel bakteri yang bermuatan negatif sehingga menyebabkan gangguan pada sel, mengubah permeabilitas membran, kemudian menempel pada DNA yang menghambat replikasi DNA dan akhirnya menyebabkan kematian sel (Yilmaz, 2020). Mekanisme lain yang mungkin adalah bahwa chitosan bertindak sebagai agen pengikat logam yang secara selektif mengikat elemen logam jejak yang menyebabkan produksi toksin dan menghambat

pertumbuhan mikroba (Divya *et al.* 2017). Struktur polikationik chitosan adalah prasyarat untuk aktivitas antibakteri. Interaksi elektrostatik antara struktur polikationik dan komponen permukaan mikroorganisme yang dominan bersifat anionik memainkan peran utama dalam aktivitas antibakteri (Yilmaz, 2020).

Eksplorasi terhadap bahan alam sebaiknya difokuskan pada limbah pertanian yang apabila tidak dimanfaatkan dapat mengganggu keseimbangan lingkungan. Daun kakao (*Theobroma cacao L.*) dikenal sebagai limbah pertanian yang pemanfaatannya belum banyak dilakukan. Menurut data *International Cocoa Organization* (ICCO), Indonesia merupakan negara peringkat keenam sebagai produsen biji kakao terbesar di dunia dengan jumlah produksi mencapai 220.000.000 kg pada tahun 2018 (Portal Informasi Indonesia, 2019).

Daun kakao diketahui memiliki kandungan metabolit sekunder berupa flavonoid (Putri & Kaliu, 2022). Flavonoid dapat digunakan sebagai antimikroba dan antivirus. Alkaloid juga merupakan salah satu metabolit sekunder yang terkandung dalam kulit buah kakao (Kharisma, 2017). Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antimikroba dan antiparasit sehingga berperan dalam perlindungan tanaman sebagai agen kontrol (Adha & Ibrahim, 2021). Selain itu, metabolit sekunder tanin dan saponin juga terdapat pada kulit buah kakao. Metabolit sekunder tanin dan saponin memiliki kemampuan sebagai antibakteri (Putri & Kaliu, 2022).

Berdasarkan latar belakang tersebut, diketahui bahwa chitosan dan daun kakao berpotensi sebagai antibiofilm penelitian lebih lanjut untuk menguji

pengaruh fraksi kombinasi chitosan dan ekstrak daun kakao terhadap biofilm *Salmonella typhi*. Hal ini akan membantu memahami potensi aplikasi kombinasi tersebut dalam pengendalian infeksi oleh bakteri seperti *Salmonella typhi*.

B. Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh fraksi air kombinasi ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dan chitosan dari *Litopenaeus vannamei* menghambat pembentukan biofilm bakteri *Salmonella typhi*
2. Bagaimana pengaruh fraksi teraktif kombinasi ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dan chitosan dari *Litopenaeus vannamei* mendegradasi biofilm bakteri *Salmonella typhi*

C. Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui fraksi air kombinasi ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dan chitosan dari *Litopenaeus vannamei* dalam menghambat pembentukan biofilm
2. Untuk mengetahui fraksi air kombinasi ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao* L.) dan chitosan dari *Litopenaeus vannamei* dalam medegradasi biofilm

D. Manfaat Penelitian

1. Kontribusi ilmiah

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi pada pemahaman kita tentang potensi penggunaan kombinasi chitosan dari *Litopenaeus vannamei* dengan fraksi-fraksi ekstrak daun kakao (*Theobroma*

cacao L.) untuk menghambat pertumbuhan biofilm bakteri patogen seperti *Salmonella typhi* secara lebih efektif.

2. Relevansi farmasetikal

Hasil penelitian ini dapat menjadi dasar untuk pengembangan formulasi farmasetikal yang menggunakan kombinasi chitosan dan ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao L.*) sebagai agen antimikroba dan anti-biofilm. Hal ini dapat berpotensi meningkatkan efektivitas pengobatan terhadap infeksi bakteri, termasuk biofilm yang sulit diatasi.

3. Dampak kesehatan masyarakat

Penelitian ini memiliki potensi untuk memberikan kontribusi pada pengetahuan tentang strategi baru pemanfaatan limbah kulit udang dan daun kakao (*Theobroma cacao L.*).

E. Keaslian Penelitian

Penelitian lain yang berkaitan dengan penelitian ini antara lain :

Tabel 11.2 Penelitian sebelumnya yang berkaitan

No.	Nama/Tahun	Judul Penelitian	Metode Penelitian	Hasil Penelitian	Perbedaan
1.	Amanda dkk., 2021	<i>The Difference of Antibacterial Power between Cocoa Peel (Theobroma Cacao L.) Extract 6% compared to Chlorhexidine Digluconate 2% Against Streptococcus mutans (In vitro). Conservative Dentistry</i>	<i>Laboratory experimental study</i>	Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan dalam ukuran rata-rata zona inhibisi antara ekstrak kulit kakao 6% dan CHX 2%, dengan CHX 2% memiliki efektivitas antibakteri yang lebih tinggi terhadap	Jenis bakteri yang digunakan, fokus penelitian yang diteliti, bagian tumbuhan kakao yang digunakan (daun), dan tambahan kombinasi dengan chitosan

No.	Nama/Tahun	Judul Penelitian	Metode Penelitian	Hasil Penelitian	Perbedaan
				Streptococcus mutans.	
2.	Binartha et al., 2021	Antibiofilm effect of Theobroma cacao (cacao pod) extract on Aggregatibacter actinomycetemcomitans biofilm in vitro	Laboratory experimental study	Ekstrak kulit biji kakao memiliki potensi untuk menghambat pertumbuhan biofilm A. actinomycetemcomitans dan mencegah penyakit periodontal, terutama periodontitis agresif, dengan efek penghambatan yang lebih besar pada konsentrasi yang lebih tinggi.	Jenis bakteri yang digunakan, bagian tumbuhan kakao yang digunakan (daun), dan tambahan kombinasi dengan chitosan
3.	Lima et al., 2022	Assessment of the antibiofilm performance of chitosan-based surfaces in marine environments.	True experimental	Temuan ini menunjukkan bahwa CS bertujuan pada membran sel bakteri, dan permukaan PLA-CS mampu mengurangi jumlah sel yang dapat dikultur hingga 68% dibandingkan dengan kelompok kontrol, dengan efek ini bergantung pada berat molekul CS. Kemampuan untuk mengurangi pembentukan biofilm juga diperkuat oleh Optical Coherence Tomography, yang menunjukkan bahwa permukaan PLA-CS mengurangi ketebalan	Jenis bakteri yang digunakan, fokus penelitian yang diteliti, bagian tumbuhan kakao yang digunakan (daun), dan tambahan kombinasi dengan chitosan

No.	Nama/Tahun	Judul Penelitian	Metode Penelitian	Hasil Penelitian	Perbedaan
				biofilm hingga 36%, serta mengurangi persentase dan ukuran ruang kosong dalam biofilm.	
4.	Lipton et al., 2021	<i>In-vitro Evaluation of Chitosan-Hydroxyapatite Nanocomposite Scaffolds as Bone Substitutes with Antibiofilm</i>	<i>Laboratory experimental study</i>	Nanokomposit tersebut juga menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap spesies bakteri Gram-negatif dan Gram-positif yang diuji serta mengurangi daya lekat bakteri dalam pembentukan biofilm	Jenis bakteri yang digunakan, fokus penelitian yang diteliti, bagian tumbuhan kakao yang digunakan (daun), dan tambahan kombinasi dengan chitosan
5.	Mouhoub et al., 2022	<i>Assessment of the antioxidant, antimicrobial, and antibiofilm activities of essential oils for potential application of active chitosan films in food preservation.</i>	<i>True experimental</i>	Mengkonfirmasi bahwa ketiga EO ini memiliki potensi baik untuk penggunaan potensial di industri makanan, sebagai agen antimikroba dan antioksidan, atau dalam kemasan makanan biodegradable aktif jika dikombinasikan dengan chitosan.	Jenis bakteri yang digunakan, fokus penelitian yang diteliti, bagian tumbuhan kakao yang digunakan (daun), dan tambahan kombinasi dengan chitosan
6.	Rahayu dkk., 2023	<i>Analysis of antioxidant and antibacterial activity of cocoa pod husk extract (Theobroma cacao L.).</i>	<i>True experimental</i>	Ekstrak kulit biji kakao mengandung alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, dan triterpenoid, dan hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak tersebut memiliki aktivitas antioksidan yang signifikan dengan IC50	Jenis bakteri yang digunakan, fokus penelitian yang diteliti, bagian tumbuhan kakao yang digunakan (daun), dan tambahan kombinasi dengan chitosan

No.	Nama/Tahun	Judul Penelitian	Metode Penelitian	Hasil Penelitian	Perbedaan
				sebesar 62 ppm, serta memiliki MIC 16 mg/ml untuk P. gingivalis dan 8 mg/ml untuk S. mutans.	
7.	Yuanita dkk., 2017	<i>Antibiofilm Power of Cocoa Bean Pod Husk Extract (Theobroma Cacao) Against Enterococcus Faecalis Bacteria (In Vitro)</i>	<i>Laboratory experimental study</i>	Menunjukkan bahwa ekstrak kulit biji kakao memiliki potensi dalam menghambat pembentukan biofilm oleh bakteri Enterococcus faecalis, dengan konsentrasi inhibisi biofilm minimum (MBIC) teridentifikasi pada 3.12%.	Jenis bakteri yang digunakan, bagian tumbuhan kakao yang digunakan (daun), dan tambahan kombinasi dengan chitosan