

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penggunaan antibiotik telah memberikan dampak besar dalam pengendalian infeksi bakteri, baik di bidang medis maupun veteriner. Namun penggunaan yang berlebihan dan tidak bijak telah menyebabkan meningkatnya resistensi antimikroba (*antimicrobial resistance*/AMR), yaitu kondisi ketika bakteri tidak lagi merespons pengobatan yang sebelumnya efektif (Tesema & Birhanu, 2024). AMR kini menjadi salah satu tantangan kesehatan global, karena dapat menyebabkan kegagalan terapi, meningkatnya angka morbiditas dan mortalitas, serta pembebanan biaya kesehatan secara signifikan. Dalam pendekatan *One Health*, resistensi antibiotik dipahami sebagai isu lintas sektor yang melibatkan manusia, hewan, dan lingkungan secara terpadu (Cella dkk., 2023).

Salah satu jalur penting penyebaran AMR adalah ekosistem laut. Lautan berfungsi sebagai penampung akhir berbagai limbah yang mengandung patogen dan antibiotik dari aktivitas manusia, seperti limpasan limbah domestik dan industri (Stewart dkk., 2014). Dalam kondisi ini, mikroorganisme di laut dapat berkembang menjadi reservoir resistensi, terutama melalui transfer gen horizontal dan tekanan selektif dari paparan antibiotik dosis rendah (Robles-Malagamba dkk., 2020). Laut berperan sebagai “penampung akhir” (*sink*) berbagai mikroorganisme yang berasal dari aktivitas manusia. Patogen dan bakteri resisten dapat menyebar ke wilayah yang sebelumnya steril melalui mekanisme arus laut dan interaksi antar organisme, sehingga menciptakan risiko baru di ekosistem yang rentan (Stewart dkk., 2014).

Diketahui bahwa resistensi dapat menyebar melalui mekanisme *horizontal gene transfer*, meskipun sejauh ini studi terkait hal tersebut lebih banyak dilakukan di lingkungan klinis dibandingkan dengan lingkungan laut (Stewart dkk., 2014). Selain itu, konsentrasi antibiotik di lingkungan,

meskipun dalam jumlah kecil, telah terbukti mampu menghambat pertumbuhan bakteri dan menciptakan tekanan selektif (*selective pressure*) yang dapat memicu terbentuknya resistensi (Stewart dkk., 2014). Bakteri juga dapat memperoleh dan mempertahankan sifat resisten sebagai respons terhadap stresor lingkungan lainnya (Robles-Malagamba dkk., 2020). Resistensi juga dapat muncul secara alami di lingkungan laut melalui resistom alami (*natural resistome*). Mikroorganisme di laut memiliki mekanisme persaingan mikroba yang menghasilkan antibiotik alami dan resistensinya, serta mampu mempertahankan resistensi akibat tekanan lingkungan seperti logam berat (Dantas dkk., 2008; Stewart dkk., 2014; Baker-Austin dkk., 2009). (Stewart dkk., 2014).

Tingkat resistensi yang lebih tinggi ditemukan pada mamalia laut, serta pada hewan yang terdampar atau tertangkap secara tidak sengaja (*bycatch*) dibandingkan dengan hewan yang masih hidup di alam bebas (Robles-Malagamba dkk., 2020). Mikroba laut tampaknya memiliki sistem "perang mikroba" mereka sendiri sebagai strategi bersaing, yang menghasilkan tingkat resistensi dasar (*baseline resistance*) yang terbentuk secara alami di lingkungan laut. Bahkan, antibiotik yang dihasilkan secara alami tersebut dapat dimanfaatkan sebagai sumber karbon dalam proses katabolisme mikroba (Dantas dkk., 2008). Keberadaan resistom alami (*antibiotic resistome*) ini telah diakui secara luas, dan menjadi salah satu penjelasan atas meluasnya resistensi yang ditemukan dalam studi serupa lainnya (Baker-Austin dkk., 2009; D'Costa dkk., 2006). Penelitian oleh Nafiqoh dkk. (2024) menunjukkan bahwa lumba-lumba di fasilitas konservasi dapat menjadi inang dari bakteri patogen resisten seperti *Vibrio parahaemolyticus*. Temuan ini mengindikasikan bahwa satwa laut dapat bertindak sebagai reservoir tersembunyi bagi bakteri patogen, termasuk yang bersifat resisten terhadap antibiotik, dan berpotensi menyebar ke manusia melalui kontak langsung dalam aktivitas konservasi, medis, maupun penelitian (Nafiqoh dkk., 2024).

Penelitian terbaru menunjukkan bahwa bakteri dari keluarga Enterobacteriaceae yang berasal dari mamalia laut, seperti anjing laut dan lumba-lumba, membawa gen resistensi. Studi di Laut Utara dan Baltik menemukan *E. coli* resisten terhadap beberapa antibiotik, termasuk tetrasiklin, pada 39.4 % sampel mamalia laut, sekaligus menunjukkan potensi mereka sebagai reservoir dan indikator lingkungan. Lebih lanjut, survei terhadap penyu tempayan liar (*Caretta caretta*) di Laut Mediterania mengidentifikasi *Enterobacter* spp. dan *Escherichia coli* yang membawa gen *tetA* dan resistensi fenotipik terhadap tetrasiklin pada sekitar 18,2 % isolat bakteri gram-negatif (Blasi dkk., 2020; Gross dkk., 2022). Dalam ekosistem laut dalam, Enterobacteriaceae relatif jarang terdeteksi, tetapi studi pada saltern hipersalin di Italia menunjukkan bahwa famili ini tetap hadir meski salinitas sangat tinggi, dengan kelimpahan yang menurun seiring kenaikan salinitas dan curah hujan (Gorrası dkk., 2021). Sebaliknya, penelitian di perairan pesisir dan muara sungai di Israel melaporkan frekuensi isolasi Enterobacteriaceae termasuk *Enterobacter* spp. dan *E. coli* yang tinggi dan stabil, menandakan adaptasi yang baik terhadap fluktuasi salinitas dan nutrisi (Zhang dkk., 2025).

Salah satu kelompok bakteri yang menjadi perhatian adalah Enterobacteriaceae, keluarga Gram-negatif yang mencakup berbagai genus patogen oportunistik seperti *Escherichia*, *Proteus*, *Citrobacter*, dan *Serratia*. Bakteri ini secara alami hidup dalam saluran pencernaan, tetapi dapat menyebabkan infeksi serius ketika berpindah ke jaringan tubuh lain (Bernardi dkk., 2021). Enterobacteriaceae, seperti *E. coli*, *Proteus*, *Serratia*, dan *Citrobacter*, merupakan bakteri Gram-negatif oportunistik yang dapat menyebabkan infeksi serius pada manusia. Bakteri ini telah ditemukan membawa gen resistensi seperti *tetA* dan *blaCTX-M* di lingkungan laut, termasuk pada mamalia laut. Hal ini menimbulkan dua risiko penting: potensi zoonosis ke manusia, dan transfer gen resisten ke mikrobiota lainnya (Bai dkk., 2022; Villagra-Blanco dkk., 2017).

Spesies *Tursiops truncatus* (lumba-lumba hidung botol) merupakan spesies mamalia laut yang paling umum dan paling dikenal dari famili *Delphinidae* (Cetacea) (Villagra-Blanco dkk., 2017). Hewan ini merupakan mamalia laut yang bersifat sosial dan kerap bermigrasi jarak jauh, sehingga berpotensi menjadi “pengangkut” bakteri resisten antar-ekosistem. Mamalia laut, seperti lumba-lumba, berpotensi menjadi indikator awal (*early indicators*) terhadap dampak kesehatan akibat paparan kontaminan di lingkungan laut (Villagra-Blanco dkk., 2017). Hal ini dikarenakan fisiologi mereka lebih menyerupai manusia dibandingkan organisme laut lainnya, sehingga memungkinkan munculnya respons biologis yang lebih relevan terhadap potensi bahaya yang juga dapat mengancam kesehatan manusia. Kesamaan dalam aspek fisiologi dan pola makan antara mamalia laut dan manusia, ditambah dengan tingkat paparan yang tinggi terhadap lingkungan laut, membuat mereka lebih rentan terhadap ancaman seperti patogen dan toksin. Oleh karena itu, mamalia laut dipandang sebagai sistem peringatan dini biologis (*biological early warning system*) yang berfungsi memberikan sinyal adanya risiko kesehatan lingkungan sebelum gejalanya terdeteksi pada manusia (Manageiro dkk., 2015; Schwacke dkk., 2013). Penyakit yang teridentifikasi pada mamalia laut sering kali mencerminkan efek dari paparan kontaminan pada tingkat yang umum ditemukan di ekosistem laut, dan bisa menjadi tanda bahaya yang muncul jauh lebih awal dibandingkan dengan tren penyakit yang terlihat pada populasi manusia (Robles-Malagamba dkk., 2020; Schwacke dkk., 2013).

Salah satu antibiotik yang masih umum digunakan terhadap satwa perairan, termasuk pada mamalia laut adalah tetrasiklin, karena harganya yang terjangkau dan spektrum aktivitasnya yang luas. Meskipun tetrasiklin masih diizinkan penggunaannya dalam budidaya perairan menurut Peraturan Menteri Kelautan dan Perikanan No. 19 Tahun 2024, penggunaannya secara profilaktik dan terus-menerus telah menyebabkan peningkatan resistensi, termasuk pada *Enterobacteriaceae*. Resistensi tetrasiklin umumnya terjadi melalui ekspresi *efflux pump*, perlindungan ribosom, dan modifikasi target

(Alqahtani dkk., 2022; Huang dkk., 2022). Bahkan generasi baru tetrasiklin seperti *tigecycline* dan *minocycline* pun menunjukkan keterbatasan efektivitas serta efek samping yang serius (Na dkk., 2014).

Di tengah meningkatnya resistensi terhadap antibiotik konvensional, penggunaan tanaman obat seperti *C. asiatica* (pegagan) menjadi alternatif menjanjikan. Pegagan diketahui mengandung senyawa aktif seperti saponin, flavonoid, dan tanin, yang telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap Enterobacteriaceae (Ratnah dkk., 2022; Perveen dkk., 2022). Selain sebagai agen tunggal, kombinasi pegagan dengan antibiotik juga dilaporkan memiliki efek sinergis yang dapat meningkatkan efektivitas dan menekan dosis antibiotik yang dibutuhkan (Zhang dkk., 2020).

C. asiatica (pegagan) merupakan tanaman herbal yang mengandung senyawa aktif seperti saponin, flavonoid, tanin, dan triterpenoid, yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri. Beberapa studi menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pegagan mampu menghambat pertumbuhan *E. coli*, *C. freundii*, dan *Enterococcus faecalis* pada konsentrasi rendah (Perveen dkk., 2022; Ratnah dkk., 2022). Penelitian oleh Ratnah dkk. (2022) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pegagan mampu menghambat pertumbuhan *C. freundii* dan *Enterococcus faecalis*, sementara Perveen dkk. (2022) menemukan bahwa ekstrak ini juga efektif melawan *E. coli* dan *K. pneumoniae* pada konsentrasi rendah (MIC 4 mg/mL). Hal ini menunjukkan potensi *C. asiatica* sebagai alternatif terapi terhadap bakteri dari keluarga Enterobacteriaceae (Perveen dkk., 2022; Ratnah dkk., 2022).

Selain sebagai agen tunggal, pegagan juga menunjukkan potensi sebagai agen antibakteri ketika dikombinasikan. Penelitian oleh Zhang dkk. (2020) melaporkan bahwa kombinasi ekstrak pegagan dengan antibiotik konvensional, seperti tetrasiklin dan β -laktam, memberikan efek sinergis yang memperkuat efektivitas antimikroba. Zhang dkk. (2020) mengevaluasi efek kombinasi ekstrak *C. asiatica* dengan antibiotik. Kombinasi yang paling efektif ditemukan pada rasio 1:1 (50% ekstrak dan 50% antibiotik) (Zhang dkk., 2020). Namun demikian, penelitian mengenai sinergisme antara *C.*

asiatica dan tetrasiklin terhadap *Enterobacteriaceae* resisten, khususnya yang diisolasi dari mamalia laut, masih sangat terbatas. Padahal, pendekatan kombinasi ini berpotensi menurunkan dosis antibiotik yang dibutuhkan serta memperlambat laju perkembangan resistensi, maka dari itu penelitian tugas akhir yang berjudul “Analisis Fitokimia, Aktivitas Antibakteri & Sinergisme *Centella asiatica* dengan Tetrasiklin terhadap *Enterobacteriaceae* Resistan Tetrasiklin dari *T. truncatus*” dilakukan untuk mengevaluasi potensi ekstrak daun *C. asiatica* dalam menurunkan resistensi suatu bakteri.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi potensi ekstrak etanol daun *C. asiatica* dalam menurunkan resistensi tetrasiklin pada isolat *Enterobacteriaceae* yang diambil dari *T. truncatus*, melalui skrining fitokimia, uji aktivitas antibakteri, dan analisis sinergisme ekstrak dengan antibiotik tetrasiklin.

1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Apa saja senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak *C. asiatica* yang berpotensi sebagai agen antibakteri terhadap *Enterobacteriaceae* resisten dari *T. truncatus*?
- 1.2.2 Bagaimana tingkat resistensi isolat *Enterobacteriaceae* yang diisolasi dari *T. truncatus* terhadap antibiotik tetrasiklin?
- 1.2.3 Bagaimana aktivitas antibakteri tetrasiklin terhadap isolat *Enterobacteriaceae* resisten tetrasiklin yang diisolasi dari *T. truncatus*?
- 1.2.4 Bagaimana aktivitas antibakteri ekstrak daun pegagan terhadap isolat *Enterobacteriaceae* resisten tetrasiklin yang diisolasi dari *T. truncatus*?
- 1.2.5 Bagaimana aktivitas sinergisme *C. asiatica* dengan tetrasiklin terhadap *Enterobacteriaceae* resisten tetrasiklin yang diisolasi dari *T. truncatus*?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1.3.1 Mengidentifikasi kandungan senyawa aktif antibakteri dalam ekstrak *C. asiatica* yang berperan sebagai agen antibakteri melalui uji fitokimia.
- 1.3.2 Menentukan tingkat resistensi isolat Enterobacteriaceae yang diisolasi dari *T. truncatus* terhadap antibiotik tetrasiklin melalui uji difusi cakram.
- 1.3.3 Menentukan nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) antibiotik tetrasiklin terhadap Enterobacteriaceae resisten dari *T. truncatus*.
- 1.3.4 Menentukan nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) ekstrak *C. asiatica* terhadap Enterobacteriaceae resisten tetrasiklin dari *T. truncatus*.
- 1.3.5 Mengevaluasi aktivitas sinergisme antara ekstrak *C. asiatica* dengan tetrasiklin terhadap Enterobacteriaceae resisten tetrasiklin yang diisolasi dari *T. truncatus* melalui *Fractional Inhibitory Concentration Index* (FICI).

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian yang dilakukan diharapkan dapat memberikan manfaat secara teoritis dan manfaat secara praktis yaitu sebagai berikut:

- 1.4.1 Penelitian ini menyediakan data ilmiah yang dapat digunakan sebagai referensi studi lebih lanjut yang berfokus pada identifikasi dan pengembangan senyawa bioaktif herbal pegagan serta identifikasi molekuler terhadap ekspresi gen terkait.
- 1.4.2 Penelitian ini dapat memberikan dasar ilmiah dalam mengembangkan produk antibiotik alternatif berbasis tanaman herbal dalam pengobatan infeksi bakteri resisten dan mengurangi tingkat resistensi beberapa Enterobacteriaceae patogen terhadap antibiotik *tetrasiklin*.