

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Mycobacterium tuberculosis (*Mtb*) adalah bakteri penyebab tuberkulosis (TB) yaitu infeksi paru-paru dengan gejala batuk, nyeri dada, dan sesak napas (Anggraeni & Rahayu, 2018). Penyembuhan TB lama dan sulit, karena *Mtb* resistan terhadap antibiotik (Honeyborne et al., 2019). WHO melaporkan *multidrug-resistant* TB (MDR-TB) yang resistan terhadap rifampisin dan isoniazid (WHO, 2020), serta *extensively drug-resistant* TB (XDR-TB) yaitu MDR-TB yang resistan terhadap fluorokuinolon, levofloksasin, moksifloksasin, bedaquilin, dan linezolid (WHO, 2021). Jumlah orang terinfeksi MDR-TB relatif stagnan antara 2020-2023, dibandingkan 2015-2020 yang menurun perlahan. Di Indonesia, persentase kasus infeksi MDR-TB adalah 7,4%, jumlahnya lebih dari setengah seluruh orang di dunia yang terinfeksi MDR-TB, sehingga Indonesia menjadi negara ketiga dengan kasus MDR-TB tertinggi di tahun 2023 (WHO, 2024).

Faktor yang memengaruhi resistansi *Mtb* terhadap antibiotik adalah kemampuannya membentuk biofilm yaitu kumpulan sel yang menempel pada permukaan dan tertanam dalam polimer ekstraseluler. Biofilm terbentuk karena bakteri beradaptasi dengan kondisi stres eksternal seperti suhu, pH, radiasi, obat, antibiotik dan sistem imun (Kumar et al., 2017). Biofilm menghalangi penetrasi antibiotik sehingga sulit menghambat pertumbuhan *Mtb*, selain itu, dalam biofilm *Mtb* menjadi persisten dengan memperlambat metabolisme agar tetap hidup walaupun tidak membelah (Egorova et al., 2021). Hal ini menyebabkan *Mtb* mampu menghindari antibiotik, karena umumnya antibiotik menargetkan proses yang terjadi selama pembelahan sel seperti sintesis dinding sel, sintesis protein, atau replikasi, dan perbaikan DNA (Roose-Amsaleg & Laverman, 2016).

Saat ini, solusi untuk menghambat pertumbuhan biofilm *Mtb* adalah dengan antibiotik, namun kurang efektif karena menimbulkan resistansi dan perubahan genetik yang menyebabkan biofilm semakin sulit dihilangkan (Saefunida et al., 2016). Agen antibiofilm selain antibiotik adalah bakteriofag yaitu virus yang menginfeksi bakteri. Bakteriofag menginfeksi bakteri untuk replikasinya. Setelah itu, bakteriofag menyebabkan lisis pada sel bakteri (Madigan et al., 2018).

Aktivitas antibiofilm bakteriofag terjadi melalui penghambatan pembentukan biofilm dengan melisiskan bakteri sebelum menempel pada permukaan, merusak biofilm dengan memproduksi depolimerase eksopolisakarida (EPS) biofilm, dan melisiskan bakteri dalam biofilm (Chegini et al., 2020; Issa et al., 2019). Bakteriofag memiliki keunggulan dibanding antibiotik yaitu non toksik dan spesifik terhadap bakteri tertentu (Esmat et al., 2017).

Bakteriofag diperoleh dari tempat mengandung bakteri seperti saluran air limbah permukiman dan rumah sakit (Deshanda et al., 2018). Jumlah virus termasuk bakteriofag dari air limbah mencapai 10^6 - 10^9 partikel/mL (Rosseel, 2015). Air limbah permukiman berasal dari tinja, air seni, air bekas mencuci, dan memasak. Air limbah ini mengandung protein, gula, dan serat (12,38%, 10,65%, 20,64%) sebagai bahan organik bagi bakteri di dalamnya yang berasal dari manusia, hewan, benda, dan makanan (Koul et al., 2022) Jadi, tidak menutup kemungkinan bakteri air limbah permukiman adalah inang bakteriofag (Artiyani & Firmansyah, 2016). Emencheta et al. (2021), mengisolasi bakteriofag asal air limbah rumah tangga komunitas Nsukka, Nigeria yang menginfeksi *Pseudomonas* sp., dengan terbentuknya plak (zona bening) pada kultur bakteri. Di sisi lain, air limbah rumah sakit berasal dari tangki septik, kamar mandi, tempat mencuci, dapur, dan limbah klinis di saluran tertutup yang dialirkan ke pengolahan air limbah. Rumah sakit juga memiliki saluran air terbuka (selokan) penampung air hujan, namun beberapa rumah sakit menyediakan wastafel dan toilet yang air buangnya masuk ke dalam selokan (Indira, 2020). Air limbah selokan rumah sakit mengandung bakteri dari urin, tinja, dan cairan tubuh pengunjung, sehingga dapat mengandung bakteri inang bakteriofag (Klai & Sellamuthu, 2020). Saha et al. (2023), mengisolasi bakteriofag asal air limbah selokan rumah sakit Jashore General, Bangladesh yang menginfeksi *Staphylococcus aureus* dengan terbentuknya plak pada kultur bakteri.

Studi antibiofilm pada *Mtb* dapat dilakukan menggunakan inang alternatif *Mycobacterium smegmatis*. Menurut Gopinath et al. (2024), eksopolisakarida biofilm *M. smegmatis* terdiri dari lipid (48,8±1,32%) dan karbohidrat (34,8±4,70%), tidak jauh berbeda dengan biofilm *Mtb*, yaitu lipid 20-40%, karbohidrat 40-60% (Daffé & Marrakchi, 2019; Van der Klugt et al., 2024). Keduanya mengkodekan LuxR dan sinyal siklik-di-GMP yang berperan selama

pembentukan biofilm (Sharma et al., 2014). Keduanya memiliki struktur asam N-glikolilmuramat pada peptidoglikan dinding sel yang meningkatkan resistansi terhadap lisozim bakteriofag (Ranjitha et al., 2020). Keduanya memiliki kesamaan genetik (Xie et al., 2023). *M. smegmatis* lebih cepat membentuk biofilm setelah 5 hari dibanding *Mtb* (10 minggu) (Mothiba et al., 2015). *M. smegmatis* dapat digunakan sebagai inang bakteriofag (Johansen et al., 2020). Antibiotik TB juga aktif terhadap *M. smegmatis* (Sparks et al., 2023). *M. smegmatis* tergolong bakteri *biosafety level 1* dan tidak menyebabkan TB (Ranjitha et al., 2020). Berdasarkan alasan tersebut *M. smegmatis* representatif sebagai model/inang alternatif dari *Mtb*.

Penelitian telah menunjukkan aktivitas antibiofilm bakteriofag. Kiefer & Dahl (2015) telah mengisolasi bakteriofag asal rawa gambut yang merusak biofilm pada *M. smegmatis* mc²155 dengan persentase 81%-83%, dan menghambat pembentukan biofilm dengan penurunan biomassa 96%. Penelitian Ssengooba et al. (2022) mengisolasi bakteriofag asal air limbah menggunakan inang *M. smegmatis* mc²164. Bakteriofag yang diperoleh memiliki aktivitas litik terhadap *M. smegmatis* mc²164. Lalu bakteriofag diuji aktivitas antibiofilm terhadap 3 isolat klinis *Mtb*. Bakteriofag yang merusak biofilm isolat *Mtb* dari cairan pleura hingga 60%, merusak biofilm isolat *Mtb* dari darah hingga 20% dan merusak biofilm isolat *Mtb* asal sputum hingga 40%. Dalam pendekatan terapeutik bakteri resistan terhadap antibiotik, maka bakteriofag dan antibiotik dikombinasikan untuk meningkatkan aktivitas antibiofilm (Chaudhry et al., 2017; Rastegar et al., 2024). Grygorcewicz et al. (2023) mengkombinasikan bakteriofag asal kolam ikan dan antibiotik umum gentamisin, meropenem, amikasin, seftazidim, fosfomisin, imipenem, kolistin terhadap biofilm *Acinetobacter baumannii*, hasilnya sinergis menurunkan massa biofilm hingga 80%.

Saat ini, belum banyak penelitian yang menguji bakteriofag terhadap biofilm dari *M. smegmatis* dalam menghambat, merusak, dan menurunkan viabilitas sel pada biofilm. Kombinasi bakteriofag dan antibiotik TB juga belum banyak dipelajari, oleh karena itu, penelitian ini menguji aktivitas antibiofilm bakteriofag asal air limbah permukiman dan rumah sakit, serta membandingkan bakteriofag, antibiotik TB, dan kombinasinya terhadap biofilm *M. smegmatis* ATCC 14468 sebagai dasar penanggulangan bakteri tuberkulosis.

B. Perumusan Masalah

1. Apakah bakteriofag asal air limbah permukiman dan rumah sakit mampu menghambat pembentukan biofilm *Mycobacterium smegmatis* ATCC 14468?
2. Bagaimana kerusakan biofilm *Mycobacterium smegmatis* ATCC 14468 oleh bakteriofag asal air limbah permukiman dan rumah sakit pada umur biofilm berbeda?
3. Bagaimana pengaruh pemberian bakteriofag asal air limbah permukiman dan rumah sakit, antibiotik TB dan kombinasinya terhadap kerusakan dan viabilitas sel pada biofilm *Mycobacterium smegmatis* ATCC 14468?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui kemampuan penghambatan pembentukan biofilm *Mycobacterium smegmatis* ATCC 14468 oleh bakteriofag asal air limbah permukiman dan rumah sakit.
2. Mengetahui kerusakan biofilm *Mycobacterium smegmatis* ATCC 14468 oleh bakteriofag asal air limbah permukiman dan rumah sakit pada umur biofilm berbeda.
3. Mengetahui kerusakan dan viabilitas sel pada biofilm *Mycobacterium smegmatis* ATCC 14468 dengan pemberian bakteriofag asal air limbah permukiman dan rumah sakit, antibiotik TB, dan kombinasinya.

D. Manfaat Penelitian

Memberikan informasi aktivitas antibiofilm bakteriofag asal air limbah permukiman dan rumah sakit pada biofilm *Mycobacterium smegmatis* ATCC 14468. Data yang diperoleh dapat digunakan sebagai dasar penanganan biofilm pada *Mtb*.