

Uji Antibakteri Isolat Endofit Asal Tanaman Kayu Jawa *Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr. Terhadap MRSA Methicillin- Resistant *Staphylococcus aureus*

Eka Astuty^{1*}, Maisya Zahra Al Banna², Astrid S. W. Sumah³

¹*Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Pattimura*

²*Program Studi Pendidikan Biologi, STKIP Pembangunan Indonesia*

³*Program Pascasarjana Pendidikan Biologi, Universitas Muhammadiyah Palembang*

E-mail: ekarachman@gmail.com

Abstract

*Asia is one of the regions with the highest incidence of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in the world. Endophytes in the tropics have not been widely studied and have not been explored, especially those related to their potential uses in medicine, agriculture, and other industries. Several research reports have also found that endophytic bacteria provide great potential in producing a variety of new natural products, including secondary metabolites that are similar to its host. This research is a true experimental laboratory to analyze the inhibition of endophytic bacterial isolates from kayu jawa (*Lannea coromandelica* (Houtt) Merr on MRSA. The inhibitory test in this study uses the disc diffusion method. Antibacterial results The experimental results of the inhibitory test are expressed as the average ± standard deviation (SD) of two replications and the data is processed using Microsoft Excel 2007. Twelve endophytic bacterial isolates from kayu jawa have the ability to inhibit MRSA growth. visible from the formation of a clear zone around the paper disk. Based on the results of the measurement of the area of the clear zone formed, the twelve endophytic bacterial isolates are included in the strong category (11-20 mm) in inhibiting the growth of pathogens and of the twelve endophytic bacterial isolates, KJA3 isolates and KJB1 isolate which have ability inhibited the growth of MRSA best compared to other isolates because it has the largest inhibitory zone area of 17 mm and 16 mm.*

Keywords: *endophyte, Lannea coromandelica, MRSA*

PENDAHULUAN

Staphylococcus aureus adalah penyebab utama penyakit infeksi nosokomial dan semakin menunjukkan resistensi terhadap beberapa agen antimikroba (Grundmann *et al.*, 2006). Perkembangan resistensi terhadap beberapa obat, termasuk glikopeptida, menyebabkan kesulitan besar dalam pengendalian infeksi *Staphylococcus*, dan telah lama menjadi masalah kesehatan di seluruh dunia (Van Hal *et al.*, 2012). Asia adalah salah satu wilayah dengan kejadian Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) tertinggi di dunia (Chuang and Huang, 2013). Vancomycin-Intermediate *S. aureus* (VISA) strain dan Vancomycin-Resistant *S. aureus* (VRSA) semakin banyak ditemukan di negara-negara tertentu (Chen *et al.*, 2014).

Resistensi antibiotik oleh bakteri patogen dianggap sebagai ancaman utama bagi umat manusia dan penyakit menular bertanggung jawab atas peningkatan mortalitas di seluruh dunia (Lee *et al.*, 2016). Antibiotik baru perlu dikembangkan untuk mengobati infeksi dari patogen yang telah berevolusi resistensi terhadap antibiotik yang tersedia saat ini. Bioprospeksi produk alami adalah salah satu cara untuk menemukan sumber obat baru melalui isolasi metabolit bioaktif dari organisme hidup (Sanchez and Demain, 2014). *Ecomycins*, *pseudomycins*, *munumbicins*, *xiamycins*, dan *kakadumycins* adalah contoh antibiotik baru yang diproduksi oleh bakteri endofit (Castillo *et al.*, 2006). Dua dari antibiotik ini, yaitu munumbisin dan xiamisin terbukti efektif melawan *Enterococcus faecium* (VREF) yang resisten terhadap vankomisin (Kauffman, 2003) dan MRSA (Dancer *et al.*, 2003).

Mikroorganisme endofit yang berada di dalam tanaman semakin banyak yang menjadi objek penelitian, terutama ketika sumber tanaman secara tradisional telah banyak digunakan untuk penyembuhan penyakit. Salah satu tanaman yang sudah lama digunakan sebagai ramuan obat tradisional untuk penyembuhan adalah kayu jawa (*Lannea coromandelica* (Houtt) Merr). *L. coromandelica* (Houtt) Merr. merupakan tanaman yang termasuk dalam genus *Lannea* dari famili *Anacardiaceae*. Tumbuhan ini digunakan sebagai obat luka dengan cara menumbuk kulit kayunya kemudian menempelkannya pada luka. Tumbuhan ini juga dapat digunakan sebagai obat batuk, obat maag dan penambah nafsu makan dengan cara meminum air rebusan daunnya. Selain itu, tumbuhan ini memiliki beberapa khasiat dan manfaat antara lain membantu menyembuhkan keseleo, memar, penyakit jantung, disentri, dan sariawan (Rao *et al.*, 2014).

Endofit di daerah tropis relatif belum banyak dipelajari dan belum dieksplorasi terutama yang berkaitan dengan potensi pemanfaatannya dalam bidang kedokteran, pertanian, dan industri lainnya. Beberapa laporan penelitian juga telah menemukan bahwa bakteri endofit memberikan potensi besar dalam memproduksi berbagai produk alami baru, termasuk metabolit sekunder yang mirip dengan inangnya (Ding *et al.*, 2011). Oleh karena itu, penting untuk mengeksplorasi bakteri endofit dari tanaman obat seperti tanaman kayu jawa, dan skrining potensinya dalam memproduksi senyawa antimikroba. Dalam penelitian ini dilakukan skrining potensi isolat bakteri endofit asal tanaman kayu jawa terhadap bakteri patogen MRSA untuk menemukan sumber potensial baru dari metabolit sekunder.

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan *true experimental laboratory* untuk menganalisis daya hambat isolat bakteri endofit asal tanaman kayu jawa terhadap MRSA.

Sumber Isolat

Isolat bakteri endofit yang digunakan terdiri atas dua belas isolat yaitu KJA1, KJA2, KJA3, KJA4, KJA5, KJB1, KJB2, KJB3, KJB4, KJD1, KJD2, dan KJD3 yang diisolasi dari tanaman kayu jawa. Isolat patogen MRSA yang digunakan untuk uji daya hambat dalam penelitian ini berasal dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Alauddin Makassar.

Uji Daya Hambat

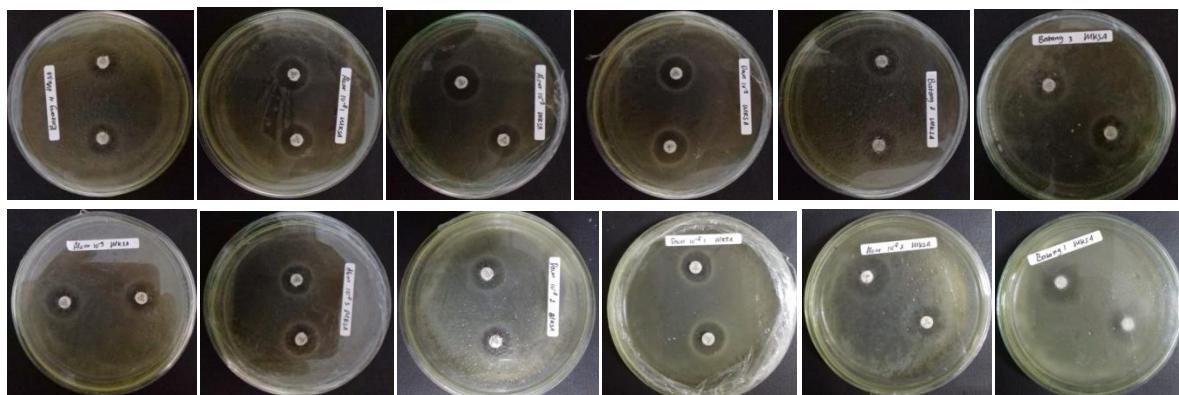
Uji daya hambat dalam penelitian ini menggunakan metode difusi cakram. Bakteri MRSAYang telah diremajakan diambil masing-masing sebanyak 1 ose untuk digoreskan pada 1 cawan petri yang terdapat media *Nutrient Agar* (NA), kemudian dihomogenkan dan dibiarkan hingga memadat. Sebanyak 40 µl bakteri endofit diteteskan pada kertas cakram kosong dan diletakkan diatas permukaan media NA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona hambat yang terbentuk diukur dengan menggunakan jangka sorong untuk menentukan aktivitas antibakteri.

Analisis Data

Hasil eksperimen dari uji daya hambat dinyatakan sebagai rata-rata \pm standar deviasi (SD) dari dua ulangan. Hasilnya diproses menggunakan perangkat lunak *Microsoft Excel* 2007.

HASIL

Berdasarkan hasil pengamatan, terlihat pembentukan zona bening (zona hambat) di sekitar koloni isolat bakteri endofit yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen uji.



Gambar 1. Penampakan zona bening (zona hambat) dari dua belas isolat bakteri endofit kayu jawa (*Lannea coromandelica*) terhadap MRSA

Zona bening (zona hambat) yang terbentuk selanjutnya diukur diameternya untuk menentukan isolat yang memiliki aktivitas antibakteri terbaik.

Tabel 1. Hasil uji daya hambat isolat bakteri endofit kayu jawa (*Lannea coromandelica*) terhadap MRSA

Kode Isolat	Zona Hambat (mm) \pm SD
KJA1	9.75 \pm 1.060
KJA2	10 \pm 0
KJA3	17 \pm 0
KJA4	9 \pm 0
KJA5	10 \pm 0
KJB1	16 \pm 0
KJB2	10.5 \pm 0.707
KJB3	10 \pm 0
KJB4	10.25 \pm 0.353
KJD1	9.75 \pm 1.060
KJD2	10 \pm 0
KJD3	10 \pm 0.707

PEMBAHASAN

Endofit diketahui mampu melakukan biosintesis beberapa senyawa kimia yang sama dengan tanaman inangnya, kemungkinan sebagai bentuk adaptasi terhadap lingkungan mikro. Endofit telah menarik perhatian sebagai sumber potensi senyawa bioaktif yang berharga. Beberapa ulasan telah dipublikasikan seperti yang dinyatakan oleh Golinska *et al.* (2015) yang mengulas keanekaragaman aktinobakteri endofit dari tanaman obat, metabolit yang aktinobakterihasilkan, serta bioaktivitas

metabolit yang dilaporkan seperti antimikroba, antivirus, larvasida, antimalaria, sitotoksik, antidiabetes, dan zat yang meningkatkan pertumbuhan tanaman. Demikian juga pada tahun 2014, Abdalla dan Matasyoh menerbitkan ulasan tentang senyawa peptida yang diisolasi dari endofit. Peptida semakin banyak dipilih untuk pengembangan obat karena spesifik terhadap target dan memiliki tingkat interaksi yang lebih tinggi. Ada cukup banyak peptida endofit yang telah dilaporkan yang mengindikasikan bahwa endofit dapat digunakan untuk produksi obat-obatan berbasis peptida.

Dalam penelitian ini, dua belas isolat bakteri endofit asal tanaman kayu jawa memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan MRSA, hal ini terlihat dari terbentuknya zona bening disekitar *paper disk*. Berdasarkan hasil pengukuran luas zona bening yang terbentuk, dua belas isolat bakteri endofit tersebut termasuk dalam kategori kuat (11-20 mm) dalam menghambat pertumbuhan patogen. Sebanyak dua isolat yaitu KJA3 dan KJB1 memiliki daya hambat paling baik dibandingkan isolat lain karena memiliki luas zona hambat paling besar yaitu 17 mm dan 16 mm. Kategori hambatan serupa juga diperoleh Handayani *et al.* (2015) dalam penelitiannya yang menemukan 12 isolat bakteri endofit yang diisolasi dari sponge *Haliclona fascigera* aktif menghambat pertumbuhan MRSA. Rata-rata zona hambat berkisar antara 11.1 ± 0.17 hingga 15.17 ± 0.76 . Pada tahun 2014, Machavariani *et al.* melaporkan isolat endofit dari tanaman obat *Aloe arborescens*, *Mentha arvensis*, *Lysimachia nummularia*, *Fragaria vesca* yang dikumpulkan di Rusia. Isolat endofit diidentifikasi sebagai *Nocardiopsis*, *Streptomyces* dan *Micromonosporad* isolat menunjukkan aktivitas terhadap bakteri *S.aureus* FDA 209P, *S.aureus* 209P/ UF-2, MRSA, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *B. subtilis* ATCC 6633, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853 dan jamur *S. cerevisiae* Y1334. Studi terbaru yang diterbitkan pada tahun 2016 terus menunjukkan kemampuan endofit untuk menghasilkan senyawa antibiotik. Tonial *et al.* (2016) melaporkan isolat endofit dari tanaman obat *Schinus terebinthifolius*, dikumpulkan di lokasi yang tidak ditentukan di Amerika Selatan. Isolat endofit diidentifikasi sebagai *Alternaria* sp., *Bjerkandera* sp., *Xylaria* sp., *Diaporthe* sp. dan *Penicillium* sp. Ekstrak fermentasi isolat menunjukkan aktivitas terhadap *S. aureus* ATCC 6538, *P. aeruginosa* ATCC 27853 dan *C. albicans* ATCC 10231. Ekstrak *Alternaria* sp. menunjukkan aktivitas tertinggi terhadap MRSA (MIC 18.52 lg/ mL). Senyawa E-2-hexyl-cinnamaldehyde dan dua alkaloid pirolindrazin teridentifikasi dalam ekstrak. Tanvir *et al.* (2016) melaporkan isolat endofit daratanaman *Sonchus oleraceus*, dikumpulkan di Pakistan. Isolat diidentifikasi sebagai *Nocardia caishijiensis* SORS 64b. Ekstrak isolat menunjukkan aktivitas terhadap MRSA (14 mm), *E. coli* ATCC 25922 (14 mm), *K. pneumoniae* ATCC 706003 (13 mm), *S. aureus* ATCC 25923 (11 mm) dan *C. tropicalis* (20 mm).

Aktivitas antibakteri bakteri endofit kayu jawa tidak terlepas dari sifat antibakteri yang dimiliki inangnya, yaitu tanaman kayu jawa. Kayu jawa secara empiris telah banyak digunakan sebagai obat muntah, luka luar maupun dalam (Prawirodiharjo, 2014). Aktivitas antibakteri telah dilaporkan Rahmadani (2015) dari aktivitas ekstrak etanol 96% kulit batang kayu jawa yang dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Helicobacter pylori*. Lebih lanjut Paramudita *et al.*, (2017) dalam penelitiannya juga melaporkan bahwa ekstrak methanol dan ekstrak n-heksan korteks kayu jawa (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr.) memberikan aktivitas antimikroba terhadap mikroba uji *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Salmonella thypi*.

KESIMPULAN

Dua belas isolat endofit asal tanaman kayu jawa mampu menghambat pertumbuhan MRSA. Isolat bakteri endofit KJA3 yang memiliki daya hambat paling besar.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdalla M. A., and Matasyoh J. C., 2014. *Endophytes as Producers of Peptides: an Overview bout the Recently Discovered Peptides from Endophytic Microbes*. Nat. Prod. Bioprospect. 4(5): 257–270.
- Chen, C. J., Lin, M. H., Shu J. C., Lu, J. J., 2014. *Reduced Susceptibility to Vancomycin in Isogenic Staphylococcus aureus Strains of Sequence Type 59: Tracking Evolution and Identifying Mutations by Whole-Genome Sequencing*. J Antimicrob Chemother. 69: 349–354.
- Chuang Y. Y., and Huang Y. C., 2013. *Molecular Epidemiology of Community-Associated Meticillin-Resistant Staphylococcus aureus in Asia*. Lancet Infect Dis. 13: 698–708.
- Castillo, U. F., Strobel, G. A., Mullenberg, K., Condron, M. M., Teplow, D. B., Folgiano, V., Gallo, M., Ferracane, R., Mannina, L., Viel, S., Codde, M., Robison, R., Porter, H. and Jensen, J., 2006. *Munumbicins E-4 and E-5: Novel Broad-Spectrum Antibiotics from Streptomyces NRRL 3052*. FEMS Microbiology Letter. 255: 296-300.
- Ding, L., Armin, M., Heinz-Herbert, F., Wen-Han, L. and Christian, H., 2011. *A Family of Multi-Cyclic Indolo Sesquiterpenes from A Bacterial Endophyte*. Organic and Biomolecular Chemistry. 9: 4029-4031.
- Dancer, S. J., Robb, A., Crawford, A. and Morrison, D., 2003. *Oral Streptogramins in the Management of Patients with Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Infections*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 51: 731-735.
- Golinska P, Wypij M, Agarkar G, Rathod D, Dahm H, Rai M., 2015. *Endophytic Actinobacteria of Medicinal Plants: Diversity and Bioactivity*. Anton Van Leeuwenhoek. 108(2): 267–289.
- Grundmann H, Aires de Sousa M, Boyce J, Tiemersma E., 2006. *Emergence and Resurgence of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus as A Public-Health Threat*. Lancet. 368: 874–885.
- Handayani D., Sandrawaty N., Murniati M., Regina R., 2015. *Screening of Endophytic Bacteria Isolated from Marine Sponge Haliclona fascigera for Inhibition Against Clinical Isolates of Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)*. Journal of Applied Pharmaceutical Science. 5(09) : 139-142.
- Kauffman, C. A., 2003. *Therapeutic and Preventative Options for The Management of Vancomycin-Resistant Enterococcal Infections*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 51: 23-30.
- Lee, D.R., Cheng, J., Lee, S.K., Hong, H.J., Song, J., Yang, S.H., Suh, J.W., 2016. *Anti-Multi Drug Resistant Pathogen Activity of Siderochelin A, Produced by A Novel Amycolatopsis sp. KCTC 29142*. Kor. J. Microbiol. 52(3).
- Machavariani N. G., Ivankova T.D., Sineva O.N., Terekhova L.P., 2014. *Isolation of Endophytic Actinomycetes from Medicinal Plants of the Moscow region, Russia*, World Appl. Sci. J. 30(11): 1599–1604.
- Paramudita A. E., Ramdani, Dini I., 2017. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak n-Heksana Kulit Batang Kayu Jawa Lannea coromandelica (Houtt) Merr*. Jurnal Chemica. 18: 64-75.
- Prawirodiharjo, Erwin. 2014. *Uji Aktivitas Antioksidan dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol 70% dan Ekstrak Air Kulit Batang Kayu Jawa (Lannea coromandelica)*. Skripsi UIN Syarif Hidayatullah.
- Rahmadani, Fitri. 2015. *Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang Kayu Jawa (Lannea coromandelica) terhadap Bakteri Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Helicobacter pylori, dan Pseudomonas aeruginosa*. Skripsi UIN Syarif Hidayatullah.
- Rao, V.S., Eintein, J.W., Das, K., 2014. *Hepatoprotective and Antioxidant Activity of Lannea coromandelica Linn. on Thioacetamide Induced Hepatotoxicity in Rats*. International Letters Of Natural Science J. 3: 30-43.

- Sanchez, S., Demain, A. L., 2014. *Valuable Products from Microbes*, in: G. Neelam, A. Abhinav (Eds.), *Microbes in Process*, USA: Nova Scientific Publishers Inc. pp. 23–57.
- Tonial, F., Maia, B.H., Gomes-Figueiredo, J.A., Sobottka, A.M., Bertol, C.D., Nepel, A., 2016. *Influence of Culturing Conditions on Bioprospecting and the Antimicrobial Potential of Endophytic Fungi from Schinus terebinthifoliu*. *Curr. Microbiol.* 72(2):173–183.
- Tanvir, R., Sajid, I., Hasnain, S., Kulik, A., Grond, S., 2016. *Rare Actinomycetes Nocardia Caishijiensis and Pseudonocardia Carboxydivorans as Endophytes, Their Bioactivity and Metabolites Evaluation*. *Microbiol. Res.* 185: 22–35.
- Van Hal, S.J., Lodise, T.P., Paterson D.L., 2012. *The Clinical Significance of Vancomycin Minimum Inhibitory Concentration in Staphylococcus aureus Infections: A Systematic Review and Meta-Analysis*. *Clin Infect Dis.* 54: 755–771.