

Aktivitas antibakteri metabolit sekunder bakteri endofit daun pegagan (*Centella asiatica*) terhadap *Escherichia coli* penyebab infeksi saluran kemih

¹Dede Apreli, ^{2*}Mardhia Mardhia, ²Mahyarudin Mahyarudin

¹Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura - Pontianak; ²Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura - Pontianak

*Email: mardhia@medical.untan.ac.id

Abstrak. Infeksi saluran kemih (ISK) merupakan infeksi pada saluran kemih yang umumnya disebabkan oleh uropatogenik *Escherichia coli* (UPEC) dan sering diterapi dengan antibiotik. Penggunaan antibiotik yang sering pada kasus ISK dapat mengakibatkan berkembangnya resistensi antibiotik, dimana diharapkan penggunaan bakteri endofit daun pegagan (*Centella asiatica*) dapat menjadi solusi dalam mengatasi resistensi antibiotik. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas metabolit sekunder dari bakteri endofit daun pegagan sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* (*E. coli*) penyebab ISK. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram dengan metabolit sekunder dari 37 isolat bakteri endofit. Isolat yang paling berpotensi sebagai antibakteri dilanjutkan dengan uji kandungan senyawa metabolit sekunder dan diidentifikasi berdasarkan morfologi koloni dan sel bakteri. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan terdapat dua isolat (I-23 dan I-24) yang terdapat zona hambat pertumbuhan *E. coli* dengan diameter masing-masing sebesar 9,0 mm dan 9,1 mm. Hasil uji metabolit menunjukkan bahwa isolat I-23 dan I-24 mengandung senyawa saponin. Berdasarkan kategori zona hambat yang dihasilkan, isolat bakteri endofit daun pegagan tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* penyebab ISK.

Kata kunci: *Centella asiatica*, bakteri endofit, *Escherichia coli*, antibakteri

Abstract. Urinary tract infection (UTI) is a urinary tract infection caused by Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) and commonly treated with antibiotics. The overuse of antibiotics in UTI could lead to antibiotic resistance, which the utilization of endophytic bacteria of pegagan leaves (*Centella asiatica*) could be an alternative therapy. The purpose of the study was to acknowledge the antibacterial activity of endophytic secondary metabolites against *Escherichia coli* (*E. coli*). Thirty-seven isolates were tested by disc diffusion method. Most potential isolates with antibacterial activity were tested for secondary metabolites compounds and identification based on colony and cellular morphology. Two isolates showed an inhibition zone of 9.0 mm and 9.1 mm (I-23 and I-24). Metabolites testing result showed that isolate I-23 and I-24 contain saponin. Based on the inhibition zone, endophytic bacterial isolates of pegagan leaves have no antibacterial activity against *E. coli*.

Keywords *Centella asiatica*, endophytic bacteria, *Escherichia coli*, antibacterial.

Pendahuluan

Infeksi Saluran Kemih (ISK) merupakan infeksi pada bagian ginjal, ureter, kandung kemih dan uretra.¹ ISK menempati urutan kedua penyakit infeksi terbanyak setelah infeksi saluran pernafasan. Secara global, sebanyak 150 juta orang setiap tahunnya mengalami ISK.² Di Indonesia prevalensi ISK pun cukup tinggi yaitu 180.000 kasus setiap tahun³.

Patogen yang paling umum menyebabkan ISK komplikata maupun non-komplikata adalah Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) dengan persentase sebesar 75%-95%^{2,4,5}. Faktor virulensi *E.*

coli yang berperan pada ISK adalah fimbriae P, fimbriae tipe 1, siderofor, dan hemolisin.^{6,7}

Terapi utama pada pasien ISK adalah antibiotik golongan kuinolon, aminoglikosida, sefalosporin dan beta laktam. Penggunaan antibiotik yang terlalu sering pada dapat mengakibatkan resistensi antibiotik pada bakteri patogen.⁸ *E. coli* merupakan bakteri gram negatif terbanyak penyebab ISK yang sensitif terhadap nitrofurantoin (90,78%) namun resistens terhadap sefalotin (88,16%).⁹ *E. coli* diketahui sebagai bakteri dengan kemampuan besar mengalami resistensi.¹⁰ Di Indonesia, UPEC bersifat resisten

terhadap ampicillin (91,9%), ciprofloxacin (83,7%), dan cefixime (67,6%).¹¹

Penggunaan tanaman obat sebagai antimikrob menjadi salah satu solusi untuk mengatasi resistensi antibiotik. Pegagan (*Centella asiatica*) merupakan tanaman obat yang mempunyai komponen bioaktif flavonoid, tanin dan saponin yang bersifat antibakteri.¹² Penelitian yang dilakukan Agfadila dkk menyebutkan bahwa ekstrak pegagan mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* ATCC 8739.¹³

Penemuan bakteri endofit yang dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang serupa seperti tanaman inangnya menjadi landasan penelitian ini. Fermentasi mikrob relatif lebih mudah ditingkatkan dengan produksi senyawa aktif biologi dalam skala besar.^{14,15} Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas metabolit sekunder bakteri endofit daun pegagan sebagai antibakteri terhadap *E. coli* penyebab ISK.

Metode Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikroskopik, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura pada bulan Mei 2019-Februari 2020. Penelitian sudah disetujui oleh komite kaji etik Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura dengan nomor 6666/UN.22.9/TA.00.03/2019. Isolat bakteri endofit daun pegagan dan isolat *E. coli* penyebab ISK berasal dari penelitian sebelumnya.^{11,16,17}

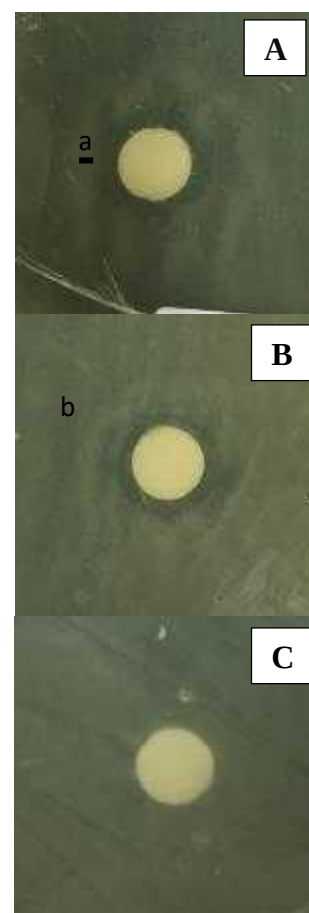
Produksi metabolit sekunder dari bakteri endofit dilakukan dengan sentrifugasi masing-masing satu koloni isolat bakteri endofit pada 1,5ml media nutrient broth pada 13.000 rpm selama 5 menit. Supernatan yang dihasilkan digunakan sebagai sumber senyawa metabolit sekunder bakteri endofit yang diuji.

Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram dengan isolat *E. coli* 0,5 McF. Petri diinkubasi pada 37° C selama 24 jam. Zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong. Interpretasi hasil zona hambat adalah sensitif ≥ 21 mm, intermediet 17-20 mm, dan resisten ≤ 16 mm.¹⁸ Kontrol positif uji menggunakan disk siprofloksasin 5µg (Oxoid) dan media nutrient broth (Merck) sebagai kontrol negatif.

Hasil Penelitian

Sebanyak 37 isolat bakteri endofit yang diremajakan terdiri atas 20 isolat bakteri endofit Gram negatif dan 17 isolat bakteri endofit Gram positif. Hasil pengujian metabolit sekunder dari bakteri endofit

sebagai antibakteri terdapat dua isolat (I-23 dan I-24) yang menunjukkan adanya zona hambat pada pertumbuhan *E. coli* dengan diameter masing-masing 9,0 mm dan 9,1 mm (Gambar 1). Kontrol positif menunjukkan zona hambat 31,68 mm, sedangkan kontrol negatif tidak menghasilkan zona hambat. Karakteristik morfologi koloni dan sel, serta hasil uji aktivitas antibakteri dapat dilihat pada Tabel 1.



Gambar 1. A) Zona hambat Isolat I23, B) Zona hambat Isolat I24, C) Isolat lain yang tidak menghasilkan zona hambat, a, b: area zona hambat

Pembahasan

Zona hambat yang dihasilkan isolat I-23 dan I-24 termasuk ke dalam kategori resisten.¹⁸ Meskipun tergolong resisten, hasil penelitian ini menunjukkan zona hambat yang lebih besar dibandingkan penelitian sebelumnya yaitu 2–6,5 mm.¹⁹

Tabel 1. Karakteristik dan Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Metabolit Sekunder Bakteri Endofit

No	Kode	Morfologi Sel	Zona Hambat
----	------	---------------	-------------

	Isolat		(mm)
1.	I1	Basil, Positif	0
2.	I2	Basil, Positif	0
3.	I3	Basil, Positif	0
4.	I4	Basil, Positif	0
5.	I5	Basil, Positif	0
6.	I6	Basil, Positif	0
7.	I7	Basil, Positif	0
8.	I8	Basil, Positif	0
9.	I10	Basil, Positif	0
10.	I11	Basil, Negatif	0
11.	I12	Basil, Positif	0
12.	I13	Basil, Negatif	0
13.	I14	Basil, Positif	0
14.	I15	Basil, Negatif	0
15.	I17	Basil, Negatif	0
16.	I18	Basil, Positif	0
17.	I19	Basil, Positif	0
18.	I20	Basil, Negatif	0
19.	I21	Basil, Negatif	0
20.	I22	Basil, Negatif	0
21.	I23	Basil, Positif	9,0
22.	I24	Basil, Positif	9,1
23.	I25	Basil, Positif	0
24.	I26	Basil, Positif	0
25.	I27	Basil, Negatif	0
26.	N1	Basil, Negatif	0
27.	N2	Basil, Negatif	0
28.	N4	Basil, Negatif	0
29.	N5	Basil, Negatif	0
30.	N6	Basil, Negatif	0
31.	N7	Basil, Negatif	0
32.	N8	Basil, Negatif	0
33.	N9	Basil, Negatif	0
34.	N10	Basil, Negatif	0
35.	N11	Basil, Negatif	0
36.	N14	Kokus, Negatif	0
37.	N15	Kokus, Negatif	0
38.	Kontrol positif		31,68
39.	Kontrol negatif		0

Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan bakteri endofit diduga berperan dalam menentukan zona hambat yang dihasilkan. Hambatan pertumbuhan bakteri patogen akan semakin tinggi apabila konsentrasi antibakteri yang terdapat pada metabolit sekunder dari bakteri endofit juga tinggi.²⁰ Penelitian terdahulu menunjukan bahwa bakteri endofit pegagan

diketahui mengandung metabolit sekunder berupa alkaloid, saponin dan terpenoid.²¹⁻²³ Analisis kuantitatif fitokimia ekstrak metanol pegagan yang dilakukan Byakodi dkk menemukan bahwa pegagan mengandung alkaloid (15,66 µg/mg ekstrak), flavonoid (13,2 µg/mg ekstrak), fenol (43,7 µg/mg ekstrak), tanin (30,09 µg/mg ekstrak), Terpenoid (3,08 µg/mg ekstrak) dan saponin (52,1 µg/mg ekstrak). Ekstrak metanol pegagan diketahui juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dengan diameter zona hambat sebesar 12,5 mm dan Gram negatif sebesar 12,0 mm.²⁴

Senyawa alkaloid dapat membunuh bakteri dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk dengan sempurna. Senyawa flavonoid dapat menimbulkan kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri.²⁵ Terpenoid bekerja dengan merusak porin yang merupakan pintu keluar masuk senyawa sehingga menyebabkan sel bakteri kekurangan nutrisi yang menyebabkan pertumbuhan bakteri terhambat atau mati. Mekanisme antibakteri dari saponin yaitu dapat melubangi membran sel bakteri dan mengganggu permeabilitasnya pada konsentrasi tinggi. Sedangkan mekanisme antibakteri tanin yaitu dengan mengendapkan protein, inaktivasi enzim dan materi genetik.²⁶

Pengujian metabolit sekunder pada bakteri endofit penelitian ini didapatkan kandungan senyawa saponin pada isolat bakteri endofit I-23 dan I-24. Saponin diketahui dapat bekerja optimal pada konsentrasi tinggi, namun pada penelitian ini tidak diketahui konsentrasi dari saponin. Kontrol positif pada penelitian yaitu siprofloksasin menunjukkan zona hambat yang termasuk klasifikasi sensitif²⁷, sedangkan kontrol negatif tidak menghasilkan zona hambat (Tabel 1). Hal ini menandakan bahwa aktivitas antibakteri dari bakteri endofit daun pegagan yang terjadi merupakan kerja dari metabolit sekunder yang dihasilkan bakteri endofit tanpa dipengaruhi media pelarut yaitu media nutrient broth.²⁸ Pada penelitian ini tidak dilakukan analisa kuantitatif kandungan saponin sehingga tidak diketahui jumlah kandungan saponin, yang menjadi keterbatasan pada penelitian.

Kesimpulan

Senyawa metabolit sekunder bakteri endofit daun pegagan tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* penyebab ISK. Perlu dilakukan telaah lebih lanjut mengenai kandungan metabolit sekunder dari isolat bakteri endofit yang memiliki aktivitas antibakteri.

Daftar Pustaka

1. Tan CW, Chlebicki MP. Urinary tract infection in adult. Singapore Med J. 2016;57(9):485–90.
2. Flores-mireles AL, Walker JN, Caparon M, Hultgren SJ. 1.UTIs. 2016;13(5):269–84.
3. Depkes RI. Survei demografi dan kesehatan Indonesia. Jakarta: Depkes RI; 2014.
4. Lee HS, Le J. urinary Tract Infection. PSAP 2018 B 1- Infect Dis. 2018;(Sobel 2014):7–28.
5. Kot B. Antibiotic Resistance among Uropathogenic *Escherichia coli*. Polish J Microbiol. 2019;68(4):403–15.
6. Shah C, Baral R, Bartaula B, Shrestha LB. Virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) and correlation with antimicrobial resistance. BMC Microbiol. 2019;19(1):1–6.
7. Bunduki GK, Heinz E, Phiri VS, Noah P, Feasey N, Musaya J. Virulence factors and antimicrobial resistance of uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) isolated from urinary tract infections: a systematic review and meta-analysis. BMC Infect Dis. 2021;21(1):1–13.
8. Naseer F. Antibacterial Activity of Medicinal Plants (Clove, Cinnamon, Garlic) Extracts and their Combined Effect with Antibiotics in Urinary Tract Infection Caused by *Escherichia coli*. Int J Pharm Pharmacol. 2018;2(2):1–14.
9. Khoshbakht R, Salimi A, Aski HS, Keshavarzi H. Antibiotic susceptibility of bacterial strains isolated from urinary tract infections in Karaj, Iran. Jundishapur J Microbiol. 2013;6(1):86–90.
10. Alarcon A, Omenaca F. Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli* Sepsis. Pediatr Infect Dis J. 2018;23(10):979–80.
11. Mardhia M, Mahyarudin M, Irsan A. Antibiotic Sensitivity Pattern Among Diabetic Outpatients with Urinary Tract infection in Pontianak. Microbiol Indones [Internet]. 2020;14(3):1. Available from: <https://jurnal.permi.or.id/index.php/mionline/article/view/775>
12. James JT, Dubery IA. Pentacyclic triterpenoids from the medicinal herb, *Centella asiatica* (L.) Urban. Molecules. 2009 Oct;14(10):3922–41.
13. Agfadila T, Sandhi PA, Puspawati NN. Kemampuan daya hambat ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* ATCC 8739. J ITEPA. 2017;6(2):21–9.
14. Alvin A, Miller KI, Neilan BA. Exploring the potential of endophytes from medicinal plants as sources of antimycobacterial compounds. Microbiol Res [Internet]. 2014;169(7):483–95. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944501313002140>
15. Khan A, Shahzad R, Al-Harrasi A, Lee I-J. Endophytic Microbes: A Resource for Producing Extracellular Enzymes. In 2017. p. 95–110.
16. Faisal., I A. Aktivitas quorum quenching bakteri gram positif endofit tanaman pegagan (*Centella asiatica*) terhadap *chromobacterium violaceum* imam agus faisal program studi pendidikan dokter. Universitas Tanjungpura; 2018.
17. Huda N Al. Potensi Bakteri Gram-Negatif Endofit Tanaman Pegagan (*Centella* yang memiliki kemampuan Quorum-Quenching. Maj Kedokt Andalas. 2020;43(2).
18. Coyle MB. Manual of antimicrobial susceptibility testing. Washington: American Society for Microbiology; 2005.
19. Adityawarman. Isolasi, identifikasi dan aktivitas antibakteri bakteri endofit daun pegagan (*Centella asiatica* L.) terhadap *Escherichia coli*. Universitas Tanjungpura; 2017.
20. Putu NI, Sunariasih L. Identifikasi Jamur Endofit dari Biji Padi dan Uji Daya Hambatnya terhadap *Pyricularia oryzae* Cav . Secara in Vitro. E-jurnal ageoteknologi Trop. 2014;3(2):51–60.
21. Kurniawan SE. Aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit daun pegagan (*Centella asiatica*) terhadap *Staphylococcus aureus*. Universitas Tanjungpura; 2019.
22. Vernando R. Aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit daun pegagan (*Centella asiatica* L.) terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*. Universitas Tanjungpura; 2019.
23. Yanthi V. Aktivitas antifungi isolat bakteri endofit tanaman pegagan (*Centella asiatica* L.) terhadap penghambatan pertumbuhan *Malassezia furfur*. Universitas Tanjungpura; 2019.
24. Byakodi MK, Bagewadi ZK, Muddapur UM. Phytoconstituents Profiling and Evaluation of Antimicrobial and Antioxidant Attributes of Methanolic Extract of *Centella asiatica*. Res J Pharm Biol Chem Sci. 2018;9(3):493–500.
25. Kurniawan B, Aryana WF, Binahong (*Cassia Alata* L) As Inhibitor Of *Escherichia coli* Growth. Fac Med Lampung Univ. 2015;4(4):100–4.
26. Fauzi M. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Cengkodok (*Melastoma malabathricum* L.) Terhadap *Shigella flexneri* Secara In Vitro. Pontianak. Universitas Tanjungpura; 2015.
27. Clinical and Laboratory Standars Institute

- (CLSI). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard — Ninth Edition. Vol. 32. Wayne, PA.; Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.
28. Kumayas AR, Wewengkang DS, Sudewi S. Aktivitas Antibakteri Dan Karakteristik Gugus Fungsi. *Pharmakon J Ilm Farm.* 2015;4(1):32–44.