

DIGITALISASI DALAM MANUFACTURING PROCCES DAN PELAYANAN KEFARMASIAN

Anti Swarming Motility dan Penghambatan Daya Virulensi Ekstrak Etanol Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia L*) Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Anti Swarming Motility and Inhibition of Virulence Activity of Noni (*Morinda citrifolia L*) Leaf Ethanol Extracts against *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.



ER Nugraheni*, DN Septiani

Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret Surakarta, Indonesia

*Corresponding author: retnaningtyas_n@yahoo.co.id

Abstrak: Kasus resistensi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* banyak dijumpai, sehingga di perlukan pencarian sumber antibakteri baru yang lebih efektif. Tanaman mengkudu banyak dijumpai di Indonesia dan selama ini digunakan sebagai senyawa antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun mengkudu melalui daya *anti swarming motility* serta penghambatan daya virulensinya terhadap bakteri *S. Aureus* ATCC 6538. Uji aktivitas antibakteri dilakukan pada konsentrasi 10 – 100% dilanjutkan dengan uji *anti swarming motility* terhadap aktivitas tertinggi dan terendah. Uji penghambatan daya virulensi dilakukan dengan bakteri uji *Chromobacterium violaceum* pada konsentrasi ekstrak 0,01; 0,025; 0,05; dan 0,075% dilanjutkan dengan uji *anti swarming motility* pada media *soft top agar*. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mengkudu memiliki aktivitas antibakteri dan *anti-swarming motility*, dengan aktivitas paling optimal pada konsentrasi 100% dan tidak mempunyai daya virulensi.

Kata kunci: ekstrak daun mengkudu, *Staphylococcus aureus*, *anti swarming motility*, daya virulensi

Abstract: *Staphylococcus aureus* nowadays is known for it's resistance cases. Another approach is necessary in the prevention of infection. Noni (*Morinda citrifolia L*.) can be found in Indonesia and is known for the antibacterial compound. This study aimed to determine the presence of antibacterial activity by the inhibition of virulence and anti-swarming motility of ethanol extract of Noni (*Morinda citrifolia L*.) leaf against *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. The antibacterial assay of Noni leaf extract was carried out on 10 – 100% and contiued by anti swarming motility assay on the lowest and higest antibacterial result. The virulence inhibition was carried out with *Chromobacterium violaceum* as the bioindicator using Noni leaf extract on 0,1; 0,25; 0,5; and 0,75 mg/mL and continued with the anti swarming motility assay on soft top agar. The results showed that Noni leaf extract had antibacterial and anti-swarming activity.

The concentration of Noni leaf extract with greatest antibacterial and anti-swarming motility activity was 100% and didnt show virulence inhibition.

Keywords: Noni leaf extract, *Staphylococcus aureus*, *anti swarming motility*, virulence

1. Pendahuluan

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang banyak dijumpai terutama di negara tropis seperti Indonesia. Infeksi dapat disebabkan oleh berbagai mikroorganisme seperti bakteri, virus, riketsia, jamur, dan protozoa (Gibson, 1990). *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif penyebab infeksi yang banyak mendapat perhatian saat ini akibat sifat resistensinya yang disebut *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) (Smith, 2004). Selama ini pencegahan dan pengobatan infeksi dilakukan dengan menggunakan senyawa antibiotik yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri (Hentzer & Givskov, 2003). Penggunaan senyawa antibiotik secara terus menerus dapat meningkatkan frekuensi mutasi dan mengakibatkan lahirnya generasi bakteri baru yang resisten (Lewis, 2001).

Indonesia sebagai negara tropis memiliki kekayaan akan flora. Saat ini bahan alam mulai dikembangkan sebagai sumber obat-obatan, salah satunya sebagai antibakteri. Pada penelitian ini, bahan alam yang digunakan adalah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) atau disebut pace maupun noni (Djauhariya, 2003). Mengkudu mengandung bahan antibakteri yaitu senyawa antrakuinon yang dapat melawan bakteri *Staphylococcus* yang menyebabkan infeksi pada jantung (Bangun & Sarwono, 2002). Daun mekgudu dilaporkan mengandung senyawa antrakuinon, skopoletin, acubin, dan alizarin yang merupakan senyawa antibakteri yang dapat bekerja terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus morganii*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, dan *Eschericia coli* (Elkins, 2008). Senyawa kimia yang menjadi target dalam penelitian ini adalah senyawa yang bersifat polar, sehingga digunakan etanol 70% sebagai pelarut yang bersifat polar.

Selain pendekatan antibakteri, baru-baru ini mulai dilakukan penelitian untuk menemukan senyawa yang dapat menurunkan perkembangan mikroorganisme dengan pendekatan antipatogenik, salah satunya dengan penghambatan daya virulensi dan *anti-swarming motility*. Virulensi adalah derajat patogenitas suatu parasit dalam menimbulkan penyakit (Madigan *et al.*, 2006). Komponen-komponen yang dimiliki oleh suatu mikroba yang dapat meningkatkan patogenisitas disebut faktor virulens (Pelczar, 2012). Adanya faktor virulensi ini merupakan respon pertahanan hidup bakteri dalam menghadapi lingkungan inang seperti pH, metabolit, ion logam, suhu, serta perubahan densitas sel (Alksne & Projan, 2000). Bakteri

Chromobacterium violaceum merupakan bakteri gram negatif yang digunakan pada pengujian penghambatan daya virulensi. *C. violaceum* memiliki faktor virulensi berupa enzim ekstraseluler yang ditandai dengan pembentukan pigmen *violacein* berwarna ungu. Pigmen tersebut tidak akan dihasilkan oleh bakteri *C. violaceum* apabila terdapat zat penghambat daya virulensi sehingga mempermudah pengamatan hasil uji. Hal inilah yang kemudian menyebabkan *C. violaceum* banyak digunakan sebagai bioindikator pada pengujian *virulence-inhibition* dan *anti-quorum sensing* (McLean, 2004).

Swarming motility adalah pergerakan bakteri dalam lingkungannya yang merupakan salah satu sifat yang mempengaruhi patogenisitas (Madigan *et al.*, 2012). *Swarming* merupakan pergerakan terkoordinasi dari sel-sel bakteri dalam jumlah yang sangat banyak, pergerakan ini sangat penting bagi bakteri untuk dapat mencapai nutrisi yang tidak dapat dicapai oleh sel-sel bakteri yang terisolasi. *Swarming motility* juga penting untuk mempertahankan diri melawan predator. Pada jaringan inang, *swarming* dilakukan bakteri untuk membentuk biofilm dan untuk memperluas infeksi (Kaiser, 2007).

Berdasarkan uraian di atas, maka akan dilakukan penelitian untuk mengetahui apakah senyawa antibakteri yang terdapat dalam daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dapat menghambat daya virulensi dan *swarming motility* bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

2. Bahan dan Metode

Daun mengkudu yang diperoleh dari daerah Surakarta, kultur bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6358, kultur bakteri *Chromobacterium violaceum*, dan larutan Mc. Farland yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, media *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), *Mueller-Hinton Agar* (MHA), *Luria-Bertani Agar* (LB-A), *Luria-Bertani Broth* (LB-B), *molten soft top agar*, tetrasiklin, kloramfenikol, *aquadest*, etanol 70%.

Ekstraksi daun mengkudu. Daun mengkudu yang telah diambil dicuci hingga bersih menggunakan air mengalir, dikeringkan dibawah sinar matahari dan dibuat serbuk. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi selama 24 jam dengan pelarut etanol 70%.

Pemeliharaan kultur bakteri. *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dan *Chromobacterium violaceum* diinokulasikan pada permukaan media *nutrient agar* (*S. aureus*) dan LB-A (*C. violaceum*), diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam sebagai stok bakteri. Dari stok bakteri, dibuat kultur dalam media cair NB dan LB-B untuk digunakan pada pengujian dihari berikutnya. Media yang digunakan adalah *Mueller-Hilton Agar* (MHA) steril dan Luria Bertani agar.

Pengujian aktivitas antibakteri. Metode yang digunakan adalah difusi sumuran dengan konsentrasi ekstrak daun mengkudu 10 hingga 100% dengan kontrol positif (suspensi tetrasiklin 0,15% b/v). Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan mengamati zona bening dan mengukur diameter daya hambatnya.

Pengujian penghambatan daya virulensi. Pengujian dilakukan terhadap bakteri *C. violaceum* menggunakan metode difusi sumuran dengan konsentrasi ekstrak etanol daun mengkudu 0,01; 0,025; 0,05; dan 0,075% b/v, dan kontrol positif (suspensi kloramfenikol 10 µg/mL) selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan mengamati zona irradikal yang terbentuk di sekitar sumuran.

Pengujian Anti-swarming Motility. Dilakukan pada media *molten soft top agar* (3% agar, 1% tryptone, 5% yeast extract, 5% NaCl, aquadest steril) yang kemudian dicampurkan dengan berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun mengkudu (0,025; 0,075; 10, dan 100%). Campuran tersebut dituangkan pada permukaan media *Luria Bertani Agar* yang sudah memadat sehingga terbentuk 2 lapisan. Bagian tengah dari cawan petri diinokulasikan 25 µL kultur *S. aureus* ATCC 6538 yang disiapkan hari sebelumnya. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

3. Hasil dan Pembahasan

Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mengkudu efektif digunakan sebagai senyawa antibakteri *S. aureus* ATCC 6538. Senyawa yang menghambat pertumbuhan *S. aureus* antara lain saponin, flavonoid, polifenol, tanin, triterpen, dan alkaloid (Robinson, 1995). Dari hasil uji sifat penghambatan dari senyawa antibakterinya, diperoleh hasil bahwa ekstrak etanol daun mengkudu bersifat bakteriostatik pada semua konsentrasi ekstrak yang diujikan.

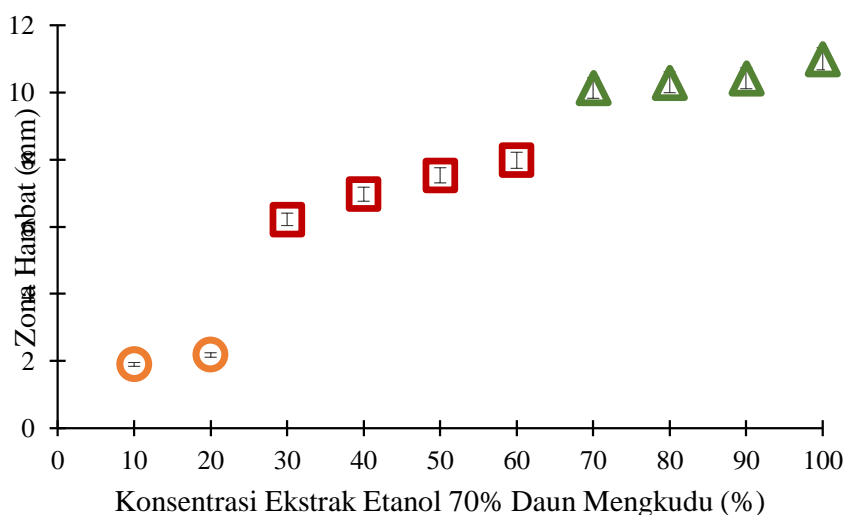
Dari uji penghambatan daya virulensi dengan bakteri indikator *Chromobacterium violaceum* diperoleh hasil bahwa ekstrak etanol daun mengkudu tidak menunjukkan adanya zona irradikal, sehingga dapat dikatakan bahwa ekstrak tersebut tidak mempunyai daya antivirulensi.

Uji *anti-swarming motility* dilakukan pada *S. aureus* ATCC 6538 menggunakan ekstrak etanol daun mengkudu konsentrasi 10% dan 100% sebagai konsentrasi dengan aktivitas antibakteri paling lemah dan paling kuat, serta konsentrasi 0,025 dan 0,075% untuk mengetahui kemampuan ekstrak etanol daun mengkudu dalam menghambat *swarming motility* bakteri uji. Hasil pengujian *anti-swarming motility* (Tabel 4) menunjukkan aktivitas *anti-swarming motility* terjadi pada ekstrak daun mengkudu konsentrasi 10% dan 100% dan terlihat adanya pengaruh konsentrasi ekstrak daun mengkudu terhadap pembentukan zona migrasi bakteri.

Zona migrasi bakteri yang terbentuk oleh pemberian ekstrak etanol daun mengkudu 100% terlihat lebih kecil dibandingkan zona migrasi bakteri pada konsentrasi 10%. Hasil ini sesuai dengan kekuatan aktivitas antibakteri yang ditunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak yang digunakan, senyawa metabolit sekunder yang berperan sebagai antibakteri akan lebih banyak, sehingga *swarming motility* *S. aureus* ATCC 6538 lebih dapat dihambat.

Tabel 3. Hasil Uji Penghambatan Daya Virulensi Ekstrak Etanol 70% Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Terhadap *C. violaceum*

Konsentrasi Ekstrak (%)	Penghambatan Daya Virulensi
0,01	Negatif (-)
0,025	Negatif (-)
0,05	Negatif (-)
0,075	Negatif (-)



Gambar 1. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Etanol 70% Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Terhadap Diameter Zona Hambat *S. aureus* ATCC 6538.

: Daya antibakteri lemah, : Daya antibakteri sedang, : Daya antibakteri kuat

Tabel 4. Hasil Uji *Anti-Swarming Motility* Ekstrak Etanol 70% Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Terhadap *S. aureus* ATCC 6538

Konsentrasi Ekstrak (%)	<i>Anti-Swarming Motility</i>
0,025	Negatif (-)
0,075	Negatif (-)
10	Positif (+)
100	Positif (+)

4. Kesimpulan

- a. Ekstrak etanol daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) memiliki aktivitas *anti-swarming motility* tetapi tidak memiliki kemampuan penghambatan daya virulensi terhadap *S. aureus* ATCC 6538
- b. Ekstrak etanol daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) yang memiliki kemampuan paling optimal dalam menghambat *anti-swarming motility* *S. aureus* ATCC 6538 yaitu pada konsentrasi 100%

Ucapan Terimakasih

Tim penyusun jurnal mengucapkan terimakasih kepada Kemenristekdikti yang telah memberi bantuan dana untuk penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Adonizio, L.A., 2008. Anti-Quorum Sensing Agents From South Florida Medicinal Plants and Their Attenuation of *Pseudomonas aeruginosa* Pathogenicity., *FIU Electronic Theses and Dissertations*, Florida International University: 427-428
- Bangun, A.P., Sarwono, B., 2002, *Mengenal Mengkudu*, Agro Media Pustaka, Jakarta: 31-32
- Darwis, D., 2000, Teknik Dasar Laboratorium Dalam Penelitian Senyawa Bahan Alam Hayati. *Workshop Pengembangan Sumber Daya Manusia Dalam Bidang Kimia Organik Bahan Alam Hayati*, Universitas Andalas Press, Padang: 5-6
- Depkes RI, 2000, *Parameter Umum Standar Ekstrak Tumbuhan Obat Cetakan Pertama*. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat Makanan Departemen Kesehatan RI, Jakarta:10-11
- Djauhariya, E., 2003, Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Tanaman Obat Potensial, Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, *J. Perkembangan Teknologi TROL*, XV(1): 21.
- Gibson, J. M., 1990, *Mikrobiologi dan Patologi Modern untuk Perawat*, Terjemahan oleh Prasada Soma I.K.G. tahun 1996, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta: 189
- Ha, D.G., Kuchma, S.L, dan O'Toole G.A., 2014, Plate-Based Assay For Swarming Motility in *Pseudomonas aeruginosa*, *Molecular Biology*, Vol. 1149: 67-68
- Hentzer, M., dan Givskov, M. 2003. Pharmacological Inhibition of Quorum sensing for The Treatment of Chronic Bacterial Infections. *J. Clin.Invest.* 112, 1300-1307.
- Kaiser, D., 2007, Bacterial Swarming, a Re-Examination Of Cell Movement Patterns, *Current Biology*, Vol 17(1), 561-570.
- Lehninger, A.L., 1990, Dasar-Dasar Biokimia, Erlangga, Jakarta: 386.
- Lewis, K., 2001, Riddle of Biofilm Resistance, *Antimicrob Agent Chemother*: 267-268.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Brock, T. D., 2006, *Brock Biology of Microorganisms* 11th Ed, Pearson Prentice Hall, New Jersey, 617-619.
- Madigan, M., Martinko, J., Stahl, D., Clark, D., 2012., *Biology of Microorganism.*, Pearson Education. San Francisco: 866-871
- McLean, R. J. C., Pierson, L.S., Fuqua, C., 2004, A Simple Screening Protocol For The Identification of Quorum Signal Antagonists, *Journal of Microbiological Methods*, Vol 58(1): 351-360
- Poelengan, M., Andriani, K., Susanti, S., Sussan, L., Komala, M., 2007, Uji Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Batang Bungur (*Lagerstornenia speciosa* Pers) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* Secara *In Vitro*. *Laporan Penelitian*. Institut Pertanian Bogor, Bogor: 777.

Radji, Maksum, 2011, *Buku Ajar Mikrobiologi: Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta: 107, 118, 201-207.