**Analisis Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Miana
(*Coleus atropurpureus*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio Cholera***

^{1*}Anita, ²Mujahidah Basarang, ³Dewi Arisanti, ⁴Rahmawati, ⁵Andi Fatmawati

^{1,2,3,4,5}Prodi Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Kesehatan Muhammadiyah Makassar
Corresponding Author : anitadinar1983@gmail.com

Abstrak

Miana (*Coleus atropurpureus*) merupakan tanaman yang sangat berkhasiat, dimana daunnya mengandung tanin, steroid, alkaloid, kumarin, minyak atsiri, saponin, flavonoid dan polivenol, zat-zat alkaloida, mineral serta sedikit lendir yang mempunyai khasiat untuk meredakan rasa nyeri, sebagai agen anti-inflamasi, antioksidan, antibakteri, dan mempercepat penyembuhan luka. Akibat penggunaan antibiotik yang irrasional terjadi peningkatan resistensi bakteri terhadap antibiotik dan toksisitas beberapa antibiotik terhadap tubuh. Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan uji efektifitas ekstrak daun miana (*Coleus atropurpureus*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio cholera*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang dilaksanakan di Laboratorium Fitokimia, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, dan Laboratorium Bakteriologi, Prodi Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Kesehatan Muhammadiyah Makassar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun miana (*Coleus atropurpureus*) dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yaitu 15.62 mg/ml sebesar 6.8 mm, 31.25 mg/ml sebesar 10.3 mm, 62.5 mg/ml sebesar 11.6 mm, 125 mg/ml sebesar 14.6 mm, dan 250 mg/ml sebesar 19 mm, kontrol positif (tetrasiklin 50 mg/ml) sebesar 20 mm, kontrol negatif 0 mm. Sedangkan untuk *Vibrio cholera* tidak terbentuk zona hambat. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak daun miana (*Coleus atropurpureus*) memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* tetapi tidak dapat menghambat pertumbuhan *Vibrio cholera*.

Kata Kunci: Miana, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholera*.

PENDAHULUAN

Salah satu tanaman genus *Coleus* asli Indonesia yang mengandung senyawa obat yaitu Miana (*Coleus atropurpureus*) yang mempunyai khasiat untuk meredakan rasa nyeri, sebagai agen anti-inflamasi, antioksidan, antibakteri, dan mempercepat penyembuhan luka (Tari, 2013).

Miana (*Coleus atropurpureus*) merupakan tanaman hias berwarna merah kehitaman yang sangat berkhasiat, dimana daunnya mengandung tanin, steroid, alkaloid, kumarin, minyak atsiri, saponin, flavonoid dan polivenol, zat-zat alkaloida, mineral serta sedikit lendir (Ariyanti dkk., 2007). Kandungan kimia tersebut merupakan senyawa metabolit sekunder tumbuhan yang berguna bagi tumbuhan sendiri dan bagi lingkungannya, termasuk memiliki khasiat obat untuk manusia (Supriyatna, 2015).

Indonesia merupakan negara yang beriklim tropis, sehingga bakteri akan mudah tumbuh subur di Indonesia termasuk di antaranya, jenis bakteri yang bersifat patogen. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri menjadi masalah cukup serius karena menyebabkan berbagai gangguan, seperti infeksi kulit, infeksi usus, infeksi saluran pencernaan, dan infeksi saluran pernapasan. Pengobatan penyakit infeksi bakteri masih menggunakan antibiotik berbahan kimia. Masalah lain yang timbul akibat penggunaan antibiotik adalah resistensi bakteri terhadap antibiotik yang mulai tinggi akibat penggunaan antibiotik yang irrasional dan toksisitas beberapa antibiotik terhadap tubuh.

Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan uji efektifitas ekstrak daun miana (*Coleus atropurpureus*) terhadap pertumbuhan bakteri *Stapylococcus aureus* dan *Vibrio cholera*. Kedua jenis bakteri tersebut merupakan bakteri yang paling sering menyebabkan gangguan kesehatan pada manusia yaitu *Stapylococcus aureus* dapat menyebabkan infeksi kulit, sedangkan *Vibrio cholerae* dapat menyebabkan diare (Jawetz *et al.*, 2007).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang dilaksanakan di Laboratorium Fitokima, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, dan Laboratorium Bakteriologi, Prodi Teknologi laboratorium Medis, Politeknik Kesehatan Muhammadiyah Makassar pada bulan April–Juni 2019.

Penelitian ini dilakukan dalam empat tahapan yaitu persiapan sampel daun miana (*Coleus atropurpureus*), isolasi bakteri *Stapylococcus aureus* dan *Vibrio cholera* pertumbuhan isolat bakteri *Stapylococcus aureus* dan *Vibrio cholera* dan uji daya hambat ekstrak daun miana (*Coleus atropurpureus*) terhadap *Stapylococcus aureus* dan *Vibrio cholera*.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Penangas air, seperangkat alat-alat gelas, pipet tetes, timbangan analitis (Heraeus), corong pisah, , kertas saring, rotavapor, kertas atau paper disk, autoclaf, gelas kimia (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), inkubator, lampu spiritus, cawan petri besar dan kecil (Pyrex), timbangan, api bunsen, ose, paper disk, pinset, rak tabung, tabung reaksi, swab steril, oven (Memmert), pipet steril.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak daun miana (*Coleus atropurpureus*), Nutrien Agar (NA) (Merck),, medium Muller Hinton Agar (MHA) (Merck),, medium Potato Dekstrose Agar (PDA) (Merck), aquades steril, etanol 96% p.a, tablet tetrasiklin

500 mg, kloramphenicol 500 mg, ketoconazole 200 mg, H₂SO₄ 0,36 N, BaCl₂·2H₂O 1, 175%, NaCl 0,9%, kertas saring no.42, kertas label, *aluminium foil*, DMSO.

Prosedur kerja

Prosedur kerja dalam penelitian ini meliputi:

a. Sterilisasi alat

Seluruh peralatan yang digunakan selama penelitian harus dibersihkan dengan cara dan dikeringkan lalu dibungkus dengan kertas *aluminium foil*. Kemudian dilakukan sterilisasi didalam autoclave selama 15 menit pada suhu 121 °C .

b. Persiapan sampel

Pengambilan sampel daun miana (*Coleus atropurpureus*) dilakukan dengan cara memetik daun miana di pagi hari. Hal ini disebabkan karena daun miana masih mengalami fotosintesis sehingga diharapkan senyawa metabolit sekunder yang diakan diestrak dapat diperoleh dengan jumlah yang banyak. Setelah itu daun miana dikeringanginkan selama 10 hari.

c. Pembuatan Ekstrak Daun Miana (*Coleus atropurpureus*) Etanol 96%

Setelah daun miana (*Coleus atropurpureus*) kering lalu dihancurkan tapi tidak sampai halus, disimpan dalam toples steril lalu direndam dengan etanol 96 % selama 7 hari. Setelah itu ekstrak disaring, lalu dipisahkan supernatant dan filtranya. Filtrat dibuang, supernatan di rotavapor. Hasil akhir ekstrak daun miana setelah dirotavapor sebanyak 5,34 gr. Estrak daun miana kemudian campurkan DMSO 10 ml kemudian dibuatkan konsentrasi 250 mg/mL, 125 mg/mL, 62,5 mg/mL, 31,25 mg/mL dan 15,62 mg/mL.

d. Pembuatan larutan kontrol positif

Kontrol positif yang digunakan untuk uji daya hambat bakteri adalah tetrasiklin dibuat dengan cara tetrasiklin 500 mg ditambahkan 10 mL aquadest.

e. Persiapan bakteri uji

Satu mata ose bakteri *Stapylococcus aureus* dan *Vibrio cholera* murni digoreskan pada media Nutrien Aga (NA) r, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C.

f. Pembuatan larutan Mac Farland 0,5 %

Larutan baku Mc Farland terdiri atas 2 komponen, yaitu larutan BaCl₂ dan H₂SO₄ 1%. Larutan BaCl₂ 1% sebanyak 0,05 ml dicampur dengan larutan H₂SO₄ 1%

sebanyak 9,95 ml dalam labu takar hingga homogen. Suspensi ini digunakan sebagai larutan standar pembanding kekeruhan suspensi.

g. Pembuatan suspensi bakteri

Biakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio cholera* yang sudah diremajakan diambil seujung mata ose dan disuspensi pada NaCl fisiologis kemudian disesuaikan kekeruhannya dengan standar Mac Farland 0,5 %.

h. Pembuatan Medium Muller Hinton Agar (MHA)

Berdasarkan prosedur yang tertera pada kemasan media Muller Hinton Agar (MHA) , ditimbang Muller Hinton Agar (MHA) sebanyak 4,56 gr dibuat dalam 120 ml aquadest, panaskan pada hot plate agar semua bahan larutan sempurna. Larutan media Muller Hinton Agar (MHA) kemudian dipipet 20 ml, dan dimasukkan dalam cawan petrin dan biarkan hingga membeku.

i. Uji Aktivitas Ekstrak Daun Miana (*Coleus atropurpureus*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio cholera*

Uji daya hambat ekstrak daun miana (*Coleus atropurpureus*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio cholera*. Sebanyak 1 ml suspensi bakteri dengan menggunakan swab steril lalu diusapkan merata pada seluruh permukaan media Muller Hinton Agar (MHA) . Kemudian ditempelkan masing-masing paper disk yang sudah direndam pada ekstrak daun miana sesuai variasi konsentrasi ekstrak daun miana (*Coleus atropurpureus*) yaitu konsentrasi 250 mg/ml, 125mg/ml, 62,5 mg/ml, 31,25 mg/ml, dan 15,625 mg/ml dan juga kontrol negatif yaitu akuabidestilasi dan sebagai kontrol positif yaitu tetrasiklin selama $\pm$ 30 menit dan serta kontrol negatif (aquabidest). Paper disk diletakkan dipermukaan media Muller Hinton Agar (MHA) menggunakan pinset steril dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

j. Pembacaan/pengukuran diameter zona hambat

Bahan uji dikategorikan positif apabila uji hasil laboratorium pada ekstrak daun miana (*Coleus atropurpureus*) dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio cholera* yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat yang terbentuk disekitar *paper disk*. Terbentuknya zona hambat berwarna bening berbentuk lingkaran dan hitung zona hambatnya. Sebuah zona yang lebih besar dari kontrol positif menunjukkan zat uji aktif terhadap bakteri , zona kecil mungkin berarti bahwa substansi

itu hanya sedikit aktif terhadap bakteri dan tidak ada zona mungkin berarti tidak ada kegiatan.

k. Interpretasi hasil

Menghambat : Terbentuk zona hambat/zona bening.

Tidak menghambat : Tidak terbentuk zona hambat

Mengukur diameter zona hambat yang terjadi pada media agar plate menggunakan jangka sorong. Diameter zona hambat yang diukur yaitu daerah jernih disekitar *paper disk* diukur dari ujung satu ke ujung yang lain melalui sebanyak 2 kali dengan catatan yaitu pertumbuhan tips di atas zona hambat tidak perlu dipertahankan.. Berdasarkan kriteria daya hambat menurut Davis dan Stout (1971):

- Daya hambat lemah : ≤ 5 mm
- Daya hambat sedang : 5-10 mm
- Daya hambat kuat : 10-20 mm
- Daya hambat sangat kuat : ≥ 20 mm

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

ekstraksi maserasi

Hasil maserasi berupa filtrat berwarna hijau kehitaman sebanyak 225 ml. Kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental sebanyak 5,34 gram berwarna hijau kehitaman. Ekstrak ini akan digunakan dalam uji aktivitas antibakteri dan anti jamur.

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun miana (*coleus atropurpureus*)

Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun miana (*Coleus atropurpureus*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio cholera* dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan hasil yang diperoleh, diketahui bahwa pengujian terhadap kontrol negatif (akuades) adalah 0 mm, sedangkan pada kontrol positif (tetrasiklin) adalah 21.6 mm. Pada konsentrasi paling rendah ekstrak daun miana (*Coleus atropurpureus*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 6.8 mm, tetapi tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio cholerae*. Berdasarkan kriteria daya hambat menurut Davis dan Stout (1971), kriteria lemah jika daya hambat ≤ 5 mm, sedang jika daya hambat 5–10 mm, kuat jika daya hambat 10–

20 mm dan sangat kuat jika daya hambatnya >20 mm. .Daya hambat ekstrak daun afrika terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 31.25 mg/ml,62.5 mg/ml, 125 mg/ml, 250 mg/ml termasuk kategori kuat.

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun miana (*Coleus atropurpureus*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio cholera* dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

Tabel 1. Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Miana (*Coleus Atropurpureus*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Vibrio Cholera*

Konsentrasi	Rata-rata diameter zona hambat (mm)	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Vibrio cholera</i>
Kontrol negatif (aquades)	0	0
Kontrol positif (tetrasiklin) 50 mg/ml	20	21.6
15.62 mg/ml	6.8	0
31.25 mg/ml	10.3	0
62.5 mg/ml	11.6	0
125 mg/ml	14.6	0
250 mg/ml	19	0

Sumber : Data Primer, 2019

Pembahasan

Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun miana (*Coleus atropurpureus*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* tetapi tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio cholera*..

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif .Menurut Radji (2011) dinding sel bakteri Gram positif terdiri atas beberapa lapisan peptidoglikan yang membentuk struktur yang tebal dan kaku serta mengandung substansi dinding sel yang disebut asam teikoat.

Kemampuan ekstrak daun miana (*Coleus atropurpureus*) dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* karena adanya senyawa yang berperan sebagai antibakteri di antaranya adalah flavonoid. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antimikroba dapat dibagi menjadi 3 yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel, dan menghambat

metabolisme energi (Hendra *et al.*, 2011). Flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri (Cushine *et al.*, 2005).

Mekanisme kerja flavonoid dalam menghambat fungsi membran sel adalah dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Nuria *et al.*, 2009). Flavonoid dapat menghambat metabolisme energi dengan cara menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri. Flavonoid menghambat pada sitokrom C reduktase sehingga pembentukan metabolisme terhambat. Energi dibutuhkan bakteri untuk biosintesis makromolekul (Cushine *et al.*, 2005).

Senyawa lain yang diduga berperan sebagai antibakteri adalah tanin dan steroid. Tanin memiliki peran sebagai antibakteri dengan cara mengikat protein sehingga pembentukan dinding sel akan terhambat (Masduki, 1996). Efek antibakteri tanin adalah melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, dan inaktivasi fungsi materi genetik. Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria *et al.*, 2009). Tanin memiliki aktivitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktifkan adhesin sel mikroba, menginaktifkan enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel (Cowan, 1999). Tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati (Sari dan Sari, 2011). Kompleksasi dari ion besi dengan tanin dapat menjelaskan toksisitas tanin. Mikroorganisme yang tumbuh di bawah kondisi aerobik membutuhkan zat besi untuk berbagai fungsi, termasuk reduksi dari prekursor ribonukleotida DNA. Enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sel bakteri tidak dapat terbentuk oleh kapasitas pengikat besi yang kuat oleh tanin (Akiyama, 2001).

Mekanisme steroid sebagai antibakteri berhubungan dengan membran lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada ribosom (Madduluri *et al.*, 2013). Steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun serta morfologi membran sel berubah yang menyebabkan sel rapuh dan lisis (Ahmed, 2007).

Sedangkan hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun miana (*Coleus atropurpureus*) tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio cholera*. Hal ini disebabkan karena bakteri *Vibrio cholera* memiliki *Cholerae Toxin (CT)* dan *Toxin Coregulated Pilus (TCP)* yang merupakan toksin utama yang berperan dalam proses invasi bakteri ke dalam sel eritrosit. *Vibrio cholerae* merupakan enterotoksin ekstraseluler yang kuat yang berperan dalam sel usus (Guli,2016).

Vibrio cholerae mempunyai susunan antigen kompleks. Sebagian besar bakteri *Vibrio cholerae* mempunyai antigen somatik O berupa lipopolisakarida. Lipopolisakarida (LPS) endotoksin dari *Vibrio cholerae* memainkan peranan penting dalam memunculkan respon imun antibakteri dari hospes (Wang,Rajanna, Zhanfg, *et all*, 2009)

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak etanol daun miana (*Coleus atropurpureus*) memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* tetapi tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio cholera*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan apresiasi terdalam kepada Pimpinan Politeknik Kesehatan Muhammadiyah Makassar yang telah mendanai penelitian ini melalui program Hibah Penelitian Dosen Politeknik Kesehatan Muhammadiyah Makassar 2019.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, B. (2007). *Chemistry of Natural Products*. New Delhi: Department of Pharmaceutical Chemistry Faculty of Science Jamia Hamdard.
- Akiyama, H., Fujii, K., Yamasaki, O., Oono, T., Iwatsuki, K. (2001). *Antibacterial Action of Several Tannin Against Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48:487–491
- Ariyanti T, dkk. (2007). *Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Iler (Coleus atropurpureusL. Benth.) terhadap Infeksi Salmonella enteritidis pada Mencit (Mus musculus)*. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner
- Cowan, M.M. (1999). *Plant products as antimicrobial agents*. *Clinical Microbiology Reviews*, 12:564-582.

- Cushnie, T.P., Lamb, A.J. (2005). *Antimicrobial activity of flavonoids. International Journal of Antimicrobial Agents*, 26:343-356
- Davis, W. dan Stout, T. (1971). *Disc PITE Methods of Microbiological Antibiotic Assay. Microbiology*, 22(4):659-665
- Guli. (2016). Patogenitas Penyakit Kolera Pada Manusia, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tadulako
- Hendra, R., Ahmad, S., Sukari, A., Shukor, M.Y., Oskoueian, E. (2011). *Flavonoid analyses and antimicrobial activity of various parts of Phaleria macrocarpa (Scheff.) Boerl fruit. International Journal of Molecular Sciences*, 12:3422-3431
- Jawetz, *et al.* (2007). *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 23. Salemba Medika, Jakarta
- Masduki, I. (1996). Efek Antibakteri Ekstrak Biji Pinang (*Areca catchu*) terhadap *S. aureus* dan *E. coli* in vitro. *Jurnal Cermin Dunia Kedokteran*, 109:21-24
- Nuria, M., Faizaitun, A.C., Sumantri. (2009). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Mediagro*, 5(2):26-37
- Radji, M. (2011). *Mikrobiologi*. Buku Kedokteran ECG, Jakarta.
- Sari, F.P. dan Sari, S.M. (2011). *Ekstraksi Zat Aktif Antimikroba dari Tanaman Yodium (Jatropha Multifida Linn) sebagai Bahan Baku Alternatif Antibiotik Alami. Technical Report*. Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro.
- Supriyatna, dkk, (2015). *Fitoterapi Sistem Organ: Pandangan Dunia Barat terhadap Obat Herbal*. Ed.1, cet.2- Yogyakarta: Deepublish, Maret 2015: hlm 2.
- Tari, Rudianto, dkk. (2013), *Uji Efek Daun Iler (Coleus atropurpureusL. Benth.) terhadap Penyembuhan Luka Insisi pada Kulit Kelinci (Oryzfolagus cuniculus)*. *Jurnal e-biomedik (eBM)*, vol. 1, no.1, Maret 2013, hlm. 581-586 56 UIN Syarif Hidayatullah Jakarta
- Wang J, Rajanna C, Zhang D, *et all*, (2009). *Endotoxin of Vibrio cholerae:Physical and Chemichal Characterization*, Cholera toxin:p:33-54.