

ARTIKEL PENELITIAN

Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans* (Burm.f.) Lindau) Terhadap Pertumbuhan *Vibrio cholerae*

Daniel Leon Hart Panjaitan¹, Delima Fajar Liana², Mahyarudin³

1. Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura; 2. Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura; 3. Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura

Korespondensi: Daniel Leon Hart Panjaitan, email: danielpanjaitan26@gmail.com

Abstrak

Tujuan: Mengetahui aktivitas antibakteri infusa daun dandang gendis terhadap pertumbuhan *Vibrio cholerae* dan mengetahui konsentrasi efektif infusa daun dandang gendis pada pertumbuhan *Vibrio cholerae*. **Metode:** Skrining fitokimia infusa daun dandang gendis dilakukan dengan pengujian secara kualitatif. Pembuatan infusa daun dandang gendis dilakukan dengan merebus daun dandang gendis dalam akuades yang telah dipanaskan hingga suhu 90°C selama 15 menit. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Siprofloksasin 5 µg/cakram digunakan sebagai kontrol positif dan akuades steril digunakan sebagai kontrol negatif. **Hasil:** Berdasarkan hasil uji metabolit, didapatkan kandungan metabolit sekunder infusa daun dandang gendis yaitu fenol, saponin, tanin, terpenoid, alkaloid, dan flavonoid. Metabolit sekunder dominan pada infusa daun dandang gendis adalah fenol (+++). Pengujian infusa daun dandang gendis tidak menunjukkan adanya zona hambat pada pertumbuhan bakteri. **Kesimpulan:** Infusa daun dandang gendis tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Vibrio cholerae*.

Kata kunci: Antibakteri, *Clinacanthus nutans*, *Vibrio cholerae*

Abstract

Objectives: To determine the antibacterial activity of dandang gendis leaf (*Clinacanthus nutans* (Burm.f.) Lindau) infusion on the growth of *Vibrio cholerae* and to determine the effective concentration of dandang gendis leaf infusion on the growth of *Vibrio cholerae*. **Methods:** Dandang gendis leaf infusion phytochemical screening was carried out by qualitative test. Dandang gendis leaf infusion is made by boiling dandang gendis leaves in distilled water that has been heated to 90°C for 15 minutes. The antibacterial activity test used the disc diffusion method with a concentration of 20%, 40%, 60%, 80%, and 100%. Ciprofloxacin 5 µg / disc was used as positive control and sterile distilled water was used as negative control. **Results:** Based on the metabolite test results, the secondary metabolites content of dandang gendis leaf infusion were found, namely phenols, saponins, tannins, terpenoids, alkaloids, and flavonoids. The dominant secondary metabolite in dandang gendis leaf infusion is phenol (+++). Dandang gendis leaf infusion test did not show any inhibition zone for bacterial growth. **Conclusion:** Dandang gendis leaf infusion has no antibacterial activity against *Vibrio cholerae*.

Keywords: Antibacterial, *Clinacanthus nutans*, *Vibrio cholerae*

PENDAHULUAN

Kolera merupakan penyakit infeksi yang diakibatkan oleh kontaminasi bakteri *Vibrio cholerae* pada makanan dan minuman yang dikonsumsi, gaya hidup yang tidak sehat serta kurangnya ketersediaan air bersih. Kolera dapat menular melalui perairan, terutama melalui konsumsi ikan, udang, kerang, dan kepiting mentah yang mengandung *Vibrio cholerae*.¹

Vibrio cholerae merupakan bakteri basil Gram negatif berbentuk seperti tanda koma dengan panjang 2-4 μm serta memiliki flagel untuk bergerak, serta kemampuan untuk bertahan di pH yang rendah dengan pH pertumbuhan 4-9 dan optimal pada rentang pH 6,5-8,5. *Vibrio cholerae* dapat tumbuh dan berkolonisasi di bagian usus halus dan akan menyerang usus besar dengan mengeluarkan enterotoksin pada bagian saluran usus, sehingga menimbulkan diare akut disertai muntah, dan berakibat pada hilangnya cairan dari tubuh secara masif yang akan menimbulkan dehidrasi.^{2,3} Prevalensi persebaran kolera di dunia menurut *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2017 menunjukkan terdapat sekitar 1.2 juta kasus dari 34 negara dan terdapat sekitar 5 ribu kasus yang berujung pada kematian.⁴ Pemberian antibiotik dilakukan bersamaan dengan melakukan manajemen rehidrasi pada pasien penderita diare. Tetrasiklin, kotrimoksazol, doksisisiklin, siprofloksasin, eritromisin, dan azitromisin adalah beberapa rekomendasi antibiotik yang efektif untuk pengobatan pada kolera.⁵ *Vibrio cholera* merupakan bakteri yang dapat memperoleh kemampuan resistensi dari bakteri lain yang lebih dahulu resisten terhadap antibiotik di lingkungan bakteri tersebut hidup. Selain itu penggunaan antibiotik yang tidak tepat dalam

penatalaksanaan kolera juga menjadi faktor yang menyebabkan resistensi pada bakteri *Vibrio cholerae*.⁶ Penelitian yang dipublikasikan pada tahun 2018 menunjukkan terdapat resistensi *Vibrio cholerae* pada sejumlah antibiotik seperti ; tetrasiklin (46,7%), azitromisin (3,3%), eritromisin (3,3%), siprofloksasin (3,3%), trimethoprim-sulfametoksazol (50%), ampicilin (43,3%), kloramfenikol (43,3%) dan amoksisilin (6,7%). Maka dari itu diperlukan alternatif lain bagi pengobatan kolera selain dari pemberian antibiotik yang sudah ada.⁷

Tanaman dandang gendis (*Clinacanthus nutans* (Burm.f.) Lindau) merupakan satu diantara tanaman obat yang dapat dibudidayakan.⁸ Dandang gendis sebagai tanaman obat juga dipercaya masyarakat dapat menyembuhkan penyakit diare serta ragam penyakit lainnya.⁹ Dandang gendis memiliki efek antimikrob karena adanya kandungan flavonoid dan fenol yang menghambat pertumbuhan bakteri selain itu tanaman ini juga memiliki efek antioksidan serta antiinflamasi.¹⁰ Penelitian yang telah dilakukan sebelumnya menunjukkan bahwa dandang gendis memiliki efek antimikrob, sehingga dapat digunakan sebagai obat diare yang disebabkan oleh bakteri seperti *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella boydii*, *Staphylococcus aureus*, dan *Staphylococcus epidermidis*.⁶

Tahapan ekstraksi diperlukan untuk mendapatkan kandungan metabolit sekunder pada daun dandang gendis. Metode ekstraksi infusa dengan pelarut air adalah salah satu metode yang dapat menyari kandungan metabolit sekunder dengan cara yang mudah dan sederhana.

Teknik infusa merupakan teknik ekstraksi yang mirip dengan teknik masyarakat dalam mengolah tanaman herbal yaitu dengan melakukan perebusan. Teknik infusa dengan pelarut air yang bersifat polar juga tidak menghasilkan perbedaan yang signifikan dengan teknik ekstraksi dengan pelarut polar lainnya.¹¹

Pada penelitian yang sudah dilakukan, belum ada penelitian efek antimikrob daun dandang gendis terhadap bakteri *Vibrio cholerae* maka perlu dilakukan penelitian untuk mengembangkan pemanfaatan daun dandang gendis terhadap pengobatan penyakit yang satu diantaranya adalah kolera serta untuk mengetahui efek antimikrob daun dandang gendis terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio cholerae*.

METODE

Penelitian ini adalah studi eksperimental murni dengan desain penelitian metode eksperimen Rancangan Acak Lengkap (RAL). Tahap-tahap pada penelitian ini melalui beberapa perlakuan berupa, proses determinasi daun tanaman dandang gendis dilakukan di laboratorium biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura. Dilanjutkan pembuatan infusa daun dandang gendis di rumah peneliti. Kemudian pengujian metabolit sekunder infusa daun dandang gendis dilakukan pada laboratorium kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura dan pengujian aktivitas antibakteri daun dandang gendis serta uji sensitivitas antibakteri dilakukan pada Laboratorium Kesehatan Provinsi Kalimantan Barat. Populasi dari penelitian ini adalah tanaman dandang gendis (*Clinacanthus nutans* (Burm.f.) Lindau)

yang tumbuh di Kalimantan Barat. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun dari tanaman dandang gendis (*Clinacanthus nutans* (Burm.f.) Lindau) yang akan diujikan pada bakteri *Vibrio Cholerae* yang diperoleh dari biakan Laboratorium Parasitologi FKUI. Pada penelitian ini dibentuk 7 kelompok yang diberi perlakuan berbeda. Berdasarkan konsentrasi infusa daun dandang gendis (*Clinacanthus nutans* (Burm.f.) Lindau) 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%, kemudian kelompok kontrol positif, dan kontrol negatif. Dengan $t =$ jumlah kelompok, $n =$ jumlah ulangan, dengan $t = 7$ maka jumlah pengulangan (n) yang dibutuhkan adalah 4.¹² Pembuatan infusa daun dandang gendis dilakukan dengan cara melarutkan 250 gram serbuk simplisia daun dandang gendis dalam penangas air yang berisi 250 ml akuades steril kemudian dipanaskan di atas penangas air dengan suhu 90°C selama 15 menit. Setelah itu disaring menggunakan kertas saring steril dan didapatkan infusa dengan konsentrasi 100%. Larutan infusa kemudian diencerkan dengan aquades steril untuk mendapatkan variasi konsentrasi 20%, 40%, 60% dan 80%.¹³

Aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode *disc diffusion* (Kirby-Bauer). Suspensi bakteri *Vibrio cholerae* diambil dengan cara mencelupkan kapas lidi steril kedalam wadah bakteri dan diinokulasikan dengan metode apus (*swab*) pada media MHA. Kemudian pada media yang telah disuspensikan bakteri, diletakkan kertas cakram yang telah direndam ke dalam sampel dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100%, kontrol positif Siprofloksasin 5 ug/disk, dan kontrol negatif aquades steril. Pada setiap media yang telah diinokulasikan bakteri uji, diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Biakan bakteri pada media MHA

diamati 1x24 jam, pada zona hambat yang terbentuk dilakukan pengukuran untuk mengetahui aktivitas dan sifat antibakteri dari infusa daun dandang gendis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

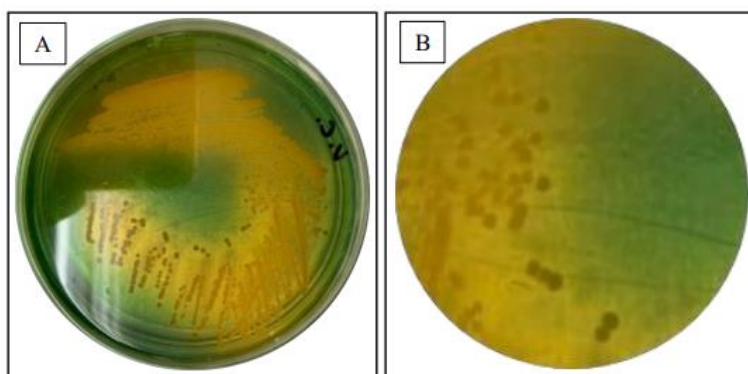
Determinasi tanaman dandang gendis dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura. Bagian tanaman yang digunakan untuk determinasi adalah akar, batang, dan daun. Berdasarkan uji determinasi diketahui tanaman dandang gendis berasal dari famili *Acanthaceae*, genus *Clinacanthus*, dan spesies *Clinacanthus nutans* (Burm. fil.) Lindau. Skrining Fitokimia dilakukan oleh Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura. Uji metabolit sekunder daun dandang gendis dilakukan secara kualitatif. Didapatkan daun dandang gendis mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid, tanin, dan fenolik. Jumlah secara kualitatif ditampilkan pada tabel.

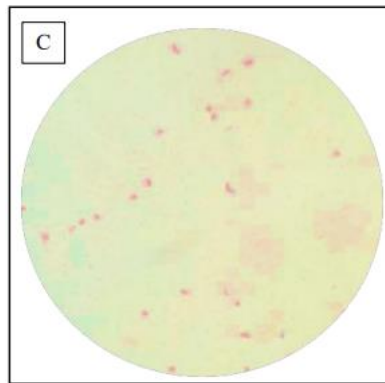
Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia daun Dandang Gendis

Parameter uji	Sampel
Alkaloid (mayer)	-
Alkaloid (wagner)	-
Alkaloid (dragendroff)	+
Flavonoid (Mg + HCl)	+
Saponin	++
Terpenoid	+
Steroid	-
Tanin	++
Fenolik	+++

Ket: tidak mengandung (-); kadar rendah (+); kadar cukup (++); kadar tinggi (+++). (Sumber Data Primer, 2020)

Karakteristik bakteri uji pada pengamatan makroskopik tampak koloni berbentuk bulat, sedikit pipih, berukuran 2-4 mm, dan memiliki tepian halus serta berkilau. Karakteristik bakteri uji pengamatan mikroskopik dengan perbesaran 1000x tampak bakteri basil Gram negatif dan berbentuk khas melengkung seperti tanda koma seperti yang ditampilkan pada gambar.





Gambar 1 Morfologi makroskopik dengan ciri khas koloni berwarna kuning (A), koloni berbentuk bulat pipih dengan tepian halus dan berkilau (B). Tampak mikroskopik bakteri Gram negatif, basil berbentuk melengkung seperti tanda koma (C).

Uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini menggunakan 7 kelompok perlakuan dengan variasi konsentrasi ekstrak infusa daun dandang gendis yaitu: 20%, 40%, 60%, 80%, 100%, kontrol negatif akuades steril dan kontrol positif siprofloksasin. Kemudian diujikan pada media MHA yang telah diinokulasikan

dengan bakteri *V. cholerae* menunjukkan zona hambat sebesar 0 mm pada setiap konsentrasi, kontrol positif yang diujikan pada media MHA menunjukkan rata-rata zona hambat sebesar 31,3 mm seperti yang tertera pada tabel.

Tabel 1. Diameter zona bening

No.	Konsentrasi (%)	Diameter Zona Hambat (mm)				Rata-rata (mm)	Keterangan
		Pengulangan ke-					
		I	II	III	IV		
1	20	0	0	0	0	0	Tidak ada zona hambat
2	40	0	0	0	0	0	Tidak ada zona hambat
3	60	0	0	0	0	0	Tidak ada zona hambat
4	80	0	0	0	0	0	Tidak ada zona hambat
5	100	0	0	0	0	0	Tidak ada zona hambat
6	Kontrol (-)	0	0	0	0	0	Tidak ada zona hambat
7	Kontrol (+)	32	31,3	30,6	31,3	31,3	Sensitif

(Sumber: Data Primer 2020)

Pengambilan daun dandang gendis dilakukan pada pagi hari pukul 10.00 - 12.00 WIB. Daun dandang gendis yang digunakan diambil dari budidaya tanaman di rumah peneliti yang sebelumnya

tanaman tersebut diambil dari jalan Tanjung Hulu Kota Pontianak, Provinsi Kalimantan Barat. Pengambilan daun pada pukul tersebut bertujuan untuk mendapatkan proses fotosintesis tanaman

yang maksimal, kandungan metabolit sekunder merupakan bentuk proteksi pada tanaman yang diproduksi saat fotosintesis berlangsung.¹⁴ Kemudian bagian tanaman yang diambil adalah daun yang masih dalam kondisi hidup, terkena paparan sinar matahari, berwarna hijau homogen dengan daun sekitarnya (tidak terlalu tua dan terlalu muda), bebas dari hama, dan kerusakan lainnya. Hal tersebut dilakukan dengan tujuan mengoptimalkan sampel daun yang akan digunakan. Banyaknya daun dandang gendis yang terkumpul yaitu sejumlah 2 kilogram.

Skrining fitokimia pada infusa daun dandang gendis dilakukan secara kualitatif untuk mencari kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada daun dandang gendis. Skrining dilakukan di Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura. Hasil skrining dengan beberapa uji menunjukkan infusa daun dandang gendis mengandung alkaloid dalam jumlah sedikit (+), flavonoid dalam jumlah sedikit (+), saponin dalam jumlah cukup (++), terpenoid dalam jumlah sedikit (+), tanin dalam jumlah cukup (++), dan fenol dalam jumlah banyak (+++). Dengan hasil demikian terdapat besar kemungkinan bahwa aktivitas biologik dari infusa daun dandang gendis akan lebih dominan dipengaruhi oleh senyawa fenol.

Pada hasil pemeriksaan koloni secara makroskopis didapatkan koloni khas berwarna kuning pada media *Thiosulfate Citrate Bile Salt Agar* (TCBS) yang disebabkan oleh *V. cholerae* yang memfermentasi sukrosa, koloni tersebut berbentuk bulat, sedikit pipih serta memiliki tepian yang halus dan berkilau.¹⁵ Kemudian pemeriksaan mikroskopis dilakukan dengan pewarnaan Gram dan didapatkan bakteri Gram negatif,

berbentuk melengkung seperti tanda koma.²

Proses peremajaan *V. cholerae* dilakukan pada media TCBS dikarenakan media tersebut selektif terhadap bakteri *V. cholerae*. TCBS berfungsi menghambat pertumbuhan bakteri lain yang tidak toleran terhadap kandungan di agar TCBS, *Thiosulfate* dan *citrate* yang terkandung di dalamnya berfungsi menghambat pertumbuhan *Enterobacteriaceae* seperti *E. coli* atau *Salmonella. spp* kemudian *Oxgall* yang merupakan campuran antara garam empedu dan *sodium cholate* berfungsi menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif. Sukrosa pada TCBS berfungsi sebagai karbohidrat yang akan digunakan pada metabolisme *V. cholerae* serta *bromthymol blue* berfungsi sebagai penanda perubahan pH yang terjadi pada media. Koloni yang tampak akan mencirikan kemampuan mereka dalam memfermentasi sukrosa dengan menunjukkan perubahan warna menjadi kuning. Perubahan pH yang terjadi saat proses fermentasi menyebabkan suasana asam yang memicu *bromthymol blue* memunculkan warna kuning pada media.¹⁶ Hal tersebut menjelaskan mengapa koloni bakteri vibrio yang tidak dapat memfermentasi sukrosa akan tampak berwarna hijau seperti bakteri *V. parahaemolyticus* sementara itu *V. cholera* akan tampak berwarna kuning yang menunjukkan kemampuannya dalam memfermentasi sukrosa pada media TCBS.¹⁷

Bakteri yang telah ditumbuhkan pada TCBS kemudian dilakukan pembuatan suspensi dengan menginokulasikannya secara aseptis ke dalam tabung berisi 5 ml larutan NaCl 0,9%. Suspensi tersebut kemudian disesuaikan secara kualitatif hingga memiliki kekeruhan yang setara dengan

larutan standar Mcfarland 0,5. Suspensi yang telah setara kemudian diinokulasikan dengan metode swab secara merata pada media *Meuller Hinton Agar* (MHA) yang telah dibuat sebelumnya. MHA merupakan media yang dijadikan standar dalam melakukan pengujian daya hambat bakteri dengan metode difusi cakram (*Kirby-Bauer*). Selain menjadi standar uji, menurut penelitian yang telah dilakukan sebelumnya media MHA menunjukkan kualitas yang lebih baik dalam menunjukkan ketepatan pengujian dibandingkan dengan media uji cakram lainnya seperti *Nutrient Agar* (NA).¹⁸

Uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini menggunakan metode difusi cakram. Terdapat lima kelompok perlakuan dengan variasi konsentrasi infusa daun dandang gendis 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% serta dua kelompok kontrol yaitu kontrol positif menggunakan siprofloksasin 5ug/disk dan kontrol negatif dengan menggunakan akuades steril.

Kontrol positif Siprofloksasin digunakan karena menjadi salah satu pilihan terapi kolera yang dianjurkan oleh *World Gastroenterology Organisation* (WGO).¹⁹ Berdasarkan uji sensitivitas yang dilakukan pada penelitian ini, siprofloksasin menunjukkan zona hambat rata-rata sebesar 31,3 mm yang menunjukkan antibakteri ini sensitif dan layak untuk digunakan sebagai kontrol positif pada penelitian ini. Antibiotik golongan fluorokuinolon bekerja dengan cara menghambat topoisomerase II (DNA gyrase) dan topoisomerase IV yang diperlukan oleh bakteri untuk replikasi DNA. Antibiotik golongan ini membentuk ikatan kompleks dengan masing-masing enzim dan DNA bakteri. Sifat inhibitor yang muncul menyebabkan efek sitotoksik dalam sel target. Mekanisme kerja yang berbeda dengan antibiotik pilihan lain

untuk penyakit kolera seperti doksisisiklin ataupun azitromisin membuat siprofloksasin menjadi pilihan antibiotik yang baik terbukti dengan hasil sensitif yang didapat setelah dilakukan pengujian.^{20,21}

Kontrol negatif yang digunakan adalah akuades steril yang tidak menunjukkan adanya daya hambat pada bakteri yang tumbuh di sekitar cakram. Penggunaan aquades steril sebagai kontrol negatif didasarkan pada penggunaannya sebagai pelarut dalam pembuatan infusa, sehingga dapat membuktikan bahwa penggunaan akuades steril sama sekali tidak menimbulkan aktivitas antibakteri. Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antibakteri infusa daun dandang gendis menunjukkan tidak adanya zona hambat yang terbentuk (0 mm) pada semua konsentrasi infusa yang diujikan, dapat disimpulkan bahwa infusa daun dandang gendis tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan *V. Cholerae*.

Pada penelitian ini peneliti menggunakan teknik ekstraksi infusa yang diketahui sebagai teknik yang sederhana, murah dan lebih menyerupai teknik pengolahan tanaman herbal yang dilakukan masyarakat pada umumnya. Selain dari kelebihanannya yang murah dan sederhana, teknik ekstraksi dengan cara infusa memiliki beberapa kelemahan yang dapat dilihat dari aspek suhu dan waktu selama ekstraksi berlangsung. Teknik infusa merupakan salah satu teknik ekstraksi yang memerlukan pemanasan dalam prosesnya, kelemahan metode ekstraksi dengan pemanasan adalah metode ini dapat merusak kandungan metabolit sekunder yang dapat terdegradasi saat pemanasan berlangsung.²² Meskipun diketahui infusa daun dandang gendis secara kualitatif memiliki kandungan senyawa metabolit,

namun tidak diketahui pasti konsentrasi tiap senyawa sehingga terdapat kemungkinan sejumlah besar senyawa aktif telah terurai selama proses pemanasan berlangsung. Dalam penelitian yang telah dilakukan juga menunjukkan bahwa metode ekstraksi infusa memiliki kemampuan yang jauh lebih rendah dalam menarik senyawa fenol serta flavonoid dibandingkan dengan metode ekstraksi lainnya seperti sokletasi dan maserasi.^{23,24} Kemudian penelitian sebelumnya telah menunjukkan pengaruh lama waktu yang digunakan untuk ekstraksi terhadap konsentrasi senyawa yang dapat ditarik. Hal ini dikarenakan pecahnya dinding sel pada bahan uji sehingga mengeluarkan senyawa terlarut ke dalam pelarut. Lama waktu ekstraksi akan mempengaruhi peningkatan kuantitas bahan yang terekstrak dikarenakan kesempatan untuk bersentuhan antara bahan dengan pelarut semakin makin besar sehingga hasilnya akan bertambah sampai titik optimum.²⁵ Penelitian yang telah dilakukan menunjukkan ekstraksi dengan suhu 80°C dan lama waktu 20 menit menunjukkan titik paling optimal kemudian apabila pemanasan dilakukan lebih lama terjadi penurunan yang signifikan terhadap kandungan metabolit sekunder.²⁶ Pada penelitian ini peneliti menggunakan pemanasan dengan suhu 90°C dan waktu 15 menit, dengan penggunaan waktu yang sedikit lebih cepat terdapat kemungkinan belum optimalnya senyawa metabolit sekunder yang dapat ditarik saat proses ekstraksi berlangsung serta suhu yang lebih tinggi memungkinkan terurainya senyawa metabolit. Pada penelitian juga dilakukan modifikasi pada proses pembuatan infusa dengan melarutkan serbuk simplisia dengan akuades steri 100 ml yang kemudian di panaskan pada 100 ml aquades yang telah di panaskan pada

suhu 90°C kemudian ditambahkan 100 ml selama pemanasan berlangsung secara bertahap. Hal tersebut kemungkinan berpengaruh terhadap hasil pengenceran yang menyebabkan konsentrasi infusa menjadi berbeda. Meskipun demikian beberapa penelitian sebelumnya para peneliti lain juga melakukan modifikasi pada infusa yang dikerjakan dan infusa yang digunakan dapat menunjukan efektifitas daya hambat terhadap patogen uji.^{27,28,29}

Pelarut yang digunakan pada penelitian kali ini adalah akuades steril. Pelarut tersebut memiliki sifat polar yang dapat menarik senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar juga, senyawa fenol yang memiliki kadar paling tinggi berdasarkan uji kualitatif pada ekstrak infusa daun dandang gendis merupakan senyawa polar sehingga dapat ditarik dengan pelarut akuades steril yang polar pula hal ini sesuai dengan prinsip kelarutan *like dissolve like*. Berdasarkan uji fitokimia yang dilakukan secara kualitatif pelarut akuades steril terbukti mampu menarik sejumlah senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar selain fenol seperti flavonoid, tanin, saponin, terpenoid, dan alkaloid meskipun tidak diketahui konsentrasi pasti dari tiap senyawa yang terdapat pada ekstrak. Namun pelarut akuades steril memiliki beberapa kelemahan diantaranya daya tahan infusa, efektivitasnya dalam menarik senyawa metabolit, jumlah redemen yang didapatkan serta konsentrasi metabolit sekunder yang rendah dibandingkan dengan pelarut lainnya. Daya tahan infusa segar hanya dapat bertahan selama 24 jam sebelum mikroba mulai tumbuh dan merusak ekstrak.³⁰ Kelemahan selanjutnya ada pada efektivitasnya dalam menarik senyawa metabolit pada ekstrak, hal ini dibuktikan melalui penelitian sebelumnya

yang menunjukkan bahwa pelarut semi-polar seperti etanol lebih efektif dalam menarik senyawa metabolit sekunder.³¹ Selain karena sifatnya yang hanya bisa menarik senyawa polar, redemen yang didapatkan dengan pelarut akuades steril juga lebih rendah jika dibandingkan pelarut lain seperti metanol, etanol dan aseton.²⁴ Penelitian lain juga telah membuktikan bahwa konsentrasi senyawa metabolit seperti flavonoid yang dapat ditarik oleh pelarut akuades steril memiliki kadar yang lebih rendah dibandingkan dengan pelarut lain seperti etanol dan metanol.³²

Berdasarkan hasil pengujian secara kualitatif yang telah dilakukan menunjukkan ekstrak daun dandang gendis memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid, tanin, dan fenol. Namun nilai kadar masing-masing metabolit sekunder tidak dapat diketahui karena tidak dilakukannya uji kuantitatif. Senyawa alkaloid mempunyai kemampuan antibakteri dengan mengganggu integritas komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri. Peptidoglikan adalah komponen penyusun dinding sel bakteri sehingga jika terdapat gangguan dalam penyusunannya akan menyebabkan lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel. Mekanisme kerja beberapa golongan alkaloid sudah diteliti seperti alkaloid golongan pergularinin dan tylophorinidine yang bekerja dengan menghambat sintesis asam nukleat, karena menghambat enzim reduktase dihidrofolat di dalam sel.³³

Flavonoid merupakan senyawa metabolik sekunder yang paling banyak ditemukan pada setiap ekstrak tumbuhan. Mekanisme kerja flavonoid sebagai senyawa antibakteri efektif dalam menghambat fungsi membran sel, flavonoid akan membentuk senyawa kompleks dari

protein ekstraseluler dan terlarut sehingga membran sel akan rusak dan senyawa intraseluler akan keluar.³⁴

Saponin sebagai antibakteri bekerja dengan mendenaturasi protein sel. Saponin dapat digunakan sebagai antibakteri dimana tegangan permukaan dinding sel bakteri akan diturunkan dan permeabilitas membran bakteri dirusak. Kelangsungan hidup bakteri akan terganggu akibat rusaknya membran sel. Kemudian saponin akan berdifusi melalui membran sitoplasma sehingga kestabilan membran akan terganggu yang menyebabkan sitoplasma mengalami kebocoran dan keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel.³⁵ Mekanisme kerja senyawa terpenoid sebagai zat antibakteri dapat menyebabkan kerusakan membran oleh senyawa lipofilik. Terpenoid dapat bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat dan merusak porin, mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri sehingga sel bakteri kekurangan nutrisi, pertumbuhan bakteri terhambat atau mati.³⁶

Tanin bekerja dengan menginaktifkan adhesin serta enzim pada sel mikrob, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel 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.³⁷ Tanin yang akan terurai pada suhu 98,89°C – 101,67°C. Pemanasan infusa membutuhkan suhu 90°C dimana terdapat kemungkinan sejumlah besar kandungan tanin didalam infusa telah terurai.³⁸ Senyawa fenol pada ekstrak daun dandang gendis diperkirakan memiliki aktivitas

antibakteri paling dominan. Fenol memiliki mekanisme antibakteri dengan merusak membran sitoplasma dan dapat menyebabkan kebocoran inti sel.³⁸ Meskipun secara kualitatif ekstrak daun dandang gendis memiliki beberapa senyawa metabolit sekunder yang dapat berperan sebagai antibakteri, namun secara kuantitatif tidak diketahui jumlah kadar dari metabolit sekunder yang ada sehingga terdapat kemungkinan bahwa tidak adanya aktivitas antibakteri dipengaruhi oleh tidak adekuatnya senyawa yang ada dalam memunculkan aktivitas antibakteri.

Bakteri *V. cholerae* merupakan bakteri patogen yang memiliki mekanisme pertahanan yang dapat mencegah aktivitas antibakteri terjadi. Terdapat beberapa mekanisme pertahanan yang memungkinkan tidak terjadinya aktivitas antibakteri yang diharapkan. Imunitas spontan merupakan satu diantara pertahanan yang dimiliki *V. cholerae*, berdasarkan pada beberapa penelitian yang telah dilakukan bakteri *V. cholerae* menunjukkan mutasi pada kromosomnya yang memberikan kemampuan untuk membentuk dinding sel yang menghambat kerja obat antibiotik alafosfalin serta membentuk replikasi DNA yang menghambat kerja antibakteri golongan quinolon.³⁹ Terdapat kemungkinan dimana reaksi imunitas spontan ini menyebabkan tidak terjadinya aktivitas antibakteri pada penelitian ini. Kemudian bakteri *V. cholerae* memiliki gen resisten yang berfungsi melindungi dirinya dari efek inhibitor dari agen antibakteri. Gen resisten tersebut bekerja dengan membentuk protein transpor membran untuk mencegah antibiotik memasuki sel, atau melakukan pemompaan untuk mengeluarkan agen antibakteri sesegera mungkin saat masuk ke dalam sel, sehingga

mencegah kontak dengan targetnya.⁴⁰ Meskipun belum diketahui secara jelas tetapi berdasarkan penelitian yang telah dilakukan *V. cholerae* juga memiliki kemampuan unik untuk merubah gaya bertahan hidup koloninya dari motil menjadi suatu bentuk komunitas sel-sel yang saling berlekatan pada substrat atau terhadap satu sama lainnya yang biasa disebut sebagai biofilm.⁴¹ Berkurangnya motilitas tersebut dipengaruhi oleh menurunnya regulasi gen yang mengekspresikan motilitas untuk membentuk struktur biofilm. Struktur biofilm ini sangat berpengaruh terhadap kemampuan penetrasi antibakteri, adanya perubahan lingkungan kimiawi serta perubahan osmotika melalui perubahan proporsi relatif dari porin akan mengurangi permeabilitas sel bakteri terhadap zat antibakteri.⁴⁰ Hal tersebut dapat menyebabkan tidak adanya aktivitas antibakteri pada uji yang dilakukan.

Beberapa faktor yang telah dijabarkan seperti penggunaan ekstraksi dan pelarut, kandungan metabolit sekunder yang tidak adekuat, serta mekanisme pertahanan yang dimiliki oleh bakteri *V. Cholerae* merupakan kemungkinan yang dapat mempengaruhi tidak ditemukannya aktivitas antibakteri infusa daun dandang gendis (*Clinacanthus nutans* (Burm.f.) Lindau) terhadap bakteri *V. Cholerae*.

SIMPULAN

Tidak ada aktivitas antibakteri infusa daun dandang gendis terhadap pertumbuhan bakteri *V. Cholerae*. Konsentrasi efektif dari infusa daun dandang gendis dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. cholerae* tidak dapat ditentukan. Kandungan metabolit sekunder yang terdapat infusa daun dandang gendis

adalah alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid, tanin, dan fenol. Metabolit sekunder dominan adalah fenol.

DUKUNGAN FINANSIAL

Penulis tidak mendapat dana bantuan dalam penelitian ini.

UCAPAN TERIMA KASIH

DAFTAR PUSTAKA

1. Yoon S hun, Waters CM. *Vibrio cholerae*. Trends in microbiology. 2019;27(9):806
2. Carroll KC, Hobden JA. Jawetz, Melnick and Adelberg's Medical Microbiology. 28th ed. Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology. McGraw-Hill Education; 2019.
3. Guli M. Patogenesis penyakit kolera pada manusia. Jurnal Biocelebes. 2016;10(2):18–24.
4. WHO. Weekly epidemiological record. Weekly Epidemiological Record [Internet]. 2018;93(38):489–500. Available from: <http://www.who.int/wer>
5. Davies HG, Bowman C, Luby SP. Cholera - management and prevention. Journal of Infection. 2017 Jun;74:S66–73.
6. Kitaoka M, Miyata ST, Unterweger D, Pukatzki S. Antibiotic resistance mechanisms of *Vibrio cholerae*. Journal of Medical Microbiology. 2011;60(4):397–407.
7. Mohammed Y, Aboderin AO, Okeke IN, Olayinka AT. Antimicrobial resistance of *Vibrio cholerae* from sub-Saharan Africa: a systematic review. African Journal of Laboratory Medicine. 2018 Dec 6;7(2):1–7.
8. Irwanta E, Hikmat A, Zuhud EAM. Keanekaragaman simplisia nabati dan obat tradisional yang diperdagangkan di Kabupaten Pati, Jawa Tengah. 2015;20(3):197–204.
9. Zulkipli IN, Rajabalaya R, Idris A, Sulaiman NA, David SR. *Clinacanthus nutans*: a review on ethnomedicinal uses, chemical constituents and pharmacological properties. Pharmaceutical Biology. 2017;55(1):1093–113.
10. Alam A, Ferdosh S, Ghafoor K, Hakim A, Juraimi AS, Khatib A, et al. *Clinacanthus nutans*: a review of the medicinal uses, pharmacology and phytochemistry. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. 2016;9(4):402–9.
11. Mhd. Riza Marjoni, Afrinaldi DNA. Kandungan total fenol dan aktivitas antioksidan ekstrak air daun kersen (*Muntingia calabura* L.). Yarsi medical Journal. 2015;23(32):187–1962.
12. Federer W. Experimental design theory and application. Calcutta: Oxford & IBH; 1967.

13. Nadifah F, Fatimah S, Lamablawa IYB. Pengaruh infusa daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* secara in vitro. *Journal of Health (JoH)*. 2014;1(1):29–31.
14. Hamsa A, Aulawi T, Solfan B. Perbedaan Waktu Pemanenan Terhadap Mutu Kimia Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & PAV). *Jurnal Pertanian Indonesia*. 2020;1(2):33–42.
15. Centers for Disease Control and Prevention. Isolation of *Vibrio cholerae* from Fecal Specimens laboratory methods for the diagnosis of *vibrio cholerae*. CDC [Internet]. 2016;17–26. Available from: <https://www.cdc.gov/cholera/pdf/laboratory-methods-for-the-diagnosis-of-vibrio-cholerae-chapter-4.pdf>
16. Zimbro MJ, Power DA, Miller SM, Wilson GE, Johnson JA. Difco & BBL Manual: Manual of Microbiological Culture Media [Internet]. 2nd ed. Citeseer. Maryland; 2009. 530–531 p.
17. Ihsan B, Retnaningrum E. Isolasi dan identifikasi bakteri *Vibrio* sp. pada kerang kapah (*Meretrix meretrix*) di kabupaten trenggalek. *Jurnal Harpodon Borneo*. 2017;10(1):23.
18. Nassar MSM, Hazzah WA, Bakr WMK. Evaluation of antibiotic susceptibility test results: How guilty a laboratory could be? *Journal of the Egyptian Public Health Association*. 2019;94(1):1–5.
19. World Gastroenterology Organisation. Acute Diarrhea in Adults and Children: A Global Perspective. Farthing PM, Salam PM, editors. United Kingdom: World Gastroenterology Organisation; 2012.
20. Raini M. Antibiotik golongan fluorokuinolon: manfaat dan kerugian. *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*. 2017;26(3):163–74.
21. Lazzerini M. Evidence Based Treatment of Cholera : A Review of Existing Literature. 2014;(May).
22. Rasul MG. Conventional Extraction Methods Use in Medicinal Plants, their Advantages and Disadvantages. *International Journal of Basic Sciences and Applied Computing*. 2018;(6):10–4.
23. Luliana S, Riza H, Indriyani EN. The Effect of Extraction Method on Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Salam Leaves (*Syzygium polyanthum*) using DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhidrazil). *Majalah Obat Tradisional*. 2019;24(2):72.
24. Chávez-González ML, Sepúlveda L, Verma DK, Luna-García HA, Rodríguez-Durán L V., Iliina A, et al. Conventional and emerging extraction processes of flavonoids. *Processes*. 2020;8(4).
25. Kemit N, Widarta IWR, Nocianitri KA. Kandungan senyawa flavonoid dan aktivitas antioksidan ekstrak daun alpukat (*Persea Americana* Mill). *Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana*. 2010;130–41.
26. Narsih N, Agato A. Efek Kombinasi Suhu Dan Waktu Ekstraksi Terhadap

- Komponen Senyawa Ekstrak Kulit Lidah Buaya. *Jurnal Galung Tropika*. 2018;7(1):75.
27. Widaningrum. Uji potensi anti fungi infusa daun sirih merah (*piper crocatum ruiz&pav*) terhadap *candida albicans atcc 10231* secara *in vitro*. Vol. 1. Universitas Sanata Dharma; 2008.
 28. Ainia N. Uji Fitokimia Infusa Pekat Buah Pare (*Momordica charantia L.*) dan Pengaruh Lama Terapi dengan Variasi Dosis Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Aloksan. Central Library of Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang. 2017;1–161.
 29. Hamad A, Jumitera S, Puspawiningtyas E, Hartanti D. Aktivitas Antibakteri Infusa Kemangi (*Ocimum basilicum L.*) Pada Tahu dan Daging Ayam Segar. *Inovasi Teknik Kimia*. 2017;2(1):1–8.
 30. Handa SS, Khanuja SPS, Longo G, Rakesh DD, editors. *Extraction technologies for medical and aromatic plants*. Trieste: International Center For Science And High Technology; 2008.
 31. Verdiana M, Widarta IWR, Permana IDGM. Pengaruh jenis pelarut pada ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik terhadap aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah lemon (*Citrus limon (Linn.) Burm F.*). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)*. 2018;7(4):213.
 32. El Houda Lezoul N, Belkadi M, Habibi F, Guillén F. Extraction processes with several solvents on total bioactive compounds in different organs of three medicinal plants. *Molecules*. 2020;25(20).
 33. Artika IM. Antibacterial Activity and Phytochemical Analysis of *Geranium homeanum Turez Leaves*. 2017;4(3):13–22.
 34. Nomer NMGR, Duniaji AS, Nocianitri KA. Kandungan senyawa flavonoid dan antosianin ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) serta aktivitas antibakteri terhadap *Vibrio cholerae*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)*. 2019;8(2):216.
 35. Sudarmi K, Darmayasa IBG, Muksin IK. Uji fitokimia dan daya hambat ekstrak daun juwet (*Syzygium cumini*) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus ATCC*. *SIMBIOSIS Journal of Biological Sciences*. 2017;5(2):47.
 36. Haryati N, Saleh C, Erwin. Uji toksisitas dan aktivitas antibakteri ekstrak daun merah tanaman pucuk merah (*Syzygium Myrtifolium Walp.*) terhadap bakteri *staphylococcus aureus* dan *escherichia coli*. *Jurnal Kimia Mulawarman*. 2015;13(1):35–40.
 37. Ngajow M, Abidjulu J, Kamu VS. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In vitro*. *Jurnal MIPA*. 2013;2(2):128.
 38. Isnawati AP, Retnaningsih A. Perbandingan teknik ekstraksi maserasi dengan infusa pada

- pengujian aktivitas daya hambat daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Farmasi Malahayati*. 2018;1(1):19–24.
39. Kitaoka M, Miyata ST, Unterweger D, Pukatzki S. Antibiotic resistance mechanisms of *Vibrio cholerae*. *Journal of Medical Microbiology*. 2011;60(4):397–407.
40. Pratiwi RH. Mekanisme Pertahanan Bakteri Patogen Terhadap Antibiotik. *Jurnal Pro-Life*. 2017;4(3):418–29.
41. Silva AJ, Benitez JA. *Vibrio cholerae* Biofilms and Cholera Pathogenesis. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 2016;10(2):1–25.