

IDENTIFICATION OF ACTIVE CHEMICAL COMPONENTS OF ETHANOL EXTRACT OF PAINTED NETTLE LEAVES (*COLEUS SCUTELLARIOIDES L. BENTH*) AGAINST GASTROINTESTINAL INFECTION BACTERIA USING TLC-BIOAUTOGRAPHY AND AGAR DIFFUSION METHOD

Fhadillah Junaedi¹, Rachmat Kosman¹, Herwin¹

¹ Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, South Sulawesi, 90231, Indonesia

Article info Received: 06/08/2022 Review: 08/11/2022 Available online:04/05/2023	ABSTRACT <i>Infectious diseases are one of the public health problems caused by the transmission and multiplication of microorganisms. The research on the antibacterial activity of painted nettle leaves (<i>Coleus scutellarioides L. Benth</i>) extracts was carried out to examine the activity and chemical components that provide inhibition against gastrointestinal infection bacteria. The extraction of painted nettles leaves performed maceration method using a solvent of 96%. The extraction results were examined to determine the antibacterial activity at 1% concentration of the test bacteria: <i>Escherichia coli</i>, <i>Salmonella thypi</i>, and <i>Shigella dysenteriae</i>. The results showed that 96% ethanol extract of painted nettle leaves inhibited <i>Escherichia coli</i>, <i>Salmonella thypi</i>, and <i>Shigella dysenteriae</i>. The research conducted using agar diffusion indicated that painted nettle leaf extract showed activity against bacteria and had highly strong potential with diameters of 6-20 mm. The results of Thin Layer Chromatography (TLC) Bioautography test of ethanol extract of painted nettle leaves using chloroform:methanol eluent (3:1) showed inhibition of <i>Escherichia coli</i>, <i>Shigella dysenteriae</i>, and <i>Salmonella thypi</i> at Rf values of 0.90, 0.80, 0.56. Therefore, the identification test confirmed that the chemical components providing antibacterial are from flavonoids, phenols, terpenoids, alkaloids, and steroid.</i>
Corresponding Author: Fhadillah Junaedi Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, South Sulawesi, Indonesia email: fhdlly@gmail.com	
Keyword:	<i>Identification of chemical components, painted nettle leaves, gastrointestinal bacteria, TLC-Bioautography and Agar diffusion</i>



Copyright ©2023 by Author
Journal Microbiology Science by Faculty of Pharmacy Universitas Muslim Indonesia is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

PENDAHULUAN

Prevalensi penyakit infeksi masih cukup tinggi, salah satu penyebabnya karena biaya pengobatan yang cukup tinggi sehingga belum dapat terjangkau khususnya sebagai Antimikroba dengan harapan dapat menekan harga obat. Saat ini banyak obat tradisional yang digunakan masyarakat, tetapi belum di dukung oleh penelitian secara ilmiah. Pada umumnya masyarakat menggunakan obat tradisional

berdasarkan pengalaman empiris, belum didasarkan pada hasil penelitian secara ilmiah (pembuktian ilmiah). Tanaman obat dapat menjadi sumber bahan baku obat. Oleh karena itu perlu diadakan penelitian untuk mengetahui secara pasti manfaat dan khasiat obat tradisional¹.

Salah satu tanaman yang secara empiris efektif selaku tanaman obat merupakan Daun Iler (*Coleus scutellarioides L. Benth*) Tanaman ini awal

mulanya berasal dari Asia tenggara serta ditemui berkembang liar pada tempat-tempat lembab serta terbuka semacam, dipinggir selokan, pematang sawah, ataupun tepi jalur pedesaan. Daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth) tercantum suku Lamiaceae. ¹ Untuk pengobatan, yang dimanfaatkan merupakan bagian daunnya ².

Kandungan kimia Daun iler mempunyai kandungan minyak atsiri, fenol, lemak, alkaloid, flavonoid, saponin, polifenol, phytosterol, tanin, serta kalsium oksalat. Khasiatnya ialah membatasi perkembangan kuman(antiseptic). Digunakan buat penyembuhan sembelit, bisul, kendala pencernaan makanan, sembelit, diare, kencing manis(diabet mellitus), demam, peluruh haid, keputihan, cacingan, radang telinga serta penetralisir toksin(antitoksik) ¹

Pada penelitian sebelumnya oleh Selly Alvionita Tanjung, 2019 didapatkan hasil bahwa pengamatan dan pengukuran zona hambatan ekstrak etanol Daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth) terhadap bakteri Penyebab infeksi saluran pencernaan (*Escherichia coli*), maka dapat disimpulkan bahwa, ekstrak etanol Daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth) mempunyai efek antibakteri terhadap bakteri penyebab infeksi saluran pencernaan (*Escherichia coli*). Ekstrak etanol daun iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth) dengan konsentrasi 50% dan 60%

dapat menghambat pertumbuhan bakteri penyebab infeksi saluran pencernaan (*Escherichia coli*)

METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Autoklaf(SMIC Model YX-280 B), Cawan petri (Normax). Batang pengaduk, chamber, Lempeng KLT, gelas Erlenmeyer (Iwaki Pyrex), gelas kimia (Iwaki Pyrex), incubator (Memert), Laminar Air Flow (LAF), lampu spiritus, lampu UV254 nm dan lampu UV366 nm (Philips), oven (Memert), pipa kapiler, rotavapor, ose bulat, timbangan analitik (Chyo), dan vial. Adapun bahan yang digunakan adalah aquadest, bakteri uji *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, dan *Salmonella thypi*, Etanol 96%, kertas saring, Kloroform, Lempeng KLT gel 60 F₂₅₄, Medium Nutrien Agar (NA), Nutrien Broth (NB). Methanol, Pereaksi warna Dragendrof, Lieberman Buchard, Besi (III) Klorida, Aluminium klorida, Asam sulfat

Pengambilan sampel dan penyiapan sampel

Sampel penelitian yang digunakan berupa daun iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth) diperoleh di Kota Makassar, Sulawesi selatan. Daun iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth) yang telah dikumpulkan dibersihkan dari pengotor, selanjutnya dicuci dibawah air mengalir sampai bersih, ditiriskan, kemudian dikeringkan, anginkan selama 2

hari. Daun iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth) yang telah kering sebagian dibuat menjadi serbuk menggunakan blender hingga diperoleh serbuk yang halus dan seragam.³

Ekstraksi Daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth) Secara Maserasi

Ekstraksi Daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth) dibuat dengan cara maserasi. Sebanyak 200 gram serbuk simplisia Daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth) dimasukkan kedalam toples steril, kemudian direndam dengan larutan etanol 96% p.a sebanyak 1000 ml, ditutup dengan aluminium foil dan dibiarkan selama 3 sehari sambil sesekali diaduk setiap hari. Setelah 3 hari sampel yang direnda tersebut kemudian disaring menggunakan kertas saring menghasilkan filtrate, lalu di evaporasi menggunakan rotary evaporator, sehingga diperoleh ekstrak kental Daun Iler. Kemudian rendam kembali filtrate yang sebelumnya menggunakan etanol 96% sebanyak 1000 ml lalu lakukan hal yang sama seperti sebelumnya sampai memperoleh ekstrak kental yang diinginkan. Ekstrak ditimbang dan disimpan dalam wadah tertutup sebelum digunakan untuk pengujian.³

Penyiapan bakteri uji

Peremajaan bakteri uji

Peremajaan kultur murni bakteri uji, bakteri diambil dari biakan masing- masing satu ose kemudian diinokulasikan pada

medium Nutrient Agar (NA) miring. Masing-masing bakteri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah itu dapat digunakan sebagai bakteri uji.⁴

Pembuatan suspensi bakteri uji

Bakteri uji hasil peremajaan masing-masing disuspensikan dengan larutan NaCl fisiologis 0,9% dan dimasukkan kedalam kuvet. Kemudian diukur transmittannya dengan menggunakan alat spektrofotometer dengan panjang gelombang 580 nm pada 25% untuk bakteri. Sebagai blanko digunakan NaCl fisiologis 0,9% steril.⁴

Uji skrining antibakteri

Pada tahap uji skrining ekstrak Daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth) ditimbang sebanyak 10 mg lalu dilarutkan dengan DMSO sebanyak 0,2 mL. Setelah larut ditambahkan medium NA 9,8 ml sehingga diperoleh konsentrasi 1 %. Campuran tersebut dituang kedalam cawan petri lalu dihomogenkan dan dibiarkan memadat. Mikroba yang telah disuspensikan, masing-masing diambil dengan menggunakan 1 ose bulat lalu digoreskan diatas medium. Kemudian di inkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam. Setelah itu diamati aktivitas antimikro yang ditandai dengan ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri.⁵

Pengujian antibakteri secara difusi agar Uji konsentrasi hambatan minimum (KHM)

Pengujian KHM dilakukan terhadap bakteri yang memberikan hasil positif (+) pada uji skrining aktivitas antibakteri dari ekstrak Daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth). Sampel ditimbang dengan konsentrasi 0,5%, 1%, 2%, 4%, 8%, 16%, 32% yang akan dibuat terhadap 5 ml medium NB dalam vial, dilarutkan dengan DMSO, ditambahkan 5 ml NB, dihomogenkan dan dimasukkan kedalam tabung reaksi steril, selanjutnya dimasukkan mikroba uji yang positif pada uji skrining antibakteri kedalam tiap tabung. Konsentrasi terendah dari sampel ekstrak Daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth) dengan parameter larutan tampak jernih setelah inkubasi dinyatakan sebagai harga KHM.⁵

Uji konsentrasi bunuh minimum

Hasil inkubasi pada uji KHM kemudian digoreskan pada medium Na pada Cawan Petri, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam. Pada konsentrasi terendah Daun iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth) yang bersifat antibakteri dimana apabila hasilnya berupa daerah tanpa pertumbuhan setelah inkubasi menunjukkan harga KBM.⁵

Uji antibakteri secara difusi agar

Medium NA steril yang telah dipanaskan dan disterilkan kemudian didinginkan hingga suhu 40-50°C. Dimasukkan secara aseptis ke dalam cawan petri sebanyak 10 ml dan 1 ose suspensi bakteri, lalu dihomogenkan dengan

memutar cawan petri, didiamkan hingga memadat, kemudian disk blank yang telah ditetesi dengan ekstrak Daun iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth) dengan beberapa variasi konsentrasi sebanyak 20 µl diletakkan secara aseptis selanjutnya diinkubasi bakteri pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam dalam inkubator, kemudian dilakukan pengamatan dan pengukuran zona hambatan yang terbentuk.⁵

Pemisahan secara kromatografi lapis tipis (KLT)

Ekstrak kental Daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth) diidentifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan menggunakan perbandingan eluen kloroform : metanol (3 : 1). Kemudian ekstrak methanol Daun iler tersebut ditotolkan pada lempeng KLT gel F254 dengan menggunakan pipa kapiler. Kromatogram yang dihasilkan diamati bercaknya dibawah dibawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm.⁶

Pengujian antibakteri secara KLT-Bioautografi

Medium Nutrien Agar (NA) steril sebanyak 10 mL diinokulasikan dengan bakteri uji sebanyak 0,2 mL dan dituang ke dalam cawan petri steril dan dilakukan secara aseptis. Setelah medium agar memadat, lempeng KLT yang telah dielusikan diletakkan diatas permukaan medium agar. Setelah 30 menit, lempeng tersebut tersebut dipindahkan. Cawan petri kemudian

diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona hambatan terlihat pada medium agar.⁷

Identifikasi komponen kimia aktif

Alkaloid : Kromatogram disemprot dengan pereaksi Dragendorff. Apabila positif menghasilkan noda berwarna coklat atau jingga.⁸ , Flavanoid : Kromatogram diberikan penampang noda yaitu AlCl₃. Apabila menimbulkan noda berwarna kuning (cepat memudar) maka mengandung flavonoid.⁸ , Steroid : Kromatogram disemprot dengan penampang noda, yaitu Lieberman buchard. Apabila muncul noda berwarna hijau-biru maka positif mengandung senyawa steroid.⁸ , Terpenoid : Kromatogram disemprot dengan penampang noda yaitu Anisaldehyd asam sulfat. Jika menghasilkan warna ungu-merah atau ungu setelah penyemprotan pereaksi menunjukkan adanya terpenoid/steroid dalam sampel.⁸ , Tanin : Kromatogram disemprotkan dengan pereaksi FeCl₃ apabila menunjukkan warna hitam maka positif tannin.⁹

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah Daun Iler yang diperoleh langsung dari Makassar, Sulawesi selatan.

Hasil determinasi dari Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia menunjukkan bahwa sampel Daun Iler adalah jenis *Coleus scutellarioides* L. Benth) dari suku Lamiaceae.

Bagian dari tanaman iler yang biasa dimanfaatkan sebagai obat adalah daunnya. Daun iler mengandung minyak atsiri, fenol, tanin, lemak, dan filosterol. Selain itu, daun iler mengandung alkaloid, flavanoid, dan polifenol yang bersifat sebagai antibakteri.¹⁰

Selanjutnya dilakukan peremajaan bakteri untuk mendapatkan bakteri yang aktif, karena suatu bakteri yang sebelumnya berada didalam lemari pendingin berada dalam kondisi inaktif dan untuk mendapatkan biakan yang baru dan muda, sehingga dapat berkembang biak dengan baik da dapat digunakan sesuai dengan fungsinya. Peremajaan bakteri dilakukan didalam Laminar Air Flow (LAF) secara aseptis didekat api bunsen. Hal ini bertujuan untuk mematikan mikroorganisme lain yang tidak diinginkan.¹¹

Bakteri yang telah diremajakan kemudian dibuat suspensi dengan cara mengukur transmitemnya dengan larutan

Table 1. Hasil ekstraksi Daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth)

Jenis Sampel	Berat Simplisia (g)	Volume Pelarut (mL)	Berat Ekstrak (g)	Persen Rendamen (%)
Daun Iler (<i>Coleus scutellarioides</i> L. Benth)	200	2000	8,5	3,4

Table 2. Hasil skrining antibakteri ekstrak etanol Daun iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth)

Replikasi	Bakteri Uji		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Salmonella thypi</i>
Replikasi 1	+	+	+
Replikasi 2	+	+	+

Keterangan :

+ = Menghambat pertumbuhan bakteri

Table 3. Hasil Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth)

Bakteri uji	Konsentrasi (%)							Nilai KHM
	0,5%	1%	2%	4%	8%	16%	32%	
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	+	+	16%
<i>Shigella dysenteriae</i>	-	-	-	+	+	+	+	4%
<i>Salmonella thypi</i>	-	-	-	-	-	+	+	16%

Keterangan :

+ = Menghambat pertumbuhan bakteri; - = Tidak Menghambat pertumbuhan bakteri

fisiologis diukur transmittan pada 25% untuk bakteri menggunakan spektrofotometri UV-Visibel sebagai blangko digunakan larutan yang terbuat dari garam NaCl yang umumnya memiliki kisaran konsentrasi 0,9% b/v NaCl. Larutan fisiologis digunakan agar bakteri tetap berada dalam keadaan steril dan menghindari kontaminasi dengan mikroorganisme lain. Karena pertumbuhan bakteri peka terhadap kondisi pH, maka larutan fisiologis diperlukan dengan tujuan untuk mempertahankan kondisi pH. Dan menjaga sel bakteri dalam keadaan isotonis, jika sel dalam keadaan hipotonis atau hipertonis sel bakteri akan pecah dan akan

mempengaruhi hasil pada saat pengujian.¹²

Adapun hasil yang didapatkan pada konsentrasi 1% hasil positif mampu menghambat bakteri uji *Escherichia coli*, *Salmonella thypi*, dan *Shigella dysenteriae*. Pengujian skrining ini dilkakukan untuk melihat potensi ekstrak antibakteri terhadap bakteri uji dengan melihat ada tidaknya zona hambat yang dihasilkan.

Setelah diperoleh hasil skrining kemudian dilanjutkan dengan penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) yang bertujuan untuk mengetahui konsentrasi minimum ekstrak Daun iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth) yang

Table 4. Hasil pengujian konsentrasi bunuh minimum (KBM) ekstrak etanol daun iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth)

Bakteri uji	Konsentrasi (%)							Nilai KHM
	0,5%	1%	2%	4%	8%	16%	32%	
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	+	+	16%
<i>Shigella dysenteriae</i>	-	-	-	+	+	+	+	4%
<i>Salmonella thypi</i>	-	-	-	-	-	+	+	16%

Keterangan :

+ = Menghambat pertumbuhan bakteri; - = Tidak Menghambat pertumbuhan bakteri

dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, dan *Salmonella thypi* dengan masing-masing konsentrasi 0,5%, 1%, 2%, 4%, 8%, 16%, dan 32%. Hasil pengujian KHM dapat dilihat pada Tabel 3

Nilai KHM yang diperoleh pada ekstrak Daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth) terhadap bakteri *Escherichia coli* adalah pada konsentrasi 16%, *Shigella dysenteriae* adalah pada konsentrasi 4%, *Salmonella Thypi* adalah pada konsentrasi 16%. Selanjutnya dilakukan pengujian Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dengan tujuan untuk menentukan nilai konsentrasi bunuh minimum dari suatu sampel dalam menghambat bakteri uji dengan menunjukkan hasil dari Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ke medium Nutrient Agar (NA) secara goresan pada cawan petri.

KBM merupakan pengujian yang dimaksudkan untuk melihat kadar Bunuh Minimum dari suatu sampel yang masih dapat membunuh bakteri merupakan nilai KBM yang ditunjukkan dengan ada

tidaknya pertumbuhan bakteri pada medium setelah diinkubasi. Dari pengujian tersebut diperoleh nilai KBM 32% untuk bakteri *Escherichia coli*, 8% untuk bakteri *Shigella dysenteriae*, dan 32% untuk bakteri *Salmonella thypi*, berdasarkan nilai KBM yang diperoleh yang lebih aktif pada konsentrasi terendah memiliki sensitivitas terhadap ekstrak etanol daun iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth) yaitu bakteri *Shigella dysenteriae*

Setelah dilakukan uji KBM dan didapatkan hasil maka dilanjutkan dengan uji aktivitas antibakteri secara difusi agar. Tujuan dilakukan uji antibakteri secara difusi agar yaitu untuk melihat zona hambat dari sampel ekstrak Daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth) terhadap bakteri Uji *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, dan *Salmonella thypi*. Pada metode difusi agar kali ini menggunakan kontrol positif (kloramfenikol) dan kontrol negatif (air steril) untuk setiap bakteri uji *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, dan *Salmonella thypi*. Disini tidak menggunakan DMSO sebagai kontrol negatifnya karena DMSO

Table 5. Hasil pengujian diameter zona hambat ekstrak etanol Daun iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth)

Bakteri uji	Konsentrasi (%)						
	0,5%	1%	2%	4%	8%	16%	32%
<i>Escherichia coli</i>	7,1	9,12	13,6	15,07	16,45	17,57	19,27
<i>Shigella dysenteriae</i>	6,64	8,58	11,02	12,85	15,45	15,88	18,02
<i>Salmonella thypi</i>	6,51	9,92	13,77	14,70	16,19	17,91	20,04

merupakan pelarut bersifat semipolar yang dapat melarutkan komponen kimia polar dan nonpolar tanpa memberikan penghambatan serta tidak toksik terhadap mikroba uji. Kontrol negatif ini digunakan untuk melihat apakah air steril sebagai pelarut turut memberikan pengaruh pada zona hambat yang terbentuk atau tidak. Sedangkan pada kontrol positif (+) yang digunakan adalah kloramfenikol dengan konsentrasi 30 µg. Dimana cara kerja kloramfenikol yaitu bekerja dengan menghambat sintesis protein pada sel bakteri. Mekanismenya yaitu kloramfenikol akan berikatan secara reversibel dengan uni ribosom¹³. Alasan penggunaan kloramfenol ini yaitu kloramfenikol merupakan antibiotik yang memiliki spectrum luas. Kloramfenikol dapat bekerja dengan menghambat bakteri gram positif dan negatif. Hasil pengujian secara difusi agar dapat dilihat pada Tabel 5.

Klasifikasi respon zona hambatan berdasarkan diameter zona bening yang terdiri dari empat kelompok yaitu respon

lemah (diameter < 5 mm), sedang (diameter 6-10 mm), dan sangat kuat (diameter > 20 mm). Dari penelitian yang dilakukan diperoleh bahwa identifikasi komponen kimia aktif ekstrak daun iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth) memiliki aktivitas terhadap bakteri uji dan memiliki potensi sangat kuat dengan diameter berkisar 6-20 mm.

Faktor-faktor yang menyebabkan perbedaan zona hambat yaitu perbedaan konsentrasi yang dimana semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk. Tempat pengujian yang dilakukan berbeda-beda sehingga mempengaruhi hasil dan faktor tempat tumbuh dari tanaman karena lokasi dari tanaman yang berbeda akan menghasilkan kandungan senyawa metabolit yang berbeda sehingga aktivitas yang dimiliki akan berbeda.

Kemudian dilakukan pengujian pemisahan senyawa secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Pengujian merupakan salah satu metode yang digunakan untuk

Table 7. Hasil pengujian ekstrak etanol Daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth) secara KLT-Bioautografi

No.	Nilai Rf	Bakteri yang dihambat	Komponen kimia
1.	0,90	<i>E. coli</i> , <i>S. dysenteriae</i> , <i>S. typhi</i>	Alkaloid
2.	0,80	<i>E. coli</i> , <i>S. dysenteriae</i> , <i>S. typhi</i>	Fenol, Flavanoid
3.	0,56	<i>E. coli</i> , <i>S. dysenteriae</i> , <i>S. typhi</i>	Fenol, Terpenoid, Flavanoid, Steroid

melakukan pemisahan senyawa dengan prinsip yang didasarkan pada senyawa yang hendak dipisahkan terhadap fase diam atau fase gerak yang digunakan. Larutan atau campuran larutan yang digunakan dinamakan eluen. Semakin dekat kepolaran antara sampel dengan eluen maka sampel akan semakin terbawah oleh fase gerak tersebut. Tujuan dilakukannya pengujian KLT untuk mengetahui komponen kimia apa yang memberikan aktivitas antibakteri dari ekstrak Daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth). Pengujian KLT dilakukan dengan menggunakan eluen Kloroform : metanol (3:1). Setelah dilakukannya pemisahan senyawa pada Kromatografi Lapis Tipis (KLT) kemudian dilanjutkan dengan pengujian KLT- Bioautografi yang bertujuan untuk mengetahui komponen kimia apa yang memberikan aktivitas antibakteri dari ekstrak daun iler, metode yang digunakan adalah metode kontak dengan menempelkan langsung lempeng KLT pada medium yang telah disuspensikan dengan bakteri uji

sebelumnya. Prinsip kerja dari metode ini didasarkan atas difusi dari senyawa yang telah dipisahkan dengan kromatografi lapis tipis. Senyawa antibakteri yang berdifusi dari kromatogram ke medium akan menghambat pertumbuhan setelah diinkubasi pada waktu dan temperatur yang tepat sampai bercak menghambat tampak dipermukaan.

Pengujian ekstrak daun iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth) secara KLT-Bioautografi diperoleh bahwa ekstrak Daun Iler dapat menghambat bakteri penyebab infeksi saluran pencernaan. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 7.

Ekstrak Daun iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth) memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri uji *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella thypi*. Penghambatan ekstrak Daun iler ditandai dengan terbentuknya zona bening pada permukaan medium tempat berdifusi bercak dari kromatogram yang dapat menghambat bakteri uji. Penghambatan disebabkan karena adanya komponen kimia aktif yang terkandung

Table 8. Hasil Pengujian Identifikasi Komponen Kimia Aktif dari kromatogram ekstrak Daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth)

Pereaksi Warna	Komponen kimia	Perlakuan	Warna	Ket.
Dragendrof	Alkaloid	Foto langsung	Coklat/Jingga	+
Lieberman Buchard	Terpenoid	Dipanaskan	Hijau-Biru	+
Besi (III) klorida	Fenolik/Tanin	Foto langsung	Hitam	+
Aluminium Klorida	Flavanoid	Foto UV 366	Kuning	+
Asam Sulfat	Steroid	Foto langsung	Ungu-Merah	+

dalam Ekstrak daun iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth)

Pada identifikasi komponen kimia aktif ekstrak daun iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth) dengan menggunakan pereaksi warna Dragendrof, Lieberman Buchard, Besi (III) Klorida, Aluminium klorida, dan Asam sulfat. Hasil dapat dilihat pada Tabel 8.

Identifikasi komponen Kimia Aktif ekstrak Daun Iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth) dengan menggunakan pereaksi warna Dragendrof, Lieberman Buchard, Besi (III) klorida, Aluminium klorida dan Asam sulfat dimana hasil yang didapatkan Ekstrak Daun iler positif mengandung Senyawa Alkaloid, Terpenoid, Fenolik, Flavanoid, dan Steroid

Komponen kimia alkaloid dapat bersifat sebagai antibakteri karena dapat mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel

tersebut, selain itu komponen alkalid dikteahui sebagai anterkelator DNA dan menghambat enzim topoisomerase sel bakteri.¹⁴

Komponen kimia terpenoid bersifat sebagai antibakteri karena terpenoid yang dimiliki daun iler merupakan senyawa yang dapat menghambat bakteri dengan mekanisme kerja perubahan komposisi membran sel, sehingga terjadi kerusakan pada membran sel. Terpenoid dapat berinteraksi dengan protein membran sehingga terjadi kerusakan atau lisis pada sel. Mekanisme tersebut menyebabkan semua materi dalam sel keluar sehingga sel tidak dapat berfungsi atau mati.¹⁵

Komponen kimia polifenol dapat bersifat sebagai antibakteri karena pada konsentrasi tinggi mampu menembus dan mengganggu dinding sel bakteri dan memprespitasi protein dalam sel bakteri. Selain itu denol dapat menyebabkan koagulasi protein, mengubah permeabilitas membran bakteri dan akhirnya sel mebran

mengalami lisis (mati). Sedangkan pada konsentrasi yang lebih rendah, fenol mampu membentuk ikatan kompleks protein dan fenol yang diikuti penetrasi fenol kedalam sel dan menyebabkan presipitasi serta denaturasi protein sehingga menginaktifkan sistem enzim penting dalam sel bakteri.¹⁴

Komponen kimia flavanoid bersifat sebagai antibakteri dibagi menjadi 3 yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi. Dalam penghambatan sintesis asam nukleat, cincin A dan B senyawa flavanoid berperan penting dalam proses interkalsi atau ikatan hidrogen, dengan menumpuk basa asam nukleat sehingga menghambat pembentukan DNA dan RNA. Sedangkan kerja flavanoid yang menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom, merupakan hasil interaksi antara flavanoid dengan DNA bakteri. Mekanisme kerja flavanoid dalam menghambat fungsi membran sel dengan membentuk senyawa kompleks dari protein ekstraseluler dan terlarut sehingga merusak membran sel bakteri dan diikuyi dengan keluarnya senyawa intraseluler. Sedangkan kerja flavanoid dalam menghambat metabolisme energi adalah dengan menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri.¹⁶

Komponen kimia steroid dapat

bersifat sebagai antibakteri karena senyawa aktif steroid pada daun iler juga bersifat sebagai antibakteri. Mekanisme kerjanya berhubungan dengan membran lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada liposom, sehingga integritas membran menurun serta morfologi membran sel berubah dan menyebabkan sel rapuh dan lisis¹⁵.

DAFTAR PUSTAKA

1. Prayoga T, Lisnawati N. *Ekstrak Etanol Daun Iler (Coleus Atropurpureus [L.] Benth)*. Surabaya: CV. Jakad Media Publishing. 2020
2. Manganti I. *Kitab Herbal Kesuburan Agar Cepat Hamil*. Yogyakarta: Araska Publisher. 2021
3. Anita, Dewi A, Fatmawati A. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Estrak Etanol Daun Miana (Coleus Atropurpureus). In Seminar Nasional Hasil Penelitian & Pengabdian Kepada Masyarakat (SNP2M). 2018; :199–203
4. Setyani W, Setyowati H, Ayuningtyas D. Pemanfaatan Ekstrak Terstandardisasi Daun Som Jawa (Talinum Paniculatum (Jacq.) Gaertn) Dalam Sediaan Krim Antibakteri Staphylococcus Aureus. 2016; 13 (1):44–51
5. Maryam St, Juniasti S, Kosman R. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah BELIMBING Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* L.) Asal Kota Watampone. 2015; 07 (01):60–69
6. Haridass S. *Chromatographic Fingerprint Analysis of Ixora Coccinea Methanolic Flower*

- Extract'*, International Journal Pharmaceutical Sciences and Drug Research. 2011; 3(4):327–330
7. Djide MN. Mikrobiologi Farmasi. *Jurusan Farmasi Universitas Hasanuddin, Makassar*.
 8. Arnida, Sutomo, Khoriah UU. Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia Dan Uji Aktivitas Penghambatan Polimerisasi Hem Dari Fraksi N-Heksana Daun Manuran (*Coptosapelta Tomentosa* Valetton Ex K. Heyne) Asal Kotabaru Kalimantan Selatan. *Pharmascience*. 2018; 05(02):143–152
 9. Yuda PESK, Cahyaningsih E, Winariyanthi NLPY. Skrining Fitokimia Dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Tanamanpatikan Kebo (*Euphorbia Hirta*L.). *Ilmiah Medicamento*. 2017; 3(2):61–70
 10. Kusumawati DE, Pasaribu FH, Bintang M. Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit Dari Tanaman Miana (*Coleus Scutellarioides* [L.] Benth.) Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. *Current Biochemistry*. 2014; 1(1):45–50
 11. Waluyo L. *Mikrobiologi Umum*. Jakarta: Universitas Muhammadiyah Malang, Malang. 2011
 12. Trigiantoro. Isolasi Bakteri Kapang Dan Khamir
 13. Katzung BG. *Farmakologi Dasar Dan Klinik*. 8th ed. Palembang: Salemba Medika. 2004
 14. Nurhasanah, Gultom ES. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata*) Terhadap Bakteri Mdr (Multi Drug Resistant) Dengan Metode Klt BioautografI. *Biosains*. 2020; 6(2):45–52
 15. Basir B, Isnansetyo A, Istiqomah I, Jabbar F bin A. Toksisitas Daun Miana (*Coleus scutellarioides* (L) Benth) Sebagai Antibakteri Pada Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Fisheries and Marine Science*. 2020; 2(1):56–61
 16. Ernawati, Sari K. Kandungan Senyawa Kimia Dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Alpukat (*Persea americana* P.Mill) Terhadap Bakteri *Vibrio Alginolyticus*. *Kajian Veteriner*. 2015; 3(2):203–211