

ORIGINAL ARTICLE

Toksitas Daun Miana (*Coleus scutellarioides* (L) Benth) Sebagai Antibakteri Pada Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*)

Toxicity of Miana Leaves *Coleus scutellarioides* (L) Benth as Anti-Bacterial on White Shrimp *Litopenaeus vannamei*

Buana Basir^{*a}, Alim Isnansetyo^b, Indah Istiqomah^b, Firmansyah Bin Abd Jabbar^c

^aSekolah Tinggi Teknologi Kelautan (STITEK) Balik Diwa, Makassar

^bUniversitas Gajah Mada

^cUniversitas Sulawesi Barat

*Informasi Artikel

Received: 3 Januari 2020

Accepted: 14 Februari 2020

*Corresponding Author

Buana Basir

Sekolah Tinggi Teknologi Kelautan (STITEK) Balik Diwa Makassar. Email: buanabasir@stitek-balikdiwa.ac.id

How to cite:

Basir B, Isnansetyo A, Istiqomah I, Jabbar FBA., 2020. Toksisitas Daun Miana *Coleus scutellarioides* (L) Benth Sebagai Antibakteri Pada Udang Vannamei *Litopenaeus vannamei*. *Siganus: Journal of Fisheries and Marine Science*. 2 (1). 56-61.

A B S T R A K

Tujuan Penelitian ini untuk menganalisis toksitas daun miana sebagai antibakteri pada udang vanamei. Sampel daun miana berasal dari beberapa daerah di Sulawesi Selatan. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun miana dengan tiga fraksi, yaitu ethanol, n-hexane, dan chloroform menggunakan metode difusi kertas cakram dengan konsentrasi ekstrak 500 µg/mL dan 1000 µg/mL, sebanyak tiga kali ulangan. Uji toksitas metode BST (LC₇₀) dengan konsentrasi uji 2500, 1250, 625, 312.5, 156.25, 78.125 µg/mL. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa uji aktivitas ekstrak daun miana tertinggi pada fraksi chloroform, dengan diameter hambat 28 mm. Sementara pada antibiotik oxytetracycline diameter hambat sebesar 31 mm. Nilai toksitas pada tingkat mortalitas 30% pada konsentrasi 1250 µg/mL. Ekstrak daun miana fraksi chloroform mampu menggantikan peran antibiotic oxytetracycline dengan penggunaan konsentrasi dibawah 1250 µg/mL.

Kata Kunci: toksitas, miana, vibrio, anti-bakteri, udang vannamei

A B S T R A C T

The present study aimed to determine the anti-bacterial activity of miana leaf extract in vannamei shrimp. Miana leaf samples obtained from several regions in South Sulawesi. The antibacterial activity test of miana leaf extract with three fractions, including ethanol, n-hexane, and chloroform using disc paper diffusion method with extract concentration of 500 µg per mL and 1000 µg per mL, three replicates. BST toxicity test (LC₇₀) with a concentration of 2500, 1250, 625, 312.5, 156.25, 78.125 µg per mL was also applied. Collected data were descriptively analyzed. The results showed that the highest miana leaf extract activity test was in the chloroform fraction, with an inhibition diameter of 28 mm. While the oxytetracycline antibiotic inhibitory diameter of 31 mm. Toxicity value was at 30% mortality rate and effective concentration of 1250 µg per mL. Miana leaf extract chloroform fraction can replace the role of antibiotic oxytetracycline with the use of concentrations below 1250 µg / mL.

Keywords: toxicity, miana, vibrio, anti-bacterial, vanammei shrimp

Pendahuluan

Udang vanamei merupakan udang introduksi yang pada umumnya dibudidayakan oleh petambak di berbagai daerah di Indonesia (Wyban 2007). Awal masuknya udang vanamei ke Indonesia, udang jenis ini dikenal tahan terhadap penyakit sehingga dapat menghasilkan produksi yang tinggi dengan waktu pemeliharaan 2-3 bulan. Namun, seiring waktu, udang vanamei juga mengalami penurunan produksi akibat serangan penyakit.

Salah satu jenis penyakit yang telah menyebabkan kasus kematian masal pada udang adalah vibriosis. Penyebab penyakit ini adalah bakteri genus *Vibrio* seperti *V. alginolyticus*, *V. harveyi*, *V. penaeicida*, dan *V. parahaemolyticus* (Asplund, 2013). Upaya penanggulangan dan pengobatan telah dilakukan melalui pemberian antibiotik. Akan tetapi, penggunaan antibiotik sebagai obat dalam menanggulangi penyakit vibriosis sudah tidak disarankan karena antibiotik berkontribusi terhadap terciptanya strain vibrio yang resisten (Rocha, Sousa, Vieira, 2016). Oleh karena itu alternatif pengobatan beralih ke senyawa bioaktif alami yang lebih ramah lingkungan.

Daun miana adalah daun yang sudah dikenal oleh masyarakat Sulawesi yang bermanfaat dalam mengobati beberapa penyakit, seperti asma, batuk pilek, influenza, flek paru, dan demam pada manusia. Daun ini mudah tumbuh dimana saja, tetapi lebih suka pada daerah yang sedikit lembab. Informasi terkait efektifitas ekstrak miana pada vibrio sp masih sangat terbatas.

Penelitian terkait sebelumnya, yaitu karakterisasi skrining fitokimia (Lisdawati *et al.*, 2008; Rahmawati, 2008; Ridwan *et al.*, 2006; Wakhidah dan Silalahi, 2018), anticestoda dan anthelmentik terhadap cacing pada mencit dan ayam (Ridwan *et al.*, 2006; Ridwan *et al.*, 2010), efektivitas ekstrak daun miana terhadap *Mycobacterium tuberculosis* pada tikus (Pakadang, 2015), terhadap infeksi *Hymenolaps microstoma* pada mencit (Nadia, 2008), aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas sp.*, dan *Streptococcus sp.*. Secara *In Vitro* (Muljono *et al.*, 2016; Mpila *et al.*, 2012; Marpaung *et al.*, 2014).

Oleh karena itu perlu dilakukan uji coba untuk mengetahui aktivitas anti vibrio ekstrak daun miana, dan uji toksisitas untuk mengetahui penggunaan konsentrasi yang aman buat udang vanamei tetapi mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp.

Metode Penelitian

Waktu dan tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di bulan April sampai bulan September 2019, dengan lokasi penelitian di Laboratorium Sekolah Tinggi Teknologi Kelautan (STITEK) Balik Diwa Makassar.

Sample uji penelitian

Sampel daun miana didapatkan dari beberapa daerah di Sulawesi Selatan yang terlebih dahulu dibersihkan sebelum digunakan dan hewan uji udang vanamei diperoleh dari Balai Perikanan Budidaya Air Payau (BPBAP) Takalar yang sudah tersertifikasi bebas *Vibrio* sp yang terlebih dahulu dilakukan aklimatisasi sebelum hewan uji ini digunakan dalam penelitian.

Ekstrak daun miana

Persiapan penelitian diawali dengan mempersiapkan ekstrak daun miana melalui metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. sebanyak tiga kali perendaman dan penyaringan. Waktu perendaman selama 1 x 24 jam untuk sekali perendaman. Ekstrak hasil penyaringan dari tiga kali perendaman dikumpulkan dalam satu tabung gelas. Selanjutnya dilakukan partisi menggunakan pelarut etanol, n-Hexane, Chloroform, dan air. Partisi dilakukan untuk memisahkan senyawa berdasarkan kepolarannya. Ekstrak siap untuk digunakan pada uji aktivitas antibakteri dan uji toksisitas.

Uji aktivitas anti-bacterial

Uji aktivitas antivibrio menggunakan metode difusi cakram kertas (Isnansetyo dan Kamei, 2009). Disiapkan cawan petri yang telah dituangi media padat kemudian ditambahkan 5-10 mL soft agar yang berisi bakteri aktif. Kemudian cakram disk disiapkan dengan meletakkannya ke dalam cawan petri yang telah diberi tanda sesuai dengan ekstrak yang akan diujikan, lalu ditetes ekstrak dengan konsentrasi 500 dan 1000 µg/mL. Cakram disk diangkat agar kering dan diletakkan pada permukaan media agar.

Uji ini dilakukan dengan masing-masing 2 ulangan. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30 °C. Respon adanya potensi antibakteri akan terlihat dengan terbentuknya zona bening di sekitar kertas cakram yang merupakan zona hambat. Diameter zona bening diukur menggunakan mistar dalam satuan millimeter (mm).

Uji Toksisitas Metode BST (LC_{70})

Fraksi yang menghasilkan nilai aktivitas terbesar dalam menghambat bakteri yang digunakan untuk melakukan uji toksisitas metode BST. Uji toksisitas diawali dengan mempersiapkan ekstrak dengan melakukan seri penceran menggunakan etanol dengan konsentrasi berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri. Konsentrasi yang digunakan adalah 2500, 1250, 625, 312.5, 156.25, 78.125 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Pengujian dilakukan dengan memasukkan 15 ekor larva *Artemia salina* berumur 24 jam ke dalam sumuran microplate yang telah berisi 15 mL larutan ekstrak dan 15 mL air laut dengan konsentrasi ekstrak sesuai perlakuan. Setelah 24 jam, jumlah larva yang mati dihitung. Mortalitas nauplii Artemia dihitung dengan rumus:

$$\text{Kematian nauplii (\%)} = \frac{\text{Jumlah larva yang mati}}{\text{Jumlah larva uji}} \times 100 \%$$

Apabila pada kontrol ada larva yang mati, maka % kematian ditentukan dengan rumus Abbot (Meyer *et al.*, 1982).

$$\% \text{ kematian larva} = \frac{T - K}{10} \times 100 \%$$

Keterangan : T = jumlah larva uji yang mati; K = jumlah larva kontrol yang mati; 10 = jumlah larva uji

Hasil dan Pembahasan**Hasil uji aktivitas bakteri**

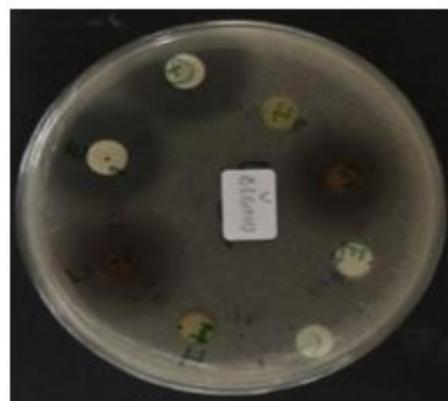
Aktivitas daun miana dalam menghambat bakteri *Vibrio* sp. menunjukkan sensitifitas yang berbeda-beda pada setiap jenis bakteri (Gambar 1 dan Tabel 1). Sensitifitas bakteri, nilai tertinggi pada *Vibrio alginolitycus* dengan nilai penghambatan adalah 28 mm. Sensitifitas terendah pada bakteri *Vibrio harveyii*, dengan nilai hambat sebesar 20 mm. Hal ini memberi pengetahuan kepada kita bahwa kekuatan bakteri *Vibrio harveyii* dalam bertahan hidup dan berinteraksi dengan antibiotik lebih tinggi dibanding jenis *Vibrio* lainnya.

Kemampuan *crude* ekstrak daun miana fraksi chloroform dalam menghambat bakteri *Vibrio* sp. menyamai kemampuan antibiotik oxytetracycline pada konsentrasi 1000 μg per mL. Sehingga ekstrak daun miana dapat mengantikan peran oxytetracycline sebagai antibiotik untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp. pada udang vanamei senyawa metabolic sekunder berupa flavonoid, tannin, saponin, terpenoid, dan steroid (Ridwan. *et al.* 2006; Ridwan dan Ayunita, 2007; Lisdawati *et al.* 2008; Khattak, 2011; Mutiatikum, 2010; Lumbessy, 2013), sehingga daun miana dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

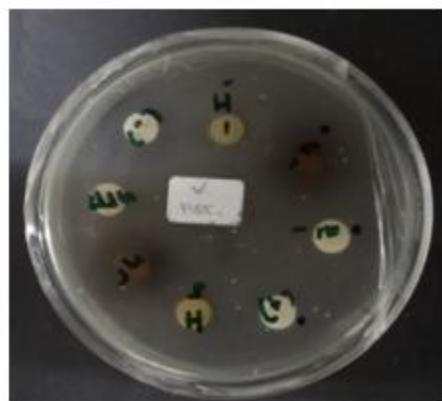
Flavonoid memiliki efek farmakologis yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri, virus maupun jamur (Gunawan, 2009; Susilowati, 2014). Mempunyai bioaktivitas tertentu seperti, anti alergi, antitumor dan antihepatotoksik, antosektisida, dan



3. *V. parahaemolitycus*



1. *V. alginolitycus*



2. *V. Harveyii*

Gambar 1. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun miana

Tabel 1. Hasil Pengamatan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Miana

No.	Fraksi	Jenis Bakteri	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Zona Hambat (mm)
1.	n-hexane			-
	Chloroform	<i>V. parahaemolitycus</i>	500/1000	12/ 23
	Ethanol			-
	Oxytetracyclin			25
2.	n-hexane			-
	Chloroform	<i>V. alginolitycus</i>	500/1000	17/28
	Ethanol			-
	Oxytetracyclin			31
3.	n-hexane			-
	Chloroform	<i>V. harveyii</i>	500/1000	15/20
	Ethanol			-
	Oxytetracyclin			21

Keterangan: Uji aktivitas ekstrak daun miana hasil partisi menunjukkan ekstrak fraksi chloroform yang menghasilkan aktivitas tertinggi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp.

dan antioksidan. Fungsi kerja Saponin sebagai senyawa aktif antibakteri, yaitu dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri yang menyebabkan sel bakteri lisis, sehingga terjadi kerusakan pada membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri, yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida sehingga sel bakteri tidak dapat tumbuh dan berkembang (Darsana *et al.*, 2012; Astarina *et al.*, 2013).

Senyawa aktif tanin yang dimiliki oleh daun miana memiliki efek antibakteri pada bakteri gram positif maupun gram negatif. Tanin dapat menghambat kerja sel mikroba yang terdapat pada permukaan sel melalui enzim yang terkait pada membran sel dan polipeptida dinding sel (Muftuhah *et al.*, 2015; Ismarani, 2013). Terpenoid yang dimiliki daun miana 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 (Kurniawan dan Aryana, 2015). Sementara senyawa aktif Steroid pada daun miana juga berfungsi 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 lisis (Ji *et al.*, 2012).

Toksitas Metode BST (LC_{70})

Toksitas adalah tingkat kerusakan yang diakibatkan oleh suatu zat jika dipaparkan kepada organisme. Uji toksitas dilakukan untuk mengetahui konsentrasi senyawa aktif yang dapat menyebabkan mortalitas artemia (pengganti larva udang) sebanyak 70%, yang digunakan untuk uji pencegahan dan pengobatan udang vanamei yang dipapar *Vibrio* sp. Hasil uji toksitas dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 Tingkat Mortalitas Artemia Menggunakan Ekstrak Daun Miana

Konsentrasi ekstrak ($\mu\text{g/mL}$)	Mortalitas artemia (ekor/wadah)			Tingkat mortalitas (%)
	Ulangan	1	2	
2500	6	6	5	37.778 %
1250	4	6	4	31.111%
625	3	5	3	26.667%
312.5	4	3	4	24.444%
156.25	2	2	2	13.333%
78.125	0	0	0	0%
0	0	0	0	0%

Mortalitas yang terjadi yang ditunjukkan pada Tabel 2 memberikan gambaran bahwa tingkat mortalitas artemia dengan paparan ekstrak daun miana pada konsentrasi 2500 $\mu\text{g/mL}$ menimbulkan kematian mencapai 40%. Kondisi ini menggambarkan bahwa

konsentrasi 2500 µg/mL ekstrak daun miana menimbulkan toksitas yang cukup tinggi, sehingga konsentrasi yang dianggap aman untuk digunakan sebagai pencegahan ataupun pengobatan pada udang vanamei yang terpapar *Vibrio* sp. yaitu pada konsentrasi di bawah 1250 µg/mL yang dianggap menimbulkan resiko lebih rendah pada mortalitas udang.

Kesimpulan

Daun miana dapat dijadikan sebagai antibiotik alami. Daun ini memiliki aktivitas antibakteri menyamai antibiotik oxytetracycline. Disamping itu, daun miana memiliki tingkat toksitas yang rendah, sehingga dalam penggunaannya membutuhkan konsentrasi yang lebih tinggi dibanding antibiotik oxytetracycline.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih kepada Kemenristekdikt yang telah memfasilitasi pendanaan pada penelitian ini. Penghargaan kepada tim peneliti mitra beserta pihak yang terkait dalam mendukung kelancaran pelaksanaan penelitian.

Daftar Pustaka

- Asplund, M.E. 2013. Ecological Aspects of Marine Vibrio Bacteria. [Thesis]. Doctor of Philosophy in Marine Ecology, University of Gothenburg. Kristineberg, 48 p.
- Astarina N W G, Astuti K W dan Warditiani N K. 2013. Skrining fitokimia ekstrak metanol rimpang bangle (*Zingiber purpureum* Roxb). Jurnal Farmasi Udayana. Hal: 1-4
- Darsana I G O, Besung I N K, dan Mahatmi H. 2012. Potensi Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Tenore) Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*, Indonesia Medicus Veterinus. 1(3): 337– 51.
- Gunawan A W I. 2009. Potensi Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Sebagai Antibakteri *Salmonella typhimurium*. Skripsi. Denpasar (ID) Universitas Mahasaraswati.
- Isnansetyo, A. dan Y. Kamei, 2009. Anti-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) activity of MC21-B, an antibacterial compound produced by the marine bacterium *Pseudoalteromonas phenolica* O-BC30T. *International Journal of Antimicrobial Agents*. Hal: 131-135
- Ismarani. 2013. Potensi Senyawa Tannin dalam Menunjang Produksi Ramah Lingkungan. *Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah*. 3(2): 46-55.
- Ji Y S, Lestari N D dan Rinanda T. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 30% dan 96% Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) terhadap Bakteri *Streptococcus pyogenes* secara *In Vitro*. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*. 12(1):31-36.
- Khattak M M A K dan Teher M T, 2011. Bioactivity Guided Isolation of Antimycrobial Agent from Coleus Amboinicus Lour (Torbangun). Detail and of the Project Report Endowment Fund/ Grand No: EWB B 0803-107.
- Kurniawan B dan Aryana W F. 2015. Binahong (*Cassia alata* L) as Inhibitor of *Escherichia coli* Growth. *Majority Journal*. 4(4). 100-104.
- Lisdawati V, Mutiatikum D, Alegantina S dan Astuti Y. 2008. Karetistik Daun Miana (*Plectranthus scutellarioides* (L) Benth) dan Buah Sirih (*Piper betle* L) secara Fisiko Kimia dari Ramuan Lokal Antimalaria Daerah Sulawesi Utara. *Jurnal Media Litbang Kesehatan*. 18(4): 213-225.
- Lumbessy M, Abijulu J dan Paendong J J E., 2013. Uji Total Flavonoid pada Beberapa Tanaman Obat Tradisional di Desa Waitina Kec. Mangoli Timur Kab. Kepulauan Sula Provinsi Maluku Utara. *Jurnal MIPA Unsrat*. 2(1): 50-55.
- Marpaung P N S, Wullur A C, Yamlean P V Y. 2014. Uji Aktifitas Sediaan Selep Ekstrak Daun Miana (*Coleus scutellarioides* (L) Benth) Untuk Pengobatan Luka yang Terinfeksi Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 3(3):170-175.
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putman, J. E., Jacobsen, L. B., Nicols, D. E., and McLaughlin, J. L. 1982. *Brine Shrimp : A Convenient general Bioassay For Active Plant Constituents*. Plant Medica

- Mutiatikum D, Alegantina S. dan Astuti. 2010. Standarisasi Simplicia Dari Buah Miana (*Plectranthus Seutellaroides* (L) R.Bth) yang berasal dari 3 tempat tumbuh Manado,Kupang dan Papua. Badan Peneliti dan Pengembangan Kesehatan. 38(1): 1-16.
- Nadia H, 2008, Efektifitas Ekstrak Etanol Daun Miana (*Coleus blumei*) Terhadap Infeksi *Hymenolaps microstoma* pada mencit (Skripsi). Bogor (ID). Institut Pertanian Bogor.
- Pakadang S R. 2015. Potensi Ekstrak Daun Miana (*Coleus scutellarioides* [L] Benth) Sebagai Imunomodulator Terhadap Tikus Model yang Terinfeksi *Mycobacterium tuberculosis* (Disertasi). Surabaya (ID). Universitas Airlangga.
- Rahmawati F. 2008. Isolasi dan Karakteristik Senyawa Antibakteri Ekstrak Daun Miana (*Coleus scutellarioides* (L) Benth) (Tesis). Bogor (ID). Institut Pertanian Bogor.
- Ridwan Y dan Ayunita Y Q. 2007. Phytochemical and Anthelmint Activity against Chicken Tuperworm of Painted Nettle (*Coleus Blumei* (Benth) Varietes *In Vitro*. *Jurnal Protein*. 14(1): 17-21. <http://ejournal.umm.ac.id/index.php/protein/article/view/74>. Diakses Maret 2020
- Ridwan Y, Darusman L K, Satrija F dan Handrayani R. 2006. Kandungan Kimia Berbagai Ekstrak Daun Miana (*Coleus blumei* Benth) dan Efek Anthelmintiknya Terhadap Cacing Pita pada Ayam. *J.II. Pert.Indon.* Vol. 11 (2).
- Ridwan Y, Satrija, Darusman L K dan Handrayani F. 2010. Efektifitas Anticestoda Ektrak Daun Miana (*Coleus blumei* Bent) terhadap Cacing *Hymenolapis microstoma* pada Mencit. *Jurnal of Animal Science and Technology*. 33(1):6-11.
- Rocha RS, Sousa OV, Vieira, RH. 2016. Multidrug-resistant Vibrio associated with an estuary affected by shrimp farming in Northeastern Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, 105 (1), 337-340
- Susilowati A B A R. 2014. Pengaruh Getah Tanaman jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) Terhadap Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara *In Vitro* (Skripsi). Makassar (ID). Universitas Hasanuddin.
- Wakhidah A Z dan Silalahi M. 2018. Etnofarmakologi Tumbuhan Miana (*Coleus scutellarioides* (L) Benth) pada Masyarakat Halmahera Barat, Maluku Utara. *Jurnal Pro-Life*. 5(2): 567-578
- Wyban, J.A. 2007. Domestication of Pacific White Shrimp Revolutionizes Aquaculture. *Global Aquaculture Advocate*. 42-44.