

PENGAMATAN MORFOLOGI SACCHAROMYCES CEREVISIAE SETELAH PERLAKUAN EKSTRAK KUMIS KUCING (ORTHOSIPHON ARISTATUS) MELALUI PEWARNAAN DIFERENSIAL

Marsya¹, Ardi Mustakim²
marsyaaaaa6@gmail.com¹
Universitas Adiwangsa Jambi

ABSTRAK

Saccharomyces cerevisiae merupakan mikroorganisme khamir yang banyak digunakan dalam industri pangan, farmasi, dan bioteknologi. Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mencari bahan alami yang berpotensi memengaruhi morfologi atau aktivitas *Saccharomyces cerevisiae*, salah satunya adalah ekstrak tanaman obat. Tanaman kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) dikenal memiliki berbagai manfaat, seperti antidiabetes, antiinflamasi, antimikroba, dan pelancar buang air kecil. Penelitian ini bertujuan untuk mengamati perubahan morfologi *Saccharomyces cerevisiae* setelah perlakuan ekstrak kumis kucing melalui metode pewarnaan diferensial. Metode yang digunakan meliputi pengolesan ekstrak kumis kucing pada media kultur *Saccharomyces cerevisiae*, kemudian dilakukan pewarnaan diferensial menggunakan kristal violet, iodine, emersi, dan safranin. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa tetesan kristal violet (0,05 mL) pada media yang diberi ekstrak kumis kucing memperlihatkan hifa jamur tampak jelas. Sementara itu, pemberian iodine, emersi, dan safranin tidak mengubah warna secara signifikan tetapi memudarkan warna ungu pekat menjadi ungu pucat secara bertahap. Temuan ini menunjukkan bahwa ekstrak kumis kucing dapat memengaruhi morfologi dan penampilan mikroskopis *Saccharomyces cerevisiae*, serta berpotensi digunakan dalam pengendalian atau studi pertumbuhan khamir. Penelitian ini memberikan data awal yang dapat dikembangkan lebih lanjut di bidang pangan, farmasi, mikrobiologi, dan sebagai bahan uji untuk kontrol kualitas mikroorganisme.

Kata Kunci: *Saccharomyces Cerevisiae*, Kumis Kucing, Pewarnaan Diferensial.

ABSTRACT

Saccharomyces cerevisiae is a yeast microorganism widely utilized in the food, pharmaceutical, and biotechnology industries. Various studies have been conducted to identify natural substances that have the potential to influence the morphology or activity of *Saccharomyces cerevisiae*, including plant extracts. One such plant is the cat's whiskers (*Orthosiphon aristatus*), which is known for its properties as an antidiabetic, anti-inflammatory, antimicrobial, and diuretic agent. This study aimed to observe morphological changes in *Saccharomyces cerevisiae* after treatment with cat's whiskers extract through differential staining techniques. The method involved applying cat's whiskers extract to culture media containing *Saccharomyces cerevisiae*, followed by differential staining using crystal violet, iodine, immersion oil, and safranin. The results showed that a 0.05 mL drop of crystal violet on media treated with the extract revealed the hyphae of the yeast cells clearly, while iodine, immersion oil, and safranin did not change the color significantly but gradually faded the dark purple into a lighter purple. These findings suggest that cat's whiskers extract can influence the morphology and microscopic appearance of *Saccharomyces cerevisiae* and may have potential in controlling or studying yeast growth. This study provides preliminary data that could support further development in food, pharmaceutical, microbiological applications, and microbial quality control.

Keywords: *Saccharomyces Cerevisiae*, *Orthosiphon Aristatus*, Differential Staining.

PENDAHULUAN

Di dunia laboratorium mikrobiologi, pewarnaan merupakan salah satu teknik dasar namun sangat penting untuk mengidentifikasi dan menganalisis mikroorganisme. Teknik ini

digunakan untuk meningkatkan kontras antara mikroorganisme dan lingkungan sekitarnya, sehingga bentuk, ukuran, dan struktur sel dapat diamati lebih jelas di bawah mikroskop cahaya. Pewarnaan merupakan teknik dasar yang penting dalam mikrobiologi untuk membantu mengamati bentuk, ukuran, dan struktur mikroorganisme di bawah mikroskop cahaya. Teknik ini meningkatkan kontras agar mikroorganisme yang bersifat transparan dapat terlihat lebih jelas (Virgianti & Luciana, 2017). Salah satu metode yang paling umum digunakan adalah pewarnaan diferensial, seperti pewarnaan Gram, yang membedakan mikroorganisme berdasarkan perbedaan dinding sel menjadi Gram positif dan Gram negatif (NauE et al., 2022). Perbedaan ini tidak hanya membantu dalam identifikasi, tetapi juga berkaitan dengan sensitivitas terhadap antibiotik (Yuniarty & Misbach, 2016).

Saccharomyces cerevisiae merupakan mikroorganisme model yang banyak digunakan dalam bidang mikrobiologi, industri fermentasi, dan bioteknologi karena kemampuannya mengubah gula menjadi etanol dan karbon dioksida (Cahyono et al., 2022). Selain peran industrinya, ragi ini juga digunakan dalam penelitian karena mudah dimodifikasi secara genetik dan tumbuh cepat. Namun, morfologi sel *S. cerevisiae* dapat berubah tergantung kondisi lingkungan seperti suhu, pH, media, atau paparan senyawa kimia (Goldschmidt et al., 2022). Untuk mengetahui perubahan tersebut, digunakan pewarnaan seperti methylene blue yang membedakan sel hidup dan mati (Matsumoto et al., 2022).

Tanaman *Orthosiphon aristatus* atau kumis kucing dipilih dalam penelitian ini karena mengandung senyawa aktif seperti sinensetin, rosmarinic acid, dan flavonoid yang memiliki efek antibakteri, antiinflamasi, antioksidan, dan antidiabetes (Pelu et al., 2021). Senyawa-senyawa ini telah dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional untuk berbagai penyakit, seperti infeksi saluran kemih dan gangguan metabolik (Firnanda et al., 2024; Ramadhani et al., 2024).

Pengamatan sel mikroorganisme seperti *Saccharomyces cerevisiae* menggunakan pewarnaan diferensial, yang melibatkan zat seperti kristal violet, iodine, alkohol, dan safranin, dapat membantu membedakan struktur dan karakteristik sel (Susanto, 2016). Teknik ini penting untuk menilai pengaruh bahan aktif seperti ekstrak kumis kucing terhadap struktur dan viabilitas mikroorganisme secara mikroskopis (Shaloma et al., 2023).

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini merupakan penelitian kualitatif bersifat deskriptif, yaitu metode penelitian dengan memaparkan hasil yang diperoleh. Penelitian dilaksanakan pada 21 Mei hingga 12 Juni 2025 di Laboratorium Kimia Prodi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Adiwangsa Jambi. Penelitian ini dilakukan untuk mengamati morfologi *Saccharomyces cerevisiae* setelah perlakuan ekstrak kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) melalui pewarnaan diferensial.

Kultur *Saccharomyces cerevisiae* diperoleh dari fermentasi tape ubi dan ditumbuhkan pada media Potato Dextrose Agar (PDA). Perlakuan diberikan dengan menambahkan ekstrak etanolik daun kumis kucing. Pewarnaan diferensial dilakukan menggunakan kristal violet, iodine, etanol, safranin, dan minyak emersi untuk observasi mikroskopis. Alat yang digunakan meliputi cawan petri, kaca preparat, pipet tetes, mikropipet, jarum ose, lampu Bunsen, dan mikroskop.

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya ada cawan petri, gelas kimia, pipet tetes, mikropipet, kaca preparat, jarum ose, kapas alkohol, tabung reaksi, statif, serta alat utama seperti mikroskop cahaya dan lampu Bunsen untuk fiksasi. Bahan lain yang digunakan mencakup bubuk PDA (Potato Dextrose Agar), aquades steril, kultur *Saccharomyces cerevisiae*, serta ekstrak daun kumis kucing dengan pelarut etanol 70%.

Pembuatan media PDA dimulai dengan menimbang 39,0 gram bubuk PDA menggunakan timbangan analitik, lalu melarutkannya dalam 1000 ml aquades di gelas kimia. Campuran dipanaskan sambil diaduk hingga larut sempurna dan homogen. Setelah larutan mendingin hingga sekitar 40–50°C, media dituangkan ke cawan petri secara aseptis. Media yang telah mengeras diinkubasi pada 37°C selama 24 jam untuk memastikan tidak ada kontaminasi.

Identifikasi dilakukan dengan mengamati morfologi koloni *Saccharomyces cerevisiae* meliputi bentuk dan warna koloni. Selanjutnya, pewarnaan diferensial dilakukan dengan langkah: olesan ragi difiksasi di atas nyala Bunsen, ditetesi kristal violet selama 1 menit, iodine 1 menit, etanol 30 detik, dan safranin 1 menit. Preparat kemudian diamati di bawah mikroskop dengan minyak emersi untuk melihat morfologi sel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan pengamatan morfologi *Saccharomyces cerevisiae* setelah perlakuan ekstrak kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) melalui pewarnaan diferensial menggunakan kristal violet, iodine, safranin, dan minyak emersi. Kultur *Saccharomyces cerevisiae* diperoleh dari inokulasi pada media Potato Dextrose Agar (PDA) yang dibuat dari tape ubi dan diperkaya ekstrak kumis kucing. Sebelum itu dibuat terlebih dahulu pengenceran sampel tape ubi dan pembuatan ekstrak kumis kucing.



Gambar 1 Pengenceran dari 10^{-1} hingga 10^{-6} sampel Fermentasi Tape ubi dengan Media Potato Dextrose

Fermentasi tape ubi dilakukan secara alami oleh mikroorganisme, menghasilkan aroma khas dan rasa manis-asam. Untuk analisis mikrobiologis, 1 gram tape ubi difermentasi diencerkan dalam 9 mL larutan NaCl fisiologis steril (10^{-1}), lalu dilakukan pengenceran bertingkat hingga 10^{-6} . Setiap tahap dikocok homogen, bertujuan untuk menurunkan kepadatan mikroba agar koloni dapat tumbuh terpisah saat ditanam di media PDA.



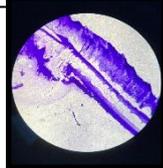
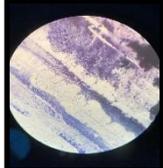
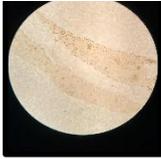
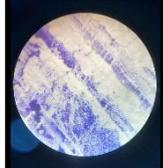
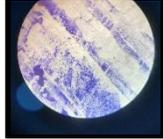
Gambar 2 Pembuatan Ekstrak Kumis Kucing yang di bedakan menjadi 25%, 50% dan 100%

Selanjutnya, ekstrak etanolik daun kumis kucing disiapkan dalam tiga konsentrasi, yaitu 25%, 50%, dan 100%. Masing-masing konsentrasi digunakan untuk merendam cakram kertas steril (blank disk). Cakram kemudian diletakkan di atas media PDA yang telah diinokulasi dengan mikroorganisme tape ubi, lalu diinkubasi untuk mengamati efektivitas zona hambat terhadap pertumbuhan mikroba.

Setelah masa inkubasi, koloni khamir diambil dengan jarum ose, lalu difiksasi pada kaca objek di atas nyala Bunsen. Pewarnaan diferensial dilakukan untuk mengamati struktur sel, dimulai dengan pemberian kristal violet sebagai pewarna utama yang mewarnai dinding

sel ungu. Setelah satu menit, preparat ditetesi iodin sebagai mordant untuk membentuk kompleks pewarna yang stabil dengan dinding sel. Langkah selanjutnya adalah pemberian safranin sebagai pewarna tandingan untuk sel yang tidak mengikat kristal violet. Minyak emersi ditetaskan pada kaca objek sebelum pengamatan mikroskopis, agar meningkatkan resolusi dan ketajaman gambar pada pembesaran 1000x. Prosedur ini bertujuan untuk melihat morfologi sel khamir dan mengidentifikasi perubahan akibat perlakuan ekstrak kumis kucing terhadap struktur dinding sel *Saccharomyces cerevisiae*.

Table 1. Bentuk Bakteri dan Jenis Pewarnaan Diferensial

Ragi/Khamir	Bentuk Jamur	Hasil	Pewarnaan Diferensial
<i>Saccharomyces Cerevisiae</i>			 Gambar 3. Kristal Violet
		Pengamatan langsung dari cawan petri	 Gambar 4. Iodin
		Pengamatan di Kaca Preparat	 Gambar 5. Emersi  Gambar 6. Safranin

PEMBAHASAN

Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* dipengaruhi oleh kandungan nutrisi dalam media Potato Dextrose Agar (PDA) dan tape ubi, yang kaya akan sumber karbon, nitrogen, dan mineral. Perlakuan ekstrak kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) dapat memengaruhi jumlah dan morfologi sel akibat kandungan senyawa bioaktif yang dimilikinya. Pada penelitian ini dilakukan pengamatan morfologi *Saccharomyces cerevisiae* setelah perlakuan ekstrak kumis kucing melalui pewarnaan diferensial. Proses diawali dengan pengamatan koloni pada cawan petri, di mana koloni tampak berwarna putih kusam dengan permukaan lembab. Koloni kemudian diambil menggunakan jarum ose, digoreskan pada kaca preparat, dan diangin-anginkan di atas nyala lampu Bunsen hingga kering. Preparat ditetesi kristal violet dan didiamkan selama 1 menit, lalu dibilas dengan air mengalir, diangin-anginkan kembali selama 1 menit, dan diamati. Pewarnaan ini menghasilkan warna ungu terang pada sel *Saccharomyces cerevisiae* yang memperjelas struktur hifa dan dinding sel, terlihat jelas berbentuk memanjang dengan percabangan halus (Gambar 3).

Setelah pengamatan, preparat diangin-anginkan sebentar dan ditetesi iodin selama 1 menit. Setelah dibilas dan diangin-anginkan, preparat diamati kembali. Hasilnya, warna

ungu pada hifa mulai sedikit memudar dibandingkan pewarnaan kristal violet, namun morfologi hifa tetap terlihat dengan cukup baik (Gambar 4). Proses dilanjutkan dengan penetasan etanol sebagai dekolorisasi, kemudian safranin selama 1 menit sebagai pewarna tandingan. Setelah setiap tahap pewarnaan, preparat dibilas, diangin-anginkan, dan diamati dengan mikroskop. Penggunaan minyak emersi saat pengamatan menghasilkan citra yang lebih tajam pada perbesaran tinggi, tetapi warna ungu pada hifa tampak semakin memudar (Gambar 5). Pewarnaan terakhir dengan safranin mempertahankan warna ungu pada hifa, namun warna tersebut terlihat lebih pucat dibandingkan tahap sebelumnya (Gambar). Tidak ditemukan perubahan warna menjadi merah sebagaimana pada bakteri gram negatif, sehingga *Saccharomyces cerevisiae* tidak menunjukkan reaksi gram positif maupun gram negatif. Perubahan warna lebih disebabkan oleh sifat interaksi pewarna dengan dinding sel khamir, bukan karena sifat gram, sejalan dengan pernyataan Matsumoto et al. (2022) bahwa pewarnaan diferensial pada khamir lebih menggambarkan morfologi dan viabilitas sel dibandingkan sifat gram.

Struktur dinding sel *Saccharomyces cerevisiae* memengaruhi kemampuan sel dalam mengikat dan mempertahankan zat pewarna. Berbeda dengan bakteri gram negatif yang dinding selnya kaya lipid dan dapat kehilangan warna kristal violet saat dicuci alkohol, pada *Saccharomyces cerevisiae* pewarna kristal violet awalnya melekat kuat dan memperlihatkan struktur hifa dengan jelas. Namun, setelah penambahan iodine dan etanol, warna mulai memudar karena interaksi pewarna dengan komponen dinding sel khamir yang berbeda dengan bakteri. Safranin tidak mengubah warna menjadi merah seperti pada gram negatif, tetapi membuat warna ungu hifa tampak lebih pucat. Hal ini menunjukkan bahwa pewarnaan diferensial pada *Saccharomyces cerevisiae* tidak menghasilkan pola warna gram positif atau gram negatif karena perbedaan struktur dinding sel yang tidak memiliki lapisan lipopolisakarida seperti bakteri gram negatif. Penelitian ini didukung oleh pemahaman struktur dinding sel *Saccharomyces cerevisiae* yang khas. Komposisi utama dinding sel khamir terdiri dari β -1,3-glukan ($\pm 50\%$), β -1,6-glukan ($\pm 10\%$), mannoprotein ($\pm 40\%$), dan chitin ($\pm 1-3\%$), yang membentuk kerangka fibrous rigid dan membatasi permeabilitas dinding sel (Liesche et al., 2015; Kalebina et al., 2024; Architecture of the Yeast Cell Wall, 2018). Struktur ini berbeda signifikan dibandingkan dinding bakteri, sehingga memengaruhi cara sel khamir menyerap atau melepaskan pewarna selama proses diferensial.

Interaksi senyawa bioaktif dari ekstrak kumis kucing dengan komponen ini kemungkinan besar menyebabkan pemudaran warna ungu setelah tahap iodine, etanol, dan safranin. Ketika pewarna melekat pada β -glukan atau mannoprotein dan kemudian sebagian terdecolorisasi, hasilnya adalah rona warna yang lebih pucat, menunjukkan morfologi dan viabilitas sel, bukan klasifikasi gram (Kalebina et al., 2024). Hasil ini sejalan dengan penelitian Chandra et al. (2023) yang melaporkan bahwa fermentasi *Saccharomyces cerevisiae* pada daun *Orthosiphon aristatus* meningkatkan kandungan polifenol dan mendukung adanya interaksi antara sel khamir dan senyawa bioaktif tanaman yang dapat memengaruhi struktur permukaan sel. Selain itu, diskusi pada komunitas mikrobiologi (2023) menjelaskan bahwa pewarnaan diferensial pada khamir hanya memperlihatkan kemampuan dinding sel menyerap atau melepaskan zat warna, bukan menunjukkan pola gram seperti pada bakteri.

KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa pewarnaan diferensial pada *Saccharomyces cerevisiae* setelah perlakuan ekstrak kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) menghasilkan warna ungu terang pada tahap kristal violet yang memperjelas struktur hifa, namun warna

tersebut memudar bertahap pada pewarnaan iodine, etanol, dan safranin. Sel *Saccharomyces cerevisiae* tidak menunjukkan pola warna khas gram positif maupun gram negatif, karena struktur dinding sel khamir berbeda dengan bakteri. Perubahan rona warna yang terjadi lebih disebabkan oleh sifat penyerapan dan interaksi pewarna dengan dinding sel serta pengaruh senyawa bioaktif dari ekstrak kumis kucing, seperti flavonoid dan terpenoid. Temuan ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa ekstrak *Orthosiphon aristatus* memiliki aktivitas antimikroba kuat dan senyawa aktifnya dapat berinteraksi dengan struktur sel mikroorganisme sehingga memengaruhi morfologi dan hasil pewarnaan.

SARAN

Penelitian lanjutan disarankan untuk mengeksplorasi pengaruh variasi konsentrasi ekstrak kumis kucing terhadap morfologi *Saccharomyces cerevisiae*, guna mengetahui dosis yang memberikan perubahan paling signifikan. Selain itu, pewarnaan diferensial dapat dikombinasikan dengan metode pewarnaan lain, seperti methylene blue atau fluoresensi, untuk memperoleh gambaran struktur sel yang lebih detail. Pengujian lebih lanjut juga diperlukan untuk mengetahui efek senyawa bioaktif ekstrak terhadap viabilitas dan aktivitas fisiologis *Saccharomyces cerevisiae* melalui uji kuantitatif atau molekuler.

DAFTAR PUSTAKA

- Architecture of the Yeast Cell Wall: A Region Where Glucan, Chitin, and Mannoprotein Are Linked. (2018). *Journal of Bacteriology*, Vol 200 (8).
- Cahyono, B. et al. (2022). Fermentasi *Saccharomyces cerevisiae* pada kulit nanas. *Jurnal Cakrawala Pendidikan dan Biologi*, Vol 6 (1), 15–21.
- Chandra, R., Wijaya, P., & Lestari, D. (2023). Interaction of *Saccharomyces cerevisiae* and bioactive compounds in fermentation of *Orthosiphon stamineus* leaves. *Journal of Applied Microbiology Research*, Vol 8 (1), 44–51.
- Firnanda, Y. et al. (2024). Bioaktivitas tanaman kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*): Sebuah tinjauan. *Indonesian Chemistry and Application Journal*, Vol 9 (1), 45-58.
- Goldschmidt, A. et al. (2022). Quantifying yeast colony morphologies with feature engineering from time-lapse photography. *Scientific Data*. Vol 9. (216).
- Kalebina, T. S., Rekestina, V. V., Pogarskaia, E. E., & Kulakovskaya, T. (2024). Importance of non covalent interactions in yeast cell wall molecular organization. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(5), 2496.
- Liesche, J., Marek, M., & Günther Pomorski, T. (2015). Cell wall staining with Trypan blue enables quantitative analysis of morphological changes in yeast cells. *Frontiers in Microbiology*, 6, 107.
- Matsumoto, K. et al. (2022). A rapid and simple spectroscopic method for the determination of yeast cell viability using methylene blue. *Journal of Microbiological Methods*, Vol 198.
- NauE, D. B., Karneli, Syailendra, A., Syafitri, I., Wulandari, S., & Julianti, W. (2022). Buah BIT (*Beta vulgaris* L.) sebagai alternatif safranin pada pewarnaan Gram. *Husada Mahakam: Jurnal Kesehatan*, 24 (12), 19–24.
- Pelu, D. N. et al. (2021). Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Kedokteran dan Kesehatan*. Vol 1(2), 112-118.
- Ramadhani, N. P. et al (2024). Profiling rosmarinic acid and sinensetin content of *Orthosiphon aristatus* from three different locations with variety ethanol concentration. *Journal of Food and Pharmaceutical Sciences*, Vol 12.(2), 116–124.
- Reddit Microbiology User. (2023). Discussion on yeast Gram staining results. Retrieved from <https://www.reddit.com/r/microbiology>
- Shaloma, S. A., Ghozali, T. Z., & Surya Efendi, M. R. (2023). Identifikasi bakteri dari telapak tangan dengan pewarnaan Gram. *CHEMVIRO: Jurnal Kimia dan Ilmu Lingkungan*, Vol 1(1), 29-34.
- Susanto, H. (2016). Pemeriksaan protozoa, helminthes. Depok: PPPPTK Bisnis dan Pariwisata.

- Tarmizi, A., Rahmah, N., & Yusuf, H. (2023). Antimicrobial activity and phytochemicals of ethanolic extract of local *Orthosiphon aristatus* leaves. *Journal of Tropical Biomedicine*, 10(2), 112–118.
- Virgianti, D. P., & Luciana, C. (2017). Penggunaan ekstrak kombinasi angkak dan daun jati sebagai pewarna penutup pada pewarnaan gram. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*, 17 (1), 68–72.
- Yuniarty, T., & Misbach, S. R. (2016). Pemanfaatan sari ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* poitret) sebagai bahan zat pewarna pada pewarnaan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Teknologi Laboratorium*, 5(2), 59–63.