

UJI AKTIVITAS EKSTRAK METANOL DAUN KIRINYUH (*CHROMOLAENA ODODRATA L.*) TERHADAP BAKTERI *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS*Siti Jamilah¹, Yustin Ari Prihandini^{2*}, Sari Wahyunita³¹⁻³Universitas Borneo Lestari

Email Korespondensi: yustinariprihandini92@gmail.com

Disubmit: 16 Agustus 2023

Diterima: 20 November 2023
Doi: <https://doi.org/10.33024/mnj.v6i2.11623>

Diterbitkan: 01 Februari 2024

ABSTRAK

Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata L.*) dapat dimanfaatkan untuk pengobatan secara tradisional sebagai penyembuhan luka, penyakit infeksi dan antibakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan senyawa kimia dari daun kirinyuh serta mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun kirinyuh (*Chromolaena odorata L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Uji skrining fitokimia meliputi flavonoid, alkaloid, fenol, saponin, steroid dan tanin. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi sumuran dengan menggunakan 5 seri konsentrasi yaitu 15%, 30%, 45%, 60% dan 100% dan kontrol positif klindamisin $2\mu\text{g}/\text{disk}$, dan kontrol negatif menggunakan Na-CMC 0,5%. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun kirinyuh (*Chromolaena odorata L.*) positif mengandung flavonoid, fenol, alkaloid, steroid, saponin, dan tanin. Hasil uji menunjukkan bahwa konsentrasi 15%, 30%, 45%, 60% dan 100% ekstrak metanol daun kirinyuh (*Chromolaena odorata L.*) termasuk dalam kategori zona hambat sedang dengan rata-rata zona hambat yaitu 6,41 mm; 6,86 mm; 7,16 mm; 7,97 mm; dan 9,35mm. Analisis data uji *Mann Witney* memiliki adanya perbedaan aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun kirinyuh (*Chromolaena odorata L.*) dengan konsentrasi 15%, 60% dan 100% terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan kategori sedang.

Kata Kunci: *S. epidermidis*, Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata L.*), Ekstak Metanol, Antibakteri.

ABSTRACT

Kirinyuh leaves (Chromolaena odorata L.) can be used for traditional medicine as wound healing, infectious diseases and antibacterial. The purpose of this study was to determine the chemical compound content of kirinyuh leaves and to determine the antibacterial activity of methanol extract of kirinyuh leaves (Chromolaena odorata L.) against Staphylococcus epidermidis bacteria. Phytochemical screening tests include flavonoids, alkaloids, phenols, saponins, steroids and tannins. Antibacterial activity testing was carried out using the well-diffusion method using 5 series of concentrations namely 15%, 30%, 45%, 60% and 100% and the positive control was clindamycin $2\mu\text{g}/\text{disk}$, and the negative control was using 0.5% Na-CMC. The results of the phytochemical screening showed that the methanol extract of kirinyuh leaves (Chromolaena odorata L.) positively contained flavonoids, phenols, alkaloids, steroids, saponins and tannins. The test results showed that the concentrations of 15%,

30%, 45%, 60% and 100% of the methanol extract of kirinyuh leaves (*Chromolaena odorata* L.) were included in the medium inhibition zone category with an average inhibition zone of 6.41 mm; 6.86mm; 7.16mm; 7.97mm; and 9.35mm. Analysis of Mann Witney test data showed differences in antibacterial activity of methanol extract of kirinyuh leaves (*Chromolaena odorata* L.) with concentrations of 15%, 60% and 100% against *Staphylococcus epidermidis* bacteria in the medium category.

Keywords: *S.epidermidis*, Kirinyuh leaves (*Chromolaena odorata* L.), Methanol Extract, Antibacterial.

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan penyebab utama tingginya angka kematian di Negara-negara berkembang seperti Indonesia. Penularan penyakit infeksi bisa dari satu orang ke orang lain atau dari hewan ke manusia. Penyakit infeksi dapat disebabkan oleh beberapa mikroorganisme seperti bakteri, virus, parasit dan jamur (Libertucci *et al.*, 2019). Penyakit karena bakteri sering terjadi di lingkungan sekitar, salah satunya infeksi kulit seperti jerawat, bisul, dan lain-lain yang umumnya ditemukan pada orang dengan sanitasi yang buruk. *Staphylococcus epidermidis* dapat menyebabkan infeksi kulit ringan yang disertai dengan pembentukan abses. (Fuad, 2014).

Salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan untuk pengobatan tradisional adalah daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.). Daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) dapat dimanfaatkan untuk terapi penyakit infeksi. Daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) mengandung senyawa flavonoid, tannin dan saponin yang diketahui berfungsi sebagai antibakteri (Hidayatullah, 2018). Secara empiris daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) digunakan sebagai penyembuhan luka, obat kumur, antidiare, antimikroba, antihipertensi dan antiinflamasi (Sukarno, 2017).

Menurut penelitian Andika *et al.*, (2020), daun kirinyuh

(*Chromolaena odorata* L.) mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, fenol, tannin, dan saponin berfungsi sebagai agen antibakteri. Penelitian Nurhanifah *et al.*, (2022), membuktikan kandungan senyawa ekstrak etanol 96% daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 2%, 4%, dan 8% dengan kategori kuat. Penelitian yang dilakukan Komala *et al.*, (2021) juga menggunakan ekstrak etanol 96% daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* pada konsentrasi 10%, 15%, dan 20% dengan kategori lemah. Penelitian yang dilakukan Aini *et al.*, (2022) dalam penelitiannya menunjukkan hasil ekstrak etanol 96% daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% menghasilkan diameter zona hambat dengan kategori kuat.

Penelitian lain yang dilakukan Rosaliana *et al.*, (2022) menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan zona hambat kategori sangat kuat. Penelitian Febrianasari, (2018) juga menggunakan ekstrak metanol daun

kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 15%, 30%, 45%, 60%, dan 100% didapat hasil dengan kategori sedang. Menurut Hanphakphoom et al., (2016) Aktivitas antibakteri yang dihasilkan dari ekstrak metanol daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) disebabkan karena adanya senyawa flavonoid. Flavonoid sebagai antibakteri dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Ngajow et al., 2013).

Berdasarkan penelitian-penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa daun kirinyuh dapat digunakan sebagai antibakteri terhadap beberapa bakteri. Maka dari itu penelitian ini bertujuan mengetahui kandungan senyawa yang terdapat pada ekstrak metanol daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.), serta untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) dalam menghambat bakteri *Staphylococcus epidermidis* sehingga peneliti bisa menguji apakah zat antibakteri yang terdapat dalam daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan pelarut metanol.

METODE PENELITIAN

Pengumpulan Bahan dan Determinasi

Sampel daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) diambil dari yang diperoleh daerah Cempaka, Banjarbaru, Kalimantan Selatan. Tumbuhan Kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) yang terdiri dari batang, daun dan akar kemudian dideterminasi di

Laboratorium Dasar FMIPA Universitas Lambung Mangkurat dengan nomor 03a/LB.LABDASAR/II/2023. yang diperoleh daerah Cempaka, Banjarbaru, Kalimantan Selatan pada bulan Februari 2023.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain *autoklaf* (All amerikan[®]), *aluminium foil*, batang pengaduk, blender, botol maserasi, Bunsen, batang L, cawan petri, cawan penguap, corong, *cuttun swab steril*, Erlenmeyer (Pyrex[®]), gelas beker (Pyrex[®]), gelas ukur (Pyrex[®]), inkubator, jangka sorong, kapas, kaca arloji, kertas perkamen, kertas saring, *Laminar Air Flow* (LAF), lemari pendingin, *magnetic stirrer*, mikropipet, ose, oven (Themo Scientific[®]), pinset, pengayak, penjepit kayu, pipet tetes, rak tabung reaksi, *rotary evaporator* (IKRF10[®]), kertas saring, *stopwatch*, tabung reaksi (iwaki[®]), timbangan analitik (Ohaus[®]) dan Waterbath (Memmart[®]).

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain asam asetat anhidrat, asam sulfat (H₂SO₄) pekat, asam klorida (HCl) pekat, aquadest, bakteri *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, BaCl₂, ekstrak daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.), FeCl₃, Kloroform, klindamisin, media *Mueller Hiton Agar* (MHA), media *Nutrien Agar* (NA), metanol, Na-CMC 0,5%, NaCl 0,9%, serbuk Mg (Magnesium), pereaksi *Dragendroff*, pereaksi *Wagner*, dan pereaksi *Mayer*.

Pembuatan Simplisia Daun Kirinyuh

Daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) helai daun nomor 4 sampai 6 karena daun nomor 4 sampai 6 telah mengalami pematangan fisiologis sehingga memiliki kandungan metabolit sekunder yang maksimal

(Manguntugi et al., 2016). Daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) dilakukan pengeringan, bertujuan untuk mendapatkan simplisia yang tahan lama, tidak mudah rusak dan dapat disimpan pada waktu yang lebih lama. Pada pengeringan alamiah yaitu diangin-anginkan atau sinar matahari langsung bisa dilakukan pada jam 8-10 pagi dengan ditutupi kain hitam. Sedangkan pada pengeringan menggunakan instrument seperti oven, suhu oven tidak boleh melebihi 60°C. Selanjutnya daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) dilakukan sortasi kering untuk menghilangkan sisa-sisa pengkotor dari bagian daun yang ingin digunakan. Simplisia kemudian dihaluskan dengan blender hingga diperoleh simplisia dalam bentuk serbuk dan diayak dengan menggunakan ayakan mesh nomor 40, agar memudahkan pada saat penelitian. Lalu daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) disimpan dalam wadah tertutup rapat untuk menghindari masuknya mikroorganisme pada simplisia tersebut. Kemudian ditimbang dan dihitung rendemen simplisianya (Melinda, 2014).

Pembuatan Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh

Sebanyak 200g serbuk simplisia daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) dan kemudian di ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Maserasi dilakukan dengan cara merendam simplisia daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) menggunakan metanol dengan perbandingan 1:5 sebanyak 1000 ml pada suhu ruang tanpa kontak langsung dengan sinar matahari selama 3 × 24 jam dengan pergantian pelarut setiap 24 jam (Djumaati et al., 2018). Kemudian ekstrak cair dipisahkan dari residu menggunakan kertas saring. Dilakukan remaserasi sebanyak 2 kali. Hasil filtrat yang

diperoleh dipekatkan menggunakan alat rotary evaporator dengan suhu 60°C, kemudian hasil pemekatan diuapkan dalam cawan perselin diatas waterbath hingga menjadi ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh diambil sedikit untuk dilakukan uji fitokimia. Kemudian dihitung persen ekstrak (Handayany, 2016).

Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh

a. Uji Alkaloid

Ekstrak sebanyak 0,1 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan 5 ml HCL 2N. Pengujian dilakukan dengan mengambil 1 ml larutan ke dalam tabung reaksi, setelah itu larutan ditambahkan dengan 5 tetes reagen *Dragendroff*. Jika larutan terbentuk endapan jingga maka positif mengandung alkaloid. Pengujian alkaloid dilakukan dengan menggunakan reagen *Mayer* dengan cara mengambil sebanyak 1 ml sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 5 tetes reagen *Mayer*. Jika larutan terbentuk endapan putih maka positif mengandung alkaloid. Selanjutnya pengujian dengan menggunakan reagen *Wagner* dilakukan dengan mengambil 1 ml sampel dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, setelah itu ekstrak ditambah dengan 5 tetes reagen *Wagner*. Jika larutan terbentuk endapan coklat sampai hitam maka positif mengandung alkaloid (Najoan et al., 2016; Muthmainnah, 2017).

b. Uji Flavonoid

Ekstrak kental ditimbang sebanyak 0,1 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 ml asam klorida (HCl) pekat, lalu tambahkan 0,5 mg serbuk magnesium (Mg), dan

amil alkohol, apabila menghasilkan warna merah, kuning atau jingga, ekstrak positif mengandung flavonoid (Najoan et al., 2016).

c. Uji Fenolik

Ekstrak kental 0,1 g sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu dilarutkan dengan pelarut, kemudian ditambahkan 10 tetes FeCl₃ 10%. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna biru tua atau kehitaman menunjukkan adanya fenol (Fitriyanti et al., 2019).

d. Uji Saponin

Ekstrak sebanyak 0,1 g dimasukkan dalam tabung reaksi ditambahkan 10 ml air hangat, kemudian ditutup dan gojok kuat selama 10 detik dan dibiarkan selama 10 menit, kemudian ditambahkan 3 tetes HCl 2N. Hasil dinyatakan positif apabila buih yang terbentuk stabil setelah penambahan HCl 2N (Ramadhan et al., 2019).

e. Uji Steroid

Ekstrak sebanyak 0,1 g sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian tambahkan 2 ml kloroform dan 10 tetes CH₃COOH glasial dan 3 tetes H₂SO₄ pekat (pereaksi Lieberman-Burchard), apabila menghasilkan warna biru sampai hijau, ekstrak positif mengandung steroid. Sedangkan terpenoid menghasilkan warna merah ungu (Ramadhan et al., 2020).

f. Uji Tanin

Ekstrak 0,1g dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 3 tetes larutan Gelatin 1%. Sampel positif dengan terbentuknya endapan putih (Saputri et al., 2017).

Uji Antibakteri

a. Sterilisasi Alat dan Bahan

Semua alat yang digunakan dicuci bersih terlebih dahulu. Alat berupa kaca (tabung reaksi, gelas beker, Erlenmeyer, cawan petri dan pinset) ditutup mulutnya dengan kapas steril yang dibalut dengan kain kasa steril kemudian sterilkan di dalam oven pada suhu 180°C selama 1 jam, sedangkan alat yang terbuat dari karet disterilkan dengan cara pemijaran pada nyala api bunsen. Media NA dan MHA disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. LAF sterilkan dengan menyalakan lampu UV selama 2 jam, dibersihkan dan disemprot dengan alkohol 70%, kemudian dibiarkan selama 15 menit (Handayani et al., 2017).

b. Peremajaan Bakteri

Media agar miring dibuat dengan cara melarutkan *Nutrient Agar* (NA) sebanyak 0,34g dalam 15 ml aquadest (28g/1000ml) menggunakan Erlenmeyer. Setelah itu dihomogenkan dengan stirrer diatas penangas air sampai mendidih. Sebanyak 5 ml dituangkan masing-masing pada 3 tabung reaksi steril dan ditutup dengan aluminium foil. Media tersebut disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian dibiarkan pada suhu ruangan selama ± 30 menit sampai media memadat pada kemiringan sekitar 30°-40°. Media agar miring digunakan untuk inokulasi bakteri (Muljono et al., 2016). Peremajaan bakteri *Staphylococcus epidermidis* diinokulasikan medium agar diambil satu ose selanjutnya goreskan ke permukaan agar NA secara zig-zag lalu media

kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam untuk bakteri *Staphylococcus epidermidis* (Nurhanifah et al., 2020).

a. Pembuatan Larutan Standar 0,5 McFarland

Pembuatan larutan standar McFarland 0,5 dilakukan dengan cara campurkan larutan H₂SO₄ 1% sebanyak 9,95 ml dengan larutan BaCl₂ 1% sebanyak 0,05 ml ke dalam Erlenmeyer. Kocok sampai terbentuk larutan yang keruh. Kekeruhan dari larutan McFarland digunakan sebagai standar kekeruhan suspensi bakteri uji dan setara dengan kepadatan bakteri (1,5 x 10⁸ CFU/ml) (Pehino et al., 2021).

b. Pembuatan Suspensi Bakteri

Suspensi bakteri dibuat dengan menambahkan koloni *Staphylococcus epidermidis* yang berusia lebih dari 24 jam dan telah diinokulasi dengan jarum ose steril ke dalam larutan NaCl 0,9% di dalam tabung reaksi. Kemudian disuspensikan kekeruhan suspensi 34 bakteri dengan standar kekeruhan 0,5 McFarland untuk mendapatkan bakteri sebanyak 108CFU/mL. (Dian, 2019).

c. Pembuatan Media Mueller Hinton Agar (MHA)

Pembuatan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) menggunakan cawan petri 20 ml, lalu dibuat media dengan cara menimbang *Mueller Hinton Agar* (MHA) ditimbang sebanyak 6,84g (38g/1000ml) larutkan dalam 180 ml aquadest dan masukkan ke dalam erlenmeyer. Kemudian dididihkan diatas hot plate dan dihomogenkan hingga bening. Selanjutnya larutkan agar disterilkan dalam autoklaf pada

suhu 121°C selama 15 menit (Nurhanifah et al., 2020). Dinginkan sampai suhu ± 50°C, larutan yang telah di sterilkan dituang kedalam 9 cawan petri sebanyak 20 ml (untuk satu cawan) biarkan hingga memadat dan di simpan dalam kulkas (Fitriyanti et al., 2019).

d. Uji Antibakteri dengan Metode Sumuran

Penelitian ini menggunakan metode sumuran (*Cup plate technique*). Difusi sumuran adalah pembuatan lubang dengan pada media padat yang telah diinokulasi bakteri. Lubang diinjeksi dengan ekstrak yang diujikan. Parameter dari metode ini adalah dengan mengukur zona hambat yang terbentuk disekeliling sumuran. Media yang digunakan yaitu *Mueller Hinton Agar* (MHA). Kontrol positif 37 yang digunakan yaitu antibiotik klindamisin 2µg/disk serta kontrol negatif Na-CMC 0,5%. Suspensi bakteri *Staphylococcus epidermidis* diambil menggunakan cotton swab lalu digoreskan secara zig-zag kedalam 9 cawan petri yang berisi *Mueller Hinton Agar* (MHA). Digunakan 5 cawan petri berisi media yang sudah diinokulasi bakteri *Staphylococcus epidermidis* dibuat menjadi 5 lubang sumuran menggunakan cork borer, untuk berbagai seri konsentrasi ekstrak (15%, 30%, 45%, 60% dan 100%), 4 cawan petri lainnya dibuat 2 lubang untuk kontrol positif dan kontrol negatif. Pada kontrol positif diberi Klindamisin 2µg/disk dan kontrol negatif dengan Na-CMC 0,5%. Kemudian cawan petri dimasukkan dalam lemari pendingin pada suhu 4°C selama 24 jam. Tujuannya agar senyawa berdifusi pada media sebelum

terjadi pertumbuhan bakteri uji. Sampel uji dibiarkan meresap pada media sumuran yang telah dibuat. Diinkubasi kedalam inkubator dengan suhu 37°C selama 48 jam. Amati zona hambat yang terbentuk kemudian ukur menggunakan jangka sorong (Damayanti, 2014)

Analisis Data

Data diameter zona hambat yang diperoleh akan dianalisis dan diolah menggunakan program SPSS. Hal ini bertujuan untuk melihat apakah ada perbedaan dari masing-masing kelompok uji yang mengandung kontrol positif klindamisin dan kontrol negatif 38 Na-CMC 0,5% dengan berbagai konsentrasi ekstrak metanol daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Sebelum dianalisis, dilakukan pengujian normalitas dan homogenitas terlebih dahulu.

Uji normalitas bertujuan untuk memperlihatkan bahwa data yang dilakukan memiliki distribusi normal atau tidak. Normalitas dipenuhi jika hasil uji signifikan dengan taraf signifikan ($\alpha = 0,05$). Apabila nilai signifikan lebih besar dari α , maka data tersebut terdistribusi normal. Sebaliknya apabila nilai signifikansi lebih kecil dari α , maka data tersebut tidak terdistribusi normal.

Selanjutnya dilakukan uji homogenitas, bertujuan untuk

mengetahui varian dari beberapa populasi menunjukkan sama atau tidak. Apabila nilai signifikan pada uji homogenitasnya lebih kecil dari α , maka varian dari dua atau lebih kelompok populasi data adalah tidak sama. Kebalikannya, apabila nilai signifikan lebih besar dari α , maka varian dari dua atau lebih kelompok populasi data adalah sama. Setelah diperoleh data normalitas dan homogenitas maka dapat dilanjutkan dengan melakukan analisis *One Way ANOVA*. Dan apabila pada analisis data homogenitas didapatkan data tidak homogen maka pengujian yang akan dilakukan adalah uji non-parametrik yakni uji *Kruskall-Wallis*, selanjutnya analisis menggunakan uji *Mann-Whitney*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan adalah tanaman daun kirinyuh yang termasuk dalam spesies (*Chromolaena odorata* L. King & H.E. Robins), daun kirinyuh sebanyak 3000 g dibuat simplisia.

Hasil pembuatan ekstrak metanol daun kirinyuh diperoleh ekstrak kental sebanyak 23,65 g dengan nilai rendemen 11,82%. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh bahwa ekstrak methanol daun kirinyuh mengandung golongan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, steroid dan tanin (Tabel 1.)

Tabel 1. Hasi Uji Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh

No.	Jenis Uji	Pereaksi	Hasil	Keterangan
1.	Alkaloid	HCl 2N + Mayer	(+)	Terbentuk endapan putih kekuningan
		HCl 2N + Wagner	(+)	Terbentuk endapan coklat
		HCl 2N + Dragendorff	(+)	Terdapat endapan coklat kehitaman
2.	Flavonoid	HCl Pekat + serbuk Mg + Amil alkohol	(+)	Terbentuk larutan berwarna merah jingga

3.	Fenol	FeCl ₃	(+)	Adanya larutan berwarna hijau kehitaman
4.	Saponin	Aquadest + HCl 2N	(+)	Terbentuk busa tetap
5.	Steroid	Kloroform + Asam Asetat Anhidrat + H ₂ SO ₄	(+)	Terbentuk larutan berwarna hijau
6.	Tanin	Gelatin 1%	(+)	Terbentuk endapan putih

Berdasarkan hasil skrining fitokimia, ekstrak methanol daun kirinyuh mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, steroid dan tanin. Sedangkan penelitian Nurhasanah *et al.*, (2020), menyatakan bahwa ekstrak meanol daun kirinyuh memiliki senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin dan steroid.

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun kirinyuh (*Chromolaena Odorata L.*) menggunakan metode sumuran. Pemilihan metode sumuran ini dikarenakan metode ini dapat menampung konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode cakram (Prayoga, 2013).

Rata-rata diameter zona hambat terkecil pada konsentrasi ini yaitu 15% yaitu 6,41 mm kategori sedang. Konsentrasi tertinggi 100% dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 9,33 mm yang termasuk kategori sedang. Dari hasil uji aktivitas ekstrak metanol daun kirinyuh (*Chromolaena odorata L.*) memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *S.epidermidis* walaupun daya hambatnya sedang, tetapi zona hambat yang dihasilkan tidak melebihi zona hambat dari

kontrol positif yaitu Klindamisin 2µg/disk.

Penelitian sebelumnya oleh Febrianasari (2018) dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dengan konsentrasi yang sama yaitu 15% dengan zona hambat 0 mm, 30% dengan zona hambat 0,42 mm, 45% dengan zona hambat 2,13 mm, 60% dengan zona hambat 6,78mm dan 100% dengan zona hambat 7,47 mm dengan kategori sedang, dimana semakin meningkat konsentrasi maka semakin besar zona hambatnya. Hal tersebut dikarenakan pada konsentrasi yang lebih besar zat aktif yang terkandung semakin banyak (Pehino *et al.*, 2021).

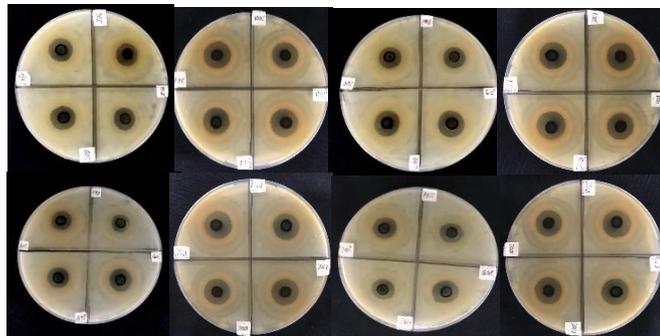
Aktivitas antibakteri yang ditimbulkan terkait dengan adanya hasil skrining fitokimia kandungan metabolit sekunder yang ada pada daun kirinyuh (*Chromolaena odorata L.*) seperti alkaloid, flavonoid, fenol, tannin, saponin, steroid dan terpenoid yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri.

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakkan bahwa ekstrak methanol daun kirinyuh (*Chromolaena odorata L.*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Hasil pengujian ini dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 1.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Antibakteri

Konsentrasi Ekstrak & Kontrol	Replikasi				Rata-rata (mm) ± Standar Deviasi	Kategori
	1 (mm)	2 (mm)	3 (mm)	4 (mm)		
15%	5,85	6,65	6,5	6,65	6,41 ± 0,38	Sedang
30%	6,95	6,9	6,65	6,95	6,86 ± 0,14	Sedang
45%	7,05	7,4	6,85	7,35	7,16 ± 0,26	Sedang
60%	7,85	8,45	8,15	7,45	7,97 ± 0,43	Sedang
100%	9,3	9,3	9,15	9,55	9,32 ± 0,14	Sedang
K (+)	14,2	14,35	14,95	15,15	14,66 ± 0,39	Kuat
K (-)	0	0	0	0	0	Tidak ada

Keterangan : Kontrol (+): Klindamisin $2\mu\text{g}/\text{disk}$



: Kontrol (-): Na-CMC 0,5%

Gambar 1. Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh

Analisis data yang diperoleh dianalisis menggunakan program SPSS 21. Pengujian pertama dilakukan dengan uji normalitas *Shapiro wilk* untuk mengetahui kenormalan distribusi data pengujian antibakteri kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas *Levene* untuk mengetahui kehomogenan data pengujian antibakteri ekstrak metanol daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) terhadap bakteri *S.epidermidis*. Data dari hasil pengujian antibakteri yang diperoleh akan dianalisis pengujian data statistik nonparametrik menggunakan uji *Kruskal Wallis* dan *Mann Whitney*. Uji *Kruskal Wallis* adalah salah satu uji statistik nonparametrik yang dapat digunakan untuk menguji apakah ada perbedaan yang signifikan antara kelompok variabel

independen dan variabel dependennya.

Hasil uji dari *Shapiro-wilk* menunjukkan bahwa pada konsentrasi 15% dan 30% menunjukkan data tidak terdistribusi normal sedangkan pada konsentrasi 45%, 60% dan 100% terdistribusi secara normal. Hasil dari uji homogenitas menghasilkan nilai sig. 0,004 ($p < 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa pengujian antibakteri ekstrak metanol daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) terhadap bakteri *S.epidermidis* tidak bervariasi homogen. Hal ini sesuai dengan penelitian Ekayani *et al.*, (2021) bahwa hasil uji normalitas *Shapiro wilk* dan uji homogenitas jika nilai signifikan ($p < 0,05$) sehingga data tidak terdistribusi secara normal dan tidak homogen.

Syarat uji anova tidak terpenuhi pada data yang dihasilkan maka dilanjutkan dengan uji analisis nonparametrik yaitu uji Kruskal Wallis yang digunakan sebagai uji alternatif untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan terhadap pengujian antibakteri. Uji Kruskal Wallis menghasilkan nilai sig. 0,000 yang artinya ($p < 0,05$) maka dapat diartikan bahwa H_1 diterima H_0 ditolak dan dapat ditarik kesimpulan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada setiap masing-masing kelompok konsentrasi ekstrak, kontrol positif dan kontrol negatif.

Pengujian selanjutnya yaitu uji Mann Whitney yaitu merupakan uji nonparametrik untuk mengkaji perbandingan rata-rata dari dua sampel acak apabila sampel acak tersebut berasal dari 1 populasi,

saling bebas, tidak berdistribusi normal, dan skala ordinal. Uji Mann Whitney untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan bermakna yang ditimbulkan oleh setiap konsentrasi dalam pengujian antibakteri *S.epidermidis*.

Hasil dari uji Mann Whitney menunjukkan adanya perbedaan antara dua kelompok yang dikatakan berbeda signifikan apabila nilai sig yang diperoleh ($p < 0,05$). Hasil analisis diperoleh nilai sig dari ekstrak metanol daun kirinyuh (*Chromolaena odorata L.*) terhadap bakteri *S.epidermidis* dengan konsentrasi 15%, 60% dan 100% serta kontrol positif dan negatif memiliki nilai sig. 0,020, 0,021, 0,020, 0,020, dan 0,014 ($p < 0,05$) yang artinya memiliki perbedaan pada zona hambat.

Tabel 3. Hasil Analisis SPSS dengan uji *Mann Whitney*

Perlakuan	K(+)	K(-)	15%	30%	45%	60%	100%
K(+)	-	0,014	0,020	0,020	0,021	0,021	0,020
K(-)	0,014	-	0,013	0,013	0,014	0,014	0,013
15%	0,020	0,013	-	0,037	0,020	0,020	0,019
30%	0,020	0,013	0,037	-	0,146*	0,020	0,019
45%	0,021	0,014	0,020	0,146*	-	0,021	0,020
60%	0,021	0,014	0,020	0,020	0,021	-	0,020
100%	0,020	0,013	0,019	0,019	0,020	0,020	-

Keterangan : K(+) : Kontrol Positif Klindamisin $2\mu\text{g}/\text{disk}$

K(-) : Kontrol Negatif Na-CMC 0,5%

(*) : Menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan

($p > 0,05$)

Sedangkan pada konsentrasi 30% dan 45% tidak memiliki perbedaan zona hambat dengan nilai sig. 0,146 ($p > 0,05$). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Ekayani *et al.*, (2021) bahwa jika nilai signifikan ($p < 0,05$) menunjukkan kelompok perlakuan terdapat perbedaan bermakna kecuali jika nilai signifikan ($p > 0,05$) tidak memiliki perbedaan bermakna.

KESIMPULAN

Kandungan metabolit sekunder dari ekstrak metanol daun kirinyuh (*Chromolaena odorata L.*) positif memiliki kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, fenol, tannin, saponin dan steroid.

Penelitian ini dapat dilanjutkan dalam pembuatan formulasi sediaan dan uji aktivitas antibakteri sediaan farmasi yang dibuat.

DAFTAR PUSTAKA

- Aini, F., Hardani., Purmafitriah, E., Halid, M. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Journal Pharmaceutical & Traditional Medicine*, 6(1): 2548-6365.
- Andika, B., Halimatussakdiah, H., dan Amna, U. (2020). Analisis Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Daun Gulma Siam (*Chromolaena odorata* L.) di Kota Langsa, Aceh. *QUIMICA: Jurnal Kimia Sains Dan Terapan*, 2(2): 1-6.
- Diana, R., Talahatu, dan P. M. Papilaya. (2015). Pemanfaatan Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L) sebagai Herbisida Alami terhadap Pertumbuhan Gulma Rumpuk Teki (*Cyperus rotundus* L.). *Biopendix*. 1(2) : 160 -170.
- Djumaati, F. Paulina, V.Y.Y. Widya, A.L. (2018). Formulasi Sediaan Salep Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) Dan Uji Aktivitas Antibakterinya Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Pharmakon Jurnal Ilmiah Farmasi*. 7(1), 22-29.
- Ekayani, M. Juliantoni, Y. Hakim, A. (2021). Uji Efektivitas Larvasida dan Evaluasi Sifat Fisik Sediaan Losio Antinyamuk Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) Terhadap Nyamuk *Aedes Aegypti*. *Jurnal Inovasi Penelitian*. 2(4), 1261-1270.
- Fitriyanti., Abdurrazaq, M. Nazarudin. (2019). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* Merr.) Terhadap *Staphylococcus Aureus* Dengan Metode Sumuran. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 5(2): 174-182.
- Febrianasari, F. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata*) Terhadap *Staphylococcus epidermidis* Dari Yogyakarta. *Skripsi*. Program Studi Pendidikan Biologi, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.
- Fuad, Z. (2014). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Awar-awar (*Ficus septica* Burm f) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 29523 Dan *Escheria coli* ATCC 35218, *Skripsi*, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga, Yogyakarta.
- Handayani, R. & Heni, R. (2017). Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Akar Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Surya Medika* Vol 2 (2) : 1-4.
- Handayany, G.N., (2016). Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antimikroba Ekstrak Metanol Daun Mimba (*Azadirachta indica* Juss), *Jurnal Teknosains*, 10(2): 211-222.
- Hanphakphoom, S., Thophon, S. Waranusantigul, P., Kangwanrangsang, N., Krajangsang, S., (2016). Antimicrobial Activity of *Chromolaena odorata* Extracts against Bacterial Human Skin Infections. *Journal Modern Applied Science*, 10(2), 159.
- Hidayatullah ME, (2018). Potensi Ekstrak Etanol Tumbuhan Kirinyuh (*Chromolaena odorata*) sebagai Senyawa Anti-Bakteri, *University Research Colloquium*.
- Komala, O., Yulianita., Rahmawati, R. (2021). Aktivitas Ekstrak Etanol 96% dan Fraksi Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) terhadap *Propionibacterium*

- acnes. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 11(1), 23-34.
- Libertucci, J., & Young, V. B. (2019). The Role of the Microbiota in Infectious Diseases. *Nature Microbiology*, 4(1), 35-45.
- Manguntungi, B., Kusuma, A.B., Yulianti., Asmawati., Yunianti., (2016). Pengaruh Kombinasi Ekstrak Kirinyuh (*Chromolaena odorata*) dan Sirih (*Piper betle* L) dalam Pengendalian Penyakit Vibriosis pada Udang, *Biota*, 1(3):138-144.
- Melinda. (2014). Aktivitas Antibakteri Daun Pacar (*Lowsonia inermis* L), *Skripsi*, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Muljono, P. Fatiawali. Aetje E. M. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Mayana Jantan (*Coleus atropurpureus Benth*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus* Sp Dan *Pseudomonas* Sp. *Jurnal e-Biomedik (eBm)*, 04(1).
- Muthmainnah. (2017). Uji Skrining Fitokimia Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica granatum* L.) Dengan Metode Uji Warna. *Jurnal Media Farmasi*, XIII, 23.
- Najoan, J. J., Runtuwene, M. J. R., & Mewengkang, D. S. (2016). Uji Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Tiga (*Allophylus cobbe* L). *Jurnal Pharmacon*. 5(1): 266-274.
- Ngajow, Mercy, Jemmy Abidjulu, Vanda S.K., (2013). Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara In Vitro, *Jurnal MIPA UNSRAT Manado*. 2(2): 128-132.
- Nurhanifah, St. Ratnah, Sesilla Rante Pakadang. (2022). Potensi Antibakteri Ekstrak Daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) Terhadap *Pseudomonas aeruginos* Dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal AKFARINDO*, 7(2), 94-99.
- Nurhasanah. Gultom, E.S. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata*) Terhadap Bakteri MDR (*Multi Drug Resistant*) Dengan Metode KLT Bioautografi. *Jurnal Biosains*. 6(2): 45-52.
- Pehino Albrita, Fatimawali, Elly J. Suoth. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Buah Duku *Lansium domesticum* Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Pharmacon Universitas Sam Ratulangi*. 10(2).
- Prayoga, Eko. (2013). Perbandingan Efek Ekstraksi Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dengan Metode Difusi Disk dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Progra Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Ramadhan, H., Andina, L., Vebruati, Nafila, Yuliana, K.A., Baidah, D., Lestari, N.P. (2020). Perbandingan Rendemen dan Skrining Fitokimia Dari Ekstrak Etanol 96% Daun, Buah dan Kulit Buah Terap (*Artocarpus odoratissimus Blanco*). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*. 11(2): 103-112.
- Rosaliana Y. Kurang, Ribka Penlaana. (2022). Daya Hambat Ekstrak Metanol dan Etil Asetat Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) terhadap Bakteri *Escherichia Coli*. *Jamb Journal of Chem*, 4(2), 22-29.