



Potensi Ekstrak Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata*) dalam Menghambat Bakteri Patogen (*E. sakazakii*, *S. typhi*, dan *L. monocytogenes*)

Linda Wulandari¹, Khotibul Umam^{2*},

^{1,2}Prodi Bioteknologi, Fakultas Ilmu dan Teknologi Hayati, Universitas Teknologi Sumbawa, Indonesia

*Korespondensi Penulis : khotibul.umam@uts.ac.id

ABSTRAK

Kirinyuh (*Chromolaena odorata*) merupakan salah satu jenis tanaman liar yang sulit untuk diberantas karena memiliki pertahanan tinggi, sehingga tanaman ini dianggap sebagai tanaman gulma yang merugikan para petani dan pekebun. Akan tetapi tanaman kirinyuh memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai antibakteri. Salah satu kandungan alaminya yang menunjukkan efek farmakologi adalah flavonoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri, dan konsentrasi efektif ekstrak kirinyuh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Enterobacter sakazakii*, *Salmonella typhi*, dan *Listeria monocytogenes*. Untuk mendapatkan ekstrak digunakan metode ekstraksi dengan cara maserasi atau perendaman menggunakan pelarut etanol 96%. Konsentrasi ekstrak kirinyuh yang digunakan adalah 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Sedangkan kontrol positif digunakan Ampisilin, dan kontrol negatif etanol 96% serta untuk pengujian aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi sumur. Hasil uji aktivitas antibakteri dianalisis dengan menggunakan ANOVA tingkat kepercayaan sebesar 95% dan dilanjutkan dengan uji Duncan's Multiple Range Test (DMRT). Hasil penelitian menunjukkan bahwa variasi konsentrasi ekstrak 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% telah memberikan aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri uji. Pada konsentrasi 100% ekstrak kirinyuh lebih efektif sebagai antibakteri terhadap bakteri *Enterobacter sakazakii*, *Salmonella typhi*, dan *Listeria monocytogenes* dibandingkan dengan variasi konsentrasi lainnya. Peningkatan konsentrasi ekstrak kirinyuh menunjukkan semakin besar diameter zona hambat pertumbuhan bakteri. Hasil uji daya hambat dari ekstrak kirinyuh terhadap bakteri *Enterobacter sakazakii* dengan nilai rata - rata zona hambat sebesar 6,66 mm, dan terhadap bakteri *Salmonella typhi* nilai rata - rata zona hambat sebesar 4,83 mm, serta bakteri *Listeria monocytogenes* dengan nilai rata - rata sebesar 5,60 mm.

Kata kunci: Kirinyuh (*Chromolaena odorata*), aktivitas antibakteri, zona hambat.

ABSTRACT

Kirinyuh (*Chromolaena odorata*) is one of the wild plants found that is difficult to eradicate because it has a high defense, so this plants is considered a weed plant that is detrimental to farmers and planters. However, the kirinyuh plant has the potential to be developed as an antibacterial. One of the natural ingredients that show pharmacological effects is flavonoids. This study aims to determine the antibacterial activity, and the effective concentration of kirinyuh extract in inhibiting the growth of *Enterobacter sakazakii*, *Salmonella typhi*, and *Listeria monocytogenes* bacteria. To get the extract used extraction method by maceration of immersion using 96% ethanol as solvent. The concentration of kirinyuh extract used was 20%, 40%, 60%, 80%, and 100%. While the positive control was used Ampicillin and negative control was used ethanol 96%, and for testing the antibacterial activity was carried out using the well diffusion method. The results of the antibacterial activity test were analyzed using ANOVA with a 95% confidence level and continued with Duncan's Multiple Range Test (DMRT). The results showed that the extract concentrations of 20%, 40%, 60%, 80%, and 100% had given inhibitory activity to the growth of the test bacteria. At a concentration of 100%, kirinyuh extract was more effective as an antibacterial against bacteria *Enterobacter sakazakii*, *Salmonella typhi*, and *Listeria monocytogenes* bacteria compared to other concentrations. The increase in the concentration of kirinyuh extract showed the larger the diameter of the inhibition zone for bacterial growth. The results of the inhibitory power test of kirinyuh extract against bacteria *Enterobacter sakazakii* with an average value of the inhibition zone of 6,66 mm, and against *Salmonella typhi* the average value of the inhibition zone was 4,83 mm, and *Listeria monocytogenes* with an average value of 5,60 mm.

Keywords: Kirinyuh, antibacterial activity, zone of inhibition

doi: 10.33474/e-jbst.v8i2.497

Diterima tanggal 6 Januari 2023 – Diterbitkan Tanggal 21 Januari 2023

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>



Pendahuluan

Infeksi merupakan salah satu penyakit yang sejak dulu hingga sekarang banyak diderita masyarakat Indonesia. Banyaknya yang terinfeksi mengakibatkan tingginya penggunaan antibiotik. Antibiotik merupakan suatu zat yang sifatnya dapat menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri penyebab infeksi. Penggunaan antibiotik yang cukup tinggi dan tidak tepat dapat menimbulkan permasalahan kesehatan terutama resistensi bakteri terhadap antibiotik. Selain itu munculnya bakteri yang resistensi antibiotik dan bahkan tidak hanya bakteri patogen akan tetapi bakteri yang baik bagi tubuh kita dapat membahayakan dan berdampak pada morbiditas dan mortalitas, (Kementerian Kesehatan, 2011). Oleh karena itu pencarian suatu antibiotik dari tumbuhan terus dilakukan (Haryati dkk, 2015). Saat ini, masyarakat mulai mengutamakan penggunaan obat secara alami (back to nature). Perkembangan penggunaan obat tradisional khususnya dari tumbuh - tumbuhan untuk membantu meningkatkan kesehatan masyarakat sudah cukup meluas tersebar. Hasnawati dan Prawita (2010) menyatakan bahwa salah satu manfaat penggunaan antibakteri dari tumbuhan tersebut pada manusia adalah antibiotik. Oleh sebab itu, untuk mendapatkan senyawa antibakteri, dimana dengan memanfaatkan senyawa bioaktif dari kekayaan keanekaragaman hayati.

Salah satu keanekaragaman hayati tersebut yaitu jenis tanaman yang bisa dijadikan sebagai obat, salah satu tanaman tersebut adalah tanaman kirinyuh (*Chromolaena odorata*) yang bisa dijadikan sebagai antibiotik. Kirinyuh (*Chromolaena odorata*) ialah jenis tanaman famili Asteracea yang banyak tumbuh liar hampir di seluruh wilayah di Indonesia. Daun kirinyuh mengandung senyawa metabolit diantaranya yaitu senyawa tanin, senyawa steroid (Yenti dkk, 2011; Rizeki, 2016), senyawa saponin, flavonoid dan senyawa esensial lainnya (Vijayaraghavan et al, 2018). Umumnya tanaman kirinyuh dimanfaatkan secara tradisional oleh masyarakat sebagai obat dalam penyembuhan luka (Krestini et al, 2011), obat kumur untuk mengobati radang tenggorokan, obat malaria, sakit kepala, antidiare, dan astringent antiplasmodial, antihipertensi dan anti inflamasi (Vital dan Rivera, 2009; Vaisakh dan Pandey, 2012).

Berdasarkan dari manfaat tanaman kirinyuh, maka dilakukan penelitian untuk mengetahui adanya potensi pada ekstrak kirinyuh dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen (*Enterobacter sakazakii*, *Salmonella typhi*, dan *Listeria monocytogenes*) yang mengkontaminasi produk makanan, secara in vitro menggunakan metode difusi sumur. Tanaman kirinyuh diekstrak bagian daunnya dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Etanol merupakan suatu pelarut yang sifatnya polar, dimana dapat melarutkan senyawa polar. Penggunaan bagian daun kirinyuh dikarenakan adanya data empiris yang menerangkan bahwa daun kirinyuh dapat digunakan sebagai antibakteri.

Material dan Metode

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Tanaman Kirinyuh (*Chromolaena odorata*), bakteri patogen (*Enterobacter sakazakii*, *Salmonella typhi*, dan *Listeria monocytogenes*), HCl (Asam klorida), NaCl (Natrium klorida), etanol 96%, akuades, paper dish, plastik tahan panas, kapas, kain kasa, aluminium foil, spiritus, wrapping plastic, media NB (Nutrient Broth), dan media Nutrient Agar (NA).

Alat digunakan sebagai berikut: blender, timbangan analitik, kertas saring, mikro pipet, pipet tetes, gelas ukur, botol kuljar, rak tabung reaksi, tabung reaksi, tabung valcon, Bunsen, cawan petri, hot plate, Erlenmeyer, autoclave, laminar air flow (LAF).

Cara Kerja

Cara Kerja penelitian sebagaimana dijelaskan berikut :



1. Preparasi sampel

Sampel daun tanaman kirinyuh (*Chromolaena odorata*) yang diperoleh terlebih dahulu dibersihkan dari kotoran yang menempel dan dikering anginkan selama 3 hari pada suhu ruangan 25°C sampai daun kering, selanjutnya dihaluskan menggunakan blender dan disaring dengan ayakan sehingga diperoleh serbuk daun kirinyuh yang siap untuk dimaserasi.

2. Ekstraksi Daun Kirinyuh

Pembuatan ekstrak daun kirinyuh dilakukan dengan metode maserasi (perendaman) dengan menggunakan etanol dan aquades dengan perbandingan sampel dan pelarut 1:1. Maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam. Hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring. Filtrat ekstrak daun kirinyuh dipekatkan dengan menguapkan menggunakan alat rotary evaporator pada suhu 50°C dengan tekanan 20 Psi dan putaran 120 rpm (Susanty dan Bachmid, 2016).

3. Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Kirinyuh

Ekstrak daun kirinyuh yang diperoleh kemudian diuji kandungan metabolit sekundernya menggunakan uji skrining fitokimia. Pengujian dilakukan untuk mengetahui kandungan saponin, flavonoid, tanin, fenolik dan steroid serta triterpenoid.

a. Uji Saponin

Pengujian dilakukan dengan cara mengambil sampel ekstraksi daun kirinyuh ditambahkan sebanyak 5 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dan ditambahkan 15 ml air panas, setelah itu didinginkan kemudian dikocok selama 10 sampai 20 detik. Jika terbentuk busa setinggi 1 - 10 cm yang stabil tidak kurang dari 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan 3 tetes asam klorida 2 N menunjukkan adanya senyawa saponin. Hasil dari pengujian jika terdapat busa maka menunjukkan kandungan saponin (Ramyashree et al, 2012).

b. Uji Tanin

Pengujian dilakukan dengan cara mengambil sampel ekstrak daun kirinyuh 5 ml diaduk dengan 10 ml aquades, disaring dan ditambahkan 3 tetes reagen FeCl₃. Hasil akhir dari pengujian ini jika hasil menunjukkan warna hijau, biru, dan hitam maka menunjukkan kandungan tanin (Ramyashree et al, 2012).

c. Uji Flavonoid

Pengujian dilakukan dengan cara mengambil sampel ekstrak daun kirinyuh sebanyak 5 ml dicampur dengan aquades dan dilarutkan dengan serbuk Mg sebanyak 0,1 mg, lalu ditambahkan 3 tetes HCL sampai berubah warna. Apabila terbentuk warna orange, merah dan merah bata atau kuning berarti menandakan kandungan flavonoid (Pakaya, 2015).

d. Uji Fenolik

Pengujian dilakukan dengan cara mengambil sampel ekstrak daun kirinyuh sebanyak 5 ml ditambahkan larutan FeCl₃ 1 % sebanyak 3 tetes, positif adanya fenolik jika terjadi perubahan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam (Resmi, 2011).

e. Uji Senyawa Steroid dan Triterpenoid

Pengujian dilakukan dengan cara mengambil sampel ekstrak daun kirinyuh ditambahkan sebanyak 5 ml ke dalam gelas kimia, kemudian tambahkan 5 ml kloroform dan diaduk hingga rata. Setelah itu, tambahkan 3 tetes pereaksi H₂SO₄ pekat. Jika terbentuk warna merah berarti menunjukkan adanya steroid dan jika terbentuk warna biru kehijauan berarti menunjukkan triterpenoid (Resmi, 2011).

4. Uji Antibakteri

Tahapan persiapan uji aktivitas antibakteri meliputi peremajaan bakteri, pembuatan suspensi bakteri, persiapan Kontrol negatif dan Kontrol positif, dan pembuatan seri konsentrasi 100%, 80%, 60%, 40%, dan 20%. Uji kontrol positif dilakukan dengan menggunakan antibiotik Ampicilin dan uji kontrol negatif menggunakan Etanol 96%. Bakteri patogen yang digunakan sebagai bakteri uji yaitu bakteri *Enterobacter sakazakii*, *Salmonella typhi*, dan *Listeria monocytogenes*. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan tiga kali pengulangan. Sebelum melakukan uji aktivitas antibakteri



terlebih dahulu alat - alat non gelas disterilisasikan didalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan alat - alat gelas disterilisasikan di autoklaf suhu 121°C - 170°C selama 30 menit, jarum ose dibakar menggunakan Bunsen.

Uji antibakteri dilakukan untuk mengetahui potensi ekstrak daun kirinyuh menggunakan pelarut ethanol 96%. Metode uji aktivitas antibakteri yang digunakan adalah metode difusi sumur. Metode difusi sumur merupakan salah satu metode uji kepekaan terhadap aktivitas antibakteri dengan membuat sumuran pada media uji. Metode sumuran dilakukan dengan cara membuat lubang di sekitar media uji dengan menggunakan tip yang berdiameter 6 mm, yang selanjutnya diisi dengan zat antimikroba uji (ekstrak kirinyuh) dengan berbagai konsentrasi di dalam sumur yang telah dibuat di atas media padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Zona hambat yang disekitaran sumur diamati dengan melihat ada atau tidaknya zona hambat di sekeliling lubang, setelah diinkubasi selama 24 jam. Pemilihan metode ini disebabkan karena metode sumur lebih mudah terlihat zona hambat yang terbentuk, baik dilihat dari permukaan media ataupun di bagian dasar media. Berdasarkan penelitian sebelumnya, metode difusi sumur, zona hambat yang terbentuk lebih jelas terlihat dan lebih menampakkan hasil yang nyata. Dalimarth (2006) menyatakan bahwa pada metode sumur menyebabkan ekstrak dalam media terdifusi terjadi lebih menyeluruh dan lebih homogen serta konsentrasi ekstrak yang dihasilkan lebih tinggi dan lebih kuat untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Adapun metode Difusi agar, dengan cara:

a. Peremajaan Bakteri Patogen

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini yaitu bakteri *Enterobacter sakazakii*, *Salmonella typhi*, dan *Listeria monocytogenes*, setiap bakteri diinokulasi ke medium agar cair dengan cara mengambil sebanyak 100 ul menggunakan mikropipet, kemudian diinokulasikan dengan memasukkan bakteri ke dalam media cair NB. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruangan atau suhu 37°C di, sampai terjadi pertumbuhan (Chandra dkk, 2011).

b. Pengenceran Bakteri

Pengenceran bakteri digunakan pengenceran tingkat pertama (10-1), dimana dilakukan dengan cara 1 ml kultur patogen diambil menggunakan mikropipet, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml aquades steril, lalu diresuspensi hingga homogen.

c. Pembuatan media NA (Nutrien Agar)

Media NA ditimbang sesuai dengan formula masing - masing media (terlampir). Media yang telah ditimbang kemudian dimasukkan kedalam erlenmayer, lalu ditambahkan dengan aquades sesuai dengan volumenya. Kemudian dituang (*Pour Plate*) ke dalam kedalam cawan petri sebanyak 2 ml/cawan petri dan dilakukan di dalam laminar.

d. Uji antibakteri dengan metode sumuran

Metode difusi sumur dilakukan dengan cara melubangi permukaan media agar NA. Sebanyak 3 ml sampel bakteri diambil menggunakan mikropipet (masing-masing sampel diperlakukan 3x ulangan), kemudian di campur dengan media NA, sampai memadat (dilakukan hal yang sama). Lalu media yang memadat, dilubangi menggunakan tip untuk membuat sumur, kemudian dimasukkan ekstrak kirinyuh sebanyak 30 μ L pada masing – masing konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100%, dan kontrol + serta kontrol -. Setelah itu bagian sisi cawan petri disegel menggunakan seal atau plastic wrap. Kemudian sampel diinkubasi pada suhu ruang dan diamati setiap 2 jam sekali selama 24 jam.

5. Analisis Data

Setelah semua data didapatkan untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh dosis konsentrasi ekstrak daun kirinyuh dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen dilakukan analisis data menggunakan ANOVA dilanjutkan dengan uji sehingga ,%05,Duncan 0dapat diketahui lebih jelas perbedaan antar perlakuan perbedaan konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen.



Hasil dan Diskusi

1. Hasil Uji Identifikasi Fitokimia

Uji Identifikasi fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalam ekstrak daun kirinyuh (*Chromolaena odorata*). Identifikasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak kirinyuh dapat diketahui dengan adanya perubahan warna pada ekstrak setelah penambahan reagen pada uji fitokimia. Pengujian skrining fitokimia dilakukan secara kualitatif terdiri dari skrining saponin, flavonoid, tanin, fenolik, alkaloid, steroid dan triterpenoid. Hasil uji fitokimia ekstrak daun kirinyuh dapat dilihat pada tabel 1 berikut:

Tabel 1 Uji identifikasi pada ekstrak daun kirinyuh (*Chromolaena odorata*)

No	Uji Fitokimia	Hasil	Keterangan
1	Saponin	Ada gelembung	+
2	Flavonoid	Larutan hijau kebiruan	+
3	Tanin	Larutan hitam	+
4	Fenolik	Larutan Hitam	+
5	Triterpenoid	Larutan biru kehijauan	+
6	Steroid	Larutan hijau kebiruan	-

Skrining fitokimia bertujuan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak daun kirinyuh. Pada tabel 1, hasil uji positif senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak daun kirinyuh saponin, tanin, dan triterpenoid, sedangkan untuk steroid dan alkaloid tidak mengalami perubahan warna.

Skrining fitokimia ekstrak daun kirinyuh pada senyawa saponin dilakukan dengan menambahkan air panas sebanyak 15 ml kemudian dikocok selama 10 detik menghasilkan busa setinggi 2 cm yang bertahan sampai 10 menit, sehingga dinyatakan hasil positif. Tujuan penambahan logam Mg dan HCl adalah untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat dalam struktur flavonoid sehingga terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga. Hal ini sesuai dengan Simaremare (2014) menyatakan bahwa ciri khas saponin berbentuk buih atau busa karena memiliki gugus hidrofilik yang berikatan dengan air dan hidrofob yang berikatan dengan udara. Mekanisme kerja senyawa saponin tergantung dari konsentrasi saponin yang diberikan dan jumlah gugus gula pada aglikon. Saponin dengan konsentrasi tinggi memiliki kemampuan melisis membran sel, sementara saponin dengan konsentrasi rendah hanya mampu berinteraksi dengan membran sel tetapi tidak sampai melisis sel. Adapun aktivitas antibakteri dari senyawa saponin dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu jenis rantai aglikonnya, jumlah, posisi, dan struktur kimia dan gugus gulanya. Semakin banyak gugus gulanya, maka semakin lemah efek antibakterinya (Hassan dkk, 2008).

Pada pengujian senyawa flavonoid dilakukan penambahan serbuk magnesium sebanyak 0, 1 mg dan penambahan asam klorida pekat menghasilkan uji positif. Santi (2012) menyatakan bahwa, penambahan sedikit serbuk magnesium dan penambahan HCl berfungsi sebagai tereduksinya senyawa flavonoid, hasil menunjukkan warna hijau kebiruan hal ini menandakan adanya senyawa flavonoid pada sampel daun kirinyuh. Sedangkan uji senyawa tanin pada ekstrak daun kirinyuh dengan penambahan aquades dan reagen FeCl₃ menunjukkan hasil senyawa positif dengan ditandai dengan hitam kebiruan sesuai dengan Ramyashree et al, (2012) menyatakan bahwa senyawa tanin dikatakan positif jika menunjukkan hasil warna hijau atau biru pekat. Dalam penelitian Lim et al, (2006) menyatakan bahwa hanya tanin hidrolisis menunjukkan aktivitas antibakteri, tanin hidrolisis ditemukan memiliki aktivitas antibakteri yang jauh lebih baik dibandingkan tanin kondensasi atau campuran dari keduanya (Lim et al, 2006).

Dan hasil uji fenolik menunjukkan hasil larutan berwarna hitam yang mengindikasikan hasil positif. Merujuk pada penelitian Resmi (2011) menyatakan bahwa senyawa fenolik dikatakan positif jika menunjukkan hasil berwarna hijau, merah, ungu, biru atau hitam. Senyawa fenol memiliki aktivitas antibakteri dengan cara mendenaturasi protein dan mengganggu fungsi membran sel, yang menyebabkan sel lisis (Brooks dkk, 2008). Flavonoid turunan dari senyawa fenol dan bersifat koagulator protein (Juliantina dkk, 2009). Toksisitas senyawa fenol terhadap bakteri tergantung pada



jumlah gugus hidroksil dan konsentrasi yang diberikan (Cowen dkk, 1999). Fenol berikatan dengan protein melalui ikatan hydrogen sehingga mengakibatkan struktur protein menjadi rusak (Susanti dkk, 2008). Fenol memiliki kemampuan menyebabkan koagulasi protein sel dan melisis sel pada kadar yang tinggi, sedangkan pada saat konsentrasi rendah membentuk kompleks protein - fenol dengan ikatan yang lemah dan mengalami penguraian sehingga menyebabkan efek antibakterinya lemah (Sari dkk, 2010).

Pada pengujian senyawa triterpenoid terdapat perubahan warna menjadi larutan biru kehijauan dimana menunjukkan hasil uji positif. Senyawa golongan terpenoid biasanya larut dalam lemak yang terdapat pada sitoplasma sel tumbuhan. Sehingga senyawa triterpenoid dapat larut dalam pelarut organik seperti kloroform (Fajarullah, 2014). Triterpenoid bersifat lipofilik yang dimana memiliki aktivitas antibakteri dengan cara merusak membrane sel bakteri, senyawa triterpenoid akan bereaksi dengan sisi aktif membran, melarutkan konsituen lipid dan meningkatkan permeabilitasnya (Mayanti dkk, 2011). Unsur penting berperan dalam aktivitas antibakteri triterpenoid berhubungan dengan komposisi kimianya yang meliputi gugus fungsi dan gugus hidroksil dari triterpenoid fenolik serta jumlah komponen tunggal. Pada konsentrasi rendah, triterpenoid hanya mempengaruhi enzim yang terlibat dalam produksi energi sedangkan pada konsentrasi tinggi triterpenoid dapat melisis membrane. Tidak semua senyawa terpen memiliki aktivitas antibakteri, sejauh ini senyawa triterpenoid yang paling aktif yaitu golongan monoterpenoid (Nazzaro dkk, 2013).

Kemudian dilakukan uji senyawa steroid ekstrak daun kirinyuh diperoleh tidak mengalami perubahan sehingga hasil negatif. Sesuai dengan Resmi (2011) menyatakan bahwa, senyawa steroid dikatakan positif jika menunjukkan warna merah pada larutan pertama kali dan berubah menjadi warna hijau atau biru. Perubahan warna tersebut disebabkan terjadinya reaksi oksidasi pada golongan steroid / triterpenoid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi. Prinsip reaksi dalam mekanisme reaksi uji steroid adalah reaksi kondensasi / pelepasan H₂O karbokation. Dimana reaksi diawali dengan proses asetilasi gugus hidroksil menggunakan asam asetat anhidrat. Gugus asetil yang merupakan gugus pergi yang baik akan terlepas, sehingga terbentuk ikatan rangkap. Selanjutnya terjadi pelepasan hidrogen beserta elektronnya, menyebabkan ikatan rangkap berpindah. Sehingga senyawa mengalami resonansi yang bertindak sebagai elektrofil atau karbokation. Serangan karbokation menyebabkan adisi elektrofilik diikuti dengan pelepasan hidrogen. Kemudian gugus hidrogen beserta elektronnya dilepas akibatnya senyawa mengalami perpanjangan konjugasi yang memperlihatkan munculnya cincin coklat (Sukarti dkk, dalam Usman, 2012).

2. Perlakuan Pemberian Ekstrak Daun Kirinyuh sebagai Antibakteri pada bakteri *Enterobacter sakazakii*

Tabel 2 Pengaruh Dosis Konsentrasi Ekstrak Daun Kirinyuh terhadap Luas Zona Hambat pada Bakteri *Enterobacter sakazakii*

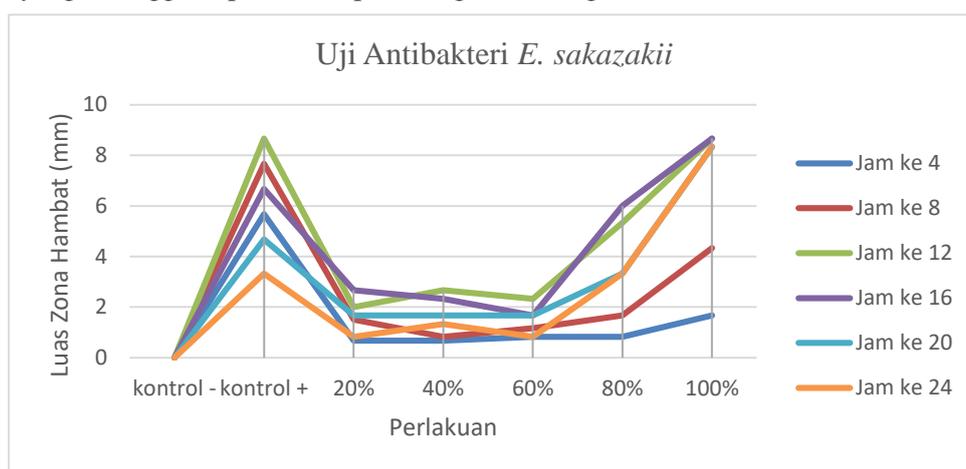
Perlakuan	Luas Zona Hambat (Mm) Jam Ke-					
	4	8	12	16	20	24
Kontrol -	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a
Kontrol +	5,67 ^c	7,67 ^c	8,67 ^d	6,67 ^c	4,67 ^d	3,33 ^c
20%	0,67 ^a	1,50 ^a	2,00 ^b	2,67 ^b	1,67 ^b	0,83 ^b
40%	0,67 ^a	0,83 ^a	2,67 ^b	2,33 ^b	1,67 ^b	1,33 ^b
60%	0,83 ^a	1,17 ^a	2,33 ^b	1,67 ^b	1,67 ^b	0,83 ^b
80%	0,83 ^a	1,67 ^a	5,33 ^c	6,00 ^c	3,33 ^c	3,33 ^c
100%	1,67 ^b	4,33 ^b	8,67 ^d	8,67 ^d	8,33 ^e	8,33 ^d

Ket: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menggunakan uji Duncan

Enterobacter sakazakii merupakan bakteri jenis gram negatif bersifat anaerob fakultatif, bentuknya koliform (kokoid), berpigmen kuning, dan tidak membentuk spora (Farmer et al, 1980, dalam Feny et al, 2014). *Enterobacter sakazakii* tidak termasuk mikroorganisme normal pada saluran

pencernaan, akan tetapi bakteri ini biasa ditemukan mengkontaminasi makanan dan minuman. Penyakit yang diakibatkan oleh bakteri ini antara lain yaitu infeksi pernapasan bagian bawah, infeksi kulit, dan jaringan lunak, infeksi saluran kemih, infeksi dalam perut, radang jantung, radang sendi, osteomyelitis, dan infeksi mata, radang selaput otak, dan radang usus serta infeksi pada bayi (Toylor CJ, 2002). Penelitian ini melakukan pengukuran pada pengamatan aktivitas antibakteri ekstrak kirinyuh terhadap zona hambat yang dihasilkan dengan konsentrasi 20% - 100% dengan waktu pengamatan 4 jam sekali selama 24 jam.

Berdasarkan Tabel 2 terlihat bahwa pada perlakuan konsentrasi 100% menunjukkan daya hambat ekstrak kirinyuh terhadap bakteri yang tertinggi pada jam 12 dan 16 dibandingkan dengan perlakuan lainnya dengan nilai rata-rata 8,33 mm. Berdasarkan analisa statistik, Pada perlakuan konsentrasi 100%, jam ke 16 memiliki nilai yang berbeda nyata (siginifikan) dengan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun kirinyuh dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Enterobacter sakazakii*. Selanjutnya dilakukan analisis pertumbuhan bakteri dengan melihat nilai rata-rata zona hambatnya yang tertinggi, dapat dilihat pada diagram batang berikut:



Gambar 2: Grafik Rata - Rata Pengaruh Ekstrak Kirinyuh Terhadap Bakteri *E. Sakazakii*

Berdasarkan pada Gambar 2 menunjukkan bahwa larutan dengan perlakuan konsentrasi 100%, memiliki zona hambat yang tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya dan perlakuan 100% memiliki aktivitas antibakteri yang sedang, Susanto dkk (2012), mengkategorikan diameter zona hambat kategori lemah ≤ 5 mm, kategori sedang memiliki diameter zona hambat sekitar antara 6 – 10 mm, dan diameter zona hambat kategori kuat 11 - 20 mm. Hasil pengujian dengan perlakuan variasi konsentrasi yaitu 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% menunjukkan luas diameter zona hambat yang berbeda-beda terhadap bakteri *E. Sakazakii*. Semakin tinggi konsentrasi yang diberikan menunjukkan semakin luas pula zona hambat yang terbentuk. Variasi konsentrasi yang berbeda-beda, berdasarkan rata-rata hasil uji daya hambat menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi 100% memiliki zona hambat paling tinggi dengan daya hambat rata-rata 6,66 mm dengan kategori besar daya hambat sedang, lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan kontrol positif, dan perlakuan lainnya. Hal ini sesuai penelitian Febrianasari (2018) menyatakan bahwa semakin besar atau tinggi konsentrasi ekstrak maka zona hambat yang dihasilkan akan semakin besar. Kemampuan antibakteri dalam menghambat *E. sakazakii* disebabkan oleh adanya kandungan senyawa aktif terdapat pada ekstrak *C. odorata* yang memiliki fungsi dalam membunuh atau menghentikan sementara pertumbuhan dari bakteri pathogen (Fadia et al. 2020). Pada dasarnya, kandungan senyawa bioaktif memiliki pengaruh yang berbeda-beda dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Sebagaimana hasil dari uji screening diperoleh beberapa senyawa metabolit sekunder yang positif terdapat pada ekstrak daun kirinyuh. Ekstrak ini dapat berfungsi dalam melisis membran sitoplasma sel, sehingga dapat mengganggu kerja struktur enzim protein yakni flavonoid (Huzni et al, 2015). Saponin yang bekerja dengan merusak porin sebagai jalan



keluar masuk untuk nutrisi bakteri, dan juga alkaloid yang mengganggu integritas komponen penyusun peptidoglikan (Rahmawati, 2009 Fadia 2020).

3. Perlakuan Pemberian Ekstrak Daun Kirinyuh sebagai Antibakteri pada bakteri *Salmonella typhi*

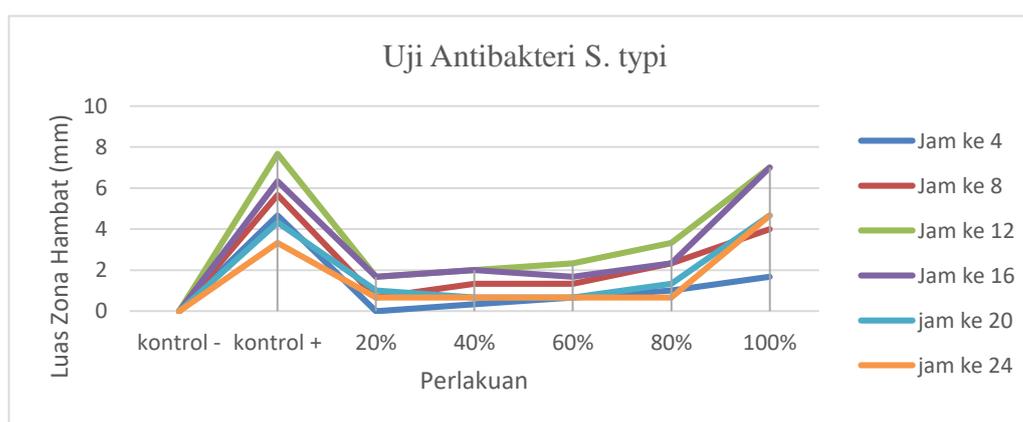
Salmonella typhi merupakan salah satu jenis bakteri gram negatif, bersifat motil, anaerob fakulatif, berbentuk batang. Bakteri ini pada umumnya menyebabkan berbagai infeksi, mulai dari gastroenteritis ringan sampai berat seperti demam tipoid, bakterimia, demam paratipus, dan keracunan makanan. *Salmonella* adalah agen penyebab *salmonellosis* yaitu penyakit endemis sehingga menimbulkan kerugian yang besar bagi Indonesia (Jawetz et al, 2010). Penyakit ini dapat ditularkan melalui makanan dan minum yang terkontaminasi bakteri. Dilakukan pengujian zona hambat ekstrak daun kirinyuh dalam menghambat bakteri *Salmonella typhi*. Berikut data rata – rata pengaruh dosis konsentrasi ekstrak daun kirinyuh terhadap luas zona hambat pada bakteri *Salmonella typhi* dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 3 Pengaruh Dosis Konsentrasi Ekstrak Daun Kirinyuh terhadap Luas Zona Hambat pada Bakteri *Salmonella typhi*.

Perlakuan	Luas Zona Hambat (Mm) Jam Ke-					
	4	8	12	16	20	24
Kontrol -	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a
Kontrol +	4,67 ^c	5,67 ^d	7,67 ^c	6,33 ^b	4,33 ^b	3,33 ^b
20%	0,00 ^a	0,67 ^{ab}	1,67 ^b	1,67 ^a	1,00 ^a	0,67 ^a
40%	0,33 ^a	1,33 ^{ab}	2,00 ^b	2,00 ^a	0,67 ^a	0,67 ^a
60%	0,67 ^{ab}	1,33 ^{cd}	2,33 ^b	1,67 ^a	0,67 ^a	0,67 ^a
80%	1,00 ^{ab}	2,33 ^c	3,33 ^b	2,33 ^a	1,33 ^a	0,67 ^a
100%	1,67 ^b	4,00 ^d	7,00 ^c	7,00 ^b	4,67 ^b	4,67 ^b

Ket: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menggunakan uji Duncan

Berdasarkan Tabel 3 terlihat bahwa pada Perlakuan konsentrasi 100% dengan kontrol +, menunjukkan daya hambat ekstrak kirinyuh terhadap bakteri yang tertinggi pada jam ke-12 dibandingkan dengan perlakuan lainnya dengan nilai rata rata 7,00 mm dan 7,66 mm. Berdasarkan analisa statistik, Pada perlakuan konsentrasi 100%, jam ke 12 memiliki nilai yang tidak berbeda nyata (tidak signifikan) dengan perlakuan kontrol +. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun kirinyuh dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*. Selanjutnya dilakukan analisis pertumbuhan bakteri dengan melihat nilai rata - rata zona hambatnya yang tertinggi, dapat dilihat pada diagram batang berikut:



Gambar 3: Grafik Rata - Rata Pengaruh Ekstrak Daun Kirinyuh Terhadap Bakteri *S. typhi*



Pada Gambar 3 menunjukkan bahwa larutan dengan perlakuan kontrol positif, memiliki zona hambat yang tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya dan perlakuan kontrol positif, memiliki aktivitas antibakteri yang sedang, berdasarkan Susanto dkk (2012), mengkategorikan diameter zona hambat kategori lemah ≤ 5 mm, kategori sedang memiliki diameter zona hambat sekitar antara 6 - 10 mm, dan diameter zona hambat kategori kuat 11 - 20 mm. Hasil pengujian dengan perlakuan variasi konsentrasi yaitu 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% diameter zona hambat terhadap bakteri *S. typhi*. Secara rata - rata hasil uji daya hambat menunjukkan bahwa perlakuan 0 (kontrol +) dengan daya hambat rata - rata 5,32, memiliki zona hambat paling tinggi dengan kategori besar daya hambat sedang dan perlakuan konsentrasi 100% dengan daya hambat rata - rata 4,83 dengan nilai zona hambat kategori lemah, dan pada perlakuan 0, lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Perbedaan diameter zona hambat dari masing - masing konsentrasi yang digunakan disebabkan oleh besarnya zat aktif yang ada di dalam ekstrak.

Hal ini sesuai dengan pernyataan Brooks dkk (2005) menyatakan bahwa semakin besar suatu konsentrasi, maka semakin besar komponen zat aktif yang ada di dalamnya sehingga menyebabkan zona hambat yang terbentuk juga akan berbeda tiap konsentrasi. Selain itu, faktor lain yang mempengaruhi aktivitas antibakteri suatu bahan yaitu stabilitas zat aktif dari tanaman tersebut, besarnya inoculum, dan aktivitas metabolik bakteri (Muharti, 2007). Sudarwati (2019) dalam studinya pada penghambatan *S. typhi* menggunakan ekstraksi daun pepaya menunjukkan adanya kemampuan penghambatan kategori sedang yang dimungkinkan karena aktifitas senyawa metabolit sekunder seperti saponin yang menghambat *S. typhi* melalui mekanisme kebocoran protein dan enzim-enzim dari sel bakteri.

4. Perlakuan Pemberian Ekstrak Daun Kirinyuh sebagai Antibakteri pada bakteri *Listeria monocytogenes*.

Listeria monocytogenes merupakan salah satu bakteri gram positif, yang berbentuk batang pendek (basil), motil (mempunyai flagella). Bakteri ini bersifat anaerob fakultatif, dan tidak membentuk endospore. *Listeria monocytogenes* merupakan salah satu bakteri patogen, dimana bakteri ini sering menginfeksi manusia yang menyebabkan penyakit listeriosis. Pada umumnya *L. monocytogenes* menginfeksi manusia dengan cara mengkontaminasi produk makanan dan sayur - sayuran. Berdasarkan susunan senyawanya, dapat dilihat kemampuan ekstrak daun kirinyuh dalam menghambat bakteri patogen *Listeria monocytogenes*. Berikut rata - rata Pengaruh Dosis Konsentrasi Ekstrak Daun Kirinyuh terhadap Luas Zona Hambat pada Bakteri *Listeria Monocytogenes* dapat dilihat pada tabel berikut:

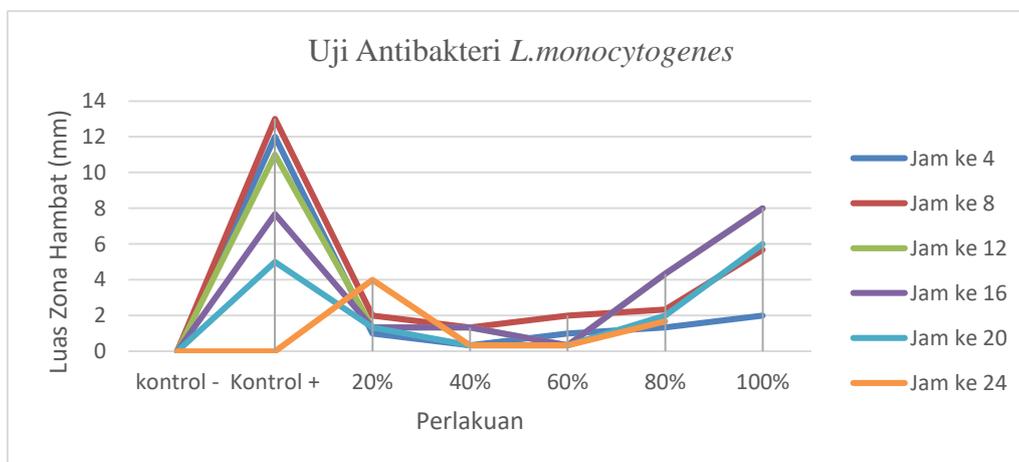


Tabel 4 Pengaruh Dosis Konsentrasi Ekstrak Daun Kirinyuh terhadap Luas Zona Hambat pada Bakteri *Listeria Monocytogenes*.

Perlakuan	Luas Zona Hambat (Mm) Jam Ke-					
	4	8	12	16	20	24
Kontrol -	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a
Kontrol +	12,00 ^b	13,00 ^c	11,00 ^c	7,67 ^c	5,00 ^c	4,00 ^b
20%	1,00 ^a	2,00 ^a	1,33 ^{ab}	1,33 ^a	1,33 ^{ab}	0,33 ^a
40%	0,33 ^a	1,33 ^a	1,33 ^{ab}	1,33 ^a	0,33 ^{ab}	0,33 ^a
60%	1,00 ^a	2,00 ^a	0,33 ^{ab}	0,33 ^a	0,33 ^{ab}	0,33 ^a
80%	1,33 ^a	2,33 ^a	4,33 ^b	4,33 ^b	2,00 ^b	1,67 ^a
100%	2,00 ^a	5,67 ^b	8,00 ^c	8,00 ^c	6,00 ^c	5,33 ^b

Ket: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menggunakan uji Duncan.

Berdasarkan Tabel 4 terlihat bahwa pada perlakuan konsentrasi 100%, menunjukkan daya hambat ekstrak kirinyuh terhadap bakteri yang tertinggi pada jam ke-12 dengan nilai luas zona hambat rata-rata 8,33 mm, dan kontrol positif, menunjukkan daya hambat dengan besar nilai 13,00 mm pada jam ke 8. Dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Berdasarkan analisa statistik, Pada perlakuan konsentrasi 100% jam ke 12 memiliki nilai yang tidak berbeda nyata (tidak signifikan) dengan perlakuan kontrol positif, dan pada kontrol positif jam ke 8 memiliki nilai berbeda nyata (signifikan). Selanjutnya dilakukan analisis pertumbuhan bakteri dengan melihat besarnya nilai zona hambatnya yang tertinggi.



Gambar 4: Grafik Rata - Rata Pengaruh Ekstrak Kirinyuh Terhadap Bakteri *L. Monocytogenes*

Pada Gambar 4 menunjukkan bahwa larutan dengan perlakuan kontrol positif, memiliki zona hambat yang tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya dan kontrol positif memiliki aktivitas antibakteri yang sedang, hal ini sesuai dengan Susanto dkk (2012), mengkategorikan diameter zona



hambat kategori lemah ≤ 5 mm, kategori sedang memiliki diameter zona hambat sekitar antara 6 - 10 mm, dan diameter zona hambat kategori kuat 11 - 20 mm. Hasil pengujian dengan perlakuan variasi konsentrasi yaitu 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% diameter zona hambat terhadap bakteri *L. Monocytogenes*. Secara rata - rata hasil uji daya hambat menunjukkan bahwa kontrol positif, dengan daya hambat rata - rata 8,77 mm dan perlakuan konsentrasi 100% dengan daya hambat rata - rata 5,60 mm, sehingga memiliki zona hambat paling tinggi dengan kategori besar daya hambat sedang, lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

Merujuk pada prinsip kerja maserasi cairan penyari akan menembus dinding sel sehingga masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan di luar sel menyebabkan konsentrasi yang tinggi memiliki zona hambat paling besar dibandingkan dengan konsentrasi rendah. Hal ini merujuk pada Angria (2019) menyatakan bahwa perbedaan konsentrasi menyebabkan larutan yang terpekat akan terdorong keluar secara berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan diluar sel dengan larutan dalam sel. Konsentrasi antibakteri berpengaruh terhadap hasil zona hambat yang dihasilkan dan hasil tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan, maka semakin besar zona hambat yang dihasilkan.

Hal ini sesuai dengan Rahmawati (2014) menyatakan bahwa semakin besar konsentrasi interaksi ekstrak yang diberikan, maka semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk, disebabkan banyaknya komponen bioaktif yang ada di dalam ekstrak. Purnama (2010), menyatakan bahwa selain faktor konsentrasi ada juga faktor yang mempengaruhi luasnya zona hambat yaitu kepadatan populasi bakteri uji, metode ekstraksi antibakteri dan pelarut, suhu, dan kandungan senyawa aktif. Dalam penelitian ini, indikator kemampuan daya hambat bakteri difokuskan pada besaran diameter zona hambat yang dihasilkan, sehingga tidak dilakukan penghitungan jumlah koloni bakteri. Sedangkan suhu menjadi salah satu factor yang mempengaruhi terutama dalam kaitannya dengan proses ekstraksi daun dan suhu penyimpanannya. Menurut Kusuma dkk (2017), suhu penyimpanan ekstrak yang dibiarkan pada suhu ruangan efektif digunakan dalam menghambat bakteri dalam kondisi segar setelah proses ekstraksi, berbeda halnya dengan ekstrak yang disimpan di refrigator yang efektif lebih lama. Sehingga suhu menjadi salah satu factor yang dapat meningkatkan efektifitas dari zona hambat dari ekstrak tanaman. Oleh karenanya zona hambat yang dihasilkan oleh setiap perlakuan tidak mengalami peningkatan yang sama. Luas zona hambat yang dihasilkan tidak selalu sama dengan meningkatnya konsentrasi yang diberikan. Hal ini terjadi karena perbedaan kecepatan difusi senyawa antibakteri pada media agar, jenis pelarut yang digunakan, jenis dan konsentrasi senyawa antibakteri (Istiqomah, 2015).

Kesimpulan

Pada penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun kirinyuh (*Chromolaena odorata*) mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti bakteri *Enterobacter sakazakii*, *Salmonella typhi*, dan *Listeria monocytogenes*. Dengan hasil zona hambat paling tinggi pada konsentrasi 100 % dibandingkan dengan perlakuan lainnya pada setiap bakteri. Dimana didapatkan hasil rata - rata zona hambat paling besar pada bakteri *E. sakazakii* dengan nilai rata - rata 6,66 mm zona hambat (kategori sedang), sedangkan bakteri *S.typhi* memiliki zona hambat dengan rata - rata 4,88 mm (kategori lemah) dan pada bakteri *L. monocytogenes* dengan nilai rata - rata zona hambat 5,32 mm (kategori sedang).

Daftar Pustaka

- [1] Afrianti, R., Yenti, R., & Afriani, L. (2010). Studi Pendahuluan Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh Terhadap Penyembuhan Luka. Laporan Penelitian STIFI. Padang.
- [2] Al An., Mohammed, R. T., Alhameed, N., & Mohammed, A. (2008). *Antibacterial Activity of Tannins Extracted from Some Medicinal Plants In Vitro*. Department of Biochemistry. Al – Anbar University, Iraq.



- [3] Aziz, T., Cindo, R., & Fresca, A. (2009). Pengaruh pelarut heksana dan etanol volume pelarut, dan waktu ekstraksi terhadap hasil ekstraksi minyak kopi. *Jurnal kodokteran dan kesehatan*, 3(4).
- [4] Brooks, G., Butel, F., Janet, S., Morse, & Stepan, A. (2008). *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, dan Adelberg*. EGC. Jakarta.
- [5] Cowan, M. M. (1999). *Plant Products as Antimicrobial Agents*. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 1-5.
- [6] Chakraborty, A. K., Rambhade, S., & Patil, U. K. (2011). *Chormolaena odorata L. An Overview*. *Journal Farmasi*. 4(3), 573 -576.
- [7] Chandra, Vinay, D., Abhimanyu, K. J., & Kumar, S. (2011). *Detection of Antimicrobial Activity of Oscimun Sanctum (Tulsi) and Trigonella foenum Graecum (Methi) Against Some Selected Bacteria and Fungsal Strains*. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 2(4), 809.
- [8] Costabile, A., Sanghi, S., Pelaez, S. M., Harvey, I. M., Gibson, G. R., & Rastal, R. A. (2011). *Inhibition of Salmonella typhimirium by Tannins In Vitro*. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 9(1), 9-24.
- [9] Fahrudinnda, & Pratiwi, R. (2009). Kandungan Saponin Buah, Daun, dan Tangkai Daun Belimbing Wuluh (*Avverhoa blimbi L*) The Content Of Saponin in Fruits, Leaves and Petioles of Belimbing Wuluh. *Jurnal Seminar Nasional Konservasi dan Pemanfaatan Sumber Daya Alam*, 1(1), 220-224.
- [10] Irianto, K. (2013). *Mikrobiologi Kesehatan*. Alfabeta. Bandung. Indonesia
- [11] Hasnawati, & Prawita, E. (2010). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antibakteri dari Daun Eupatorium odoratum L. terhadap Bakteri Stapylococcus aureus ATCC 25923 dan E. coli ATCC 25922. *Majalah Obat Tradisional*, 41-50.
- [12] Hassan, & Syarif, M. (2008). *Antimicrobial Activities Of Saponin - Rich Guar Meal Extraxt, Poultry Science, A and M University, Texas. (Disertasi)*.
- [13] Herwana, E., Indriani, N., Lesmana, M., Paul, B., Salim, O. C., & Surjawidjaja, J. E. (2010). Shigella- Associated Diarrhea in Children in South Jakarta, Indonesia. *Journal Southeast Asian Trop Med Public Health*, 2(41), 18-25.
- [14] Hidayah, N., Hisan, A., Solikin, A., Irawati, & Mustikaningtyas, D. (2016). Uji Efektivitas Ekstrak Sargassum Muticum sebagai Alternatif Obat Bisul Akibat Aktivitas Stapilococcus aureus. *Journal Of Creativity Student*, 1 (1).
- [15] Juliantina, R. F., Citra, M. D. A., Nirwani, B., Nurmasitoh, T., & Bowo, E. T. (2009). Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) sebagai Agen Anti Bakterial terhadap Bakteri Gram Positif dan Bakteri Gram Negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*, 1(2), 1.
- [16] Karlina, C., Ibrahim, M., & Trimulyono, G. (2013). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herba Krokot (*Portulaca oleraceae L*) terhadap Stapylococcusaureus dan Escherchia coli. *Jurnal Lentera Bio*, 2 (1), 87 - 93.
- [17] Kiswandono, A. C. (2011). Skrining Senyawa Kimia dan Pengaruh Metode Maserasi dan Refluks Pada Biji Kelor (*Moringa oleifefera*, Lamk) Terhadap Rendeman Ekstrak Yang Dihasilkan. *Jurnal Sains Natural*. 1(2), 126 - 134.
- [18] Lim, S. H., Darah, I., & Jain, K. (2006). Antimicrobial Activity Of Tannins Extracted From Rhizophora Apiculata Barks. *Journal of Tropical Forest Scinece*, 18(1), 59 - 65.
- [19] Manning, S. D. (2010). *Deadly Diseases and Epidemics: Escherichia coli Infection*. Ed ke-2 .New York. Chelsea Publishers.



- [20] Manguntungi, B., Kusuma, A.B., Asmawati, Y., & Yunianti. (2016). Pengaruh Kombinasi Ekstrak Kirinyuh (*Chromolaena odorata*) dan Sirih (*Piper betle* L) dalam Pengendalian Penyakit Vibriosis pada Udang. *Jurnal Biota*, 1 (3), 138-144.
- [21] Mayanti, T., Julaeha, E., & Putri, Y. (2011). Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Antibakteri dari Fraksi Etil Asetat Kulit Batang *Lansium demesticum* Corr. *Naskah Publikasi*. Cv Kokossan, Universitas Padjajaran, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Bandung.
- [22] Maulinawati, D., & Awaludin. (2018). Uji Toksisitas dan Analisis Kandungan Fitokimia Ekstrak Methanol dan Kloroform Daun Paku Uban (*Nephrolepis bisserata*). *Jurnal Harpodon Borneo*, 11(2), 1.
- [23] Mukhriani. (2014). Ekstraksi Pemisahan Senyawa dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal kesehatan*, 7(2), 361-367.
- [24] Nafianti, S., & Sinuhaji, A. B. 2005. Resistensi Trimetoprim- Sulfametoksazol terhadap Shigellosis. *Jurnal Sari Pediatri*, 7(1), 39-44.
- [25] Nazzaro, F., Fratianni, F., Martino, L. D., Cappola, R., & Feo, V. D. (2013). Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria. *Jurnal Pharmaceuticals*, 6 (14), 51-74.
- [26] Nita, C., Fembriyanto, R., & Hidayati, N. (2018). Potensi Daun Kayu Lubang (*Timonius flavescens* (Jacq) Baker) sebagai Alternatif Mengatasi Jerawat. *Jurnal Penelitian Biologi, Botani, Zoologi dan Mikrobiologi. Jurnal Kesehatan Poltekes Palembang*, 3(2).
- [27] Odutayo, F. (2017). Phytochemical Screening and Antimicroba Activity of *Chromolaena odorata* Leaf Extract against Selected Microorganisms. *Journal of Advances in Medical and Pharmaceutical Sciences*, 13 (4), 1-9.
- [28] Omokhua, A.G., King, R.M., & Rob, H. (2015). Phitochemical and Pharmacological Investigation of Invasive *Chromolaena odorata*. *Thesis*. Agriculture, Engineering, and science University of Kwa Zulu - Natal South Africa
- [29] Pakaya, W. (2015). Analisis Kadar Flavonoid dari Ekstrak Metanol Daun dan Bunga Tembelean. Skripsi. Jurusan Pendidikan Kimia, Fakultas Matematika dan IPA, Universitas Negeri Gorontalo. Gorontalo.
- [30] Prawiradiputra, B.R. (1985). Perubahan Komposisi Vegetasi Padang Rumput Alam Akibat Pengendalian Kirinyuh (*Chromolaena Odorata*) di Jombang. *Thesis*, Fakultas Pasca Sarjana, IPB.
- [31] Ramdhani, F. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) terhadap Bakteri *Stapylococcus aureus*, *Esherchia coli*, dan *Helicobacter*. Skripsi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah.
- [32] Ramyashree, M., Krishna Ram, H., & Shivabasavaiah. (2012). Ethnomedicinal. Value of *Opuntia elatior* fruits and its effects in mice. *Jurnal of Natural Science*, 3 (3), 331-340
- [33] Resmi, M. (2011). Metode Penelitian Tanaman Obat, Widya Padjajaran, Antapani, Bandung.
- [34] Rezki, E. (2016). Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Daun Gulma Siam (*Chromolaena odorata* L) dan Lama Perendaman Terhadap Pengawetan Cabai Merah (*Capsicum annum* L). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pendidikan Biologi*, 1(1), 29-46.
- [35] Rusli, M. S. (2010). Sukses Memproduksi Minyak Atsiri. Agro Media Pustaka: Jakarta.
- [36] Sangi, M., Momuat, L., & Kumaunang, M. (2012). Uji Toksisitas dan Skrining Fitokimia Tepung Gabah Pelepah Aren (*Arenga pinnata*). *Jurnal Ilmiah Sains*, 1(1).



- [37] Sari, Y. D., Djannah, S. N., & Nurani, L. H. (2010). Uji Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Sirsak (*Annona muricata* L) seacar In Vitro Terhadap Sta[pylococcus aureus ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 35218 serta Profil Kromotografi Lapis Tipisnya. *Jurnal Kesehatan Masyarakat UAD*, 3(4), 144-239.
- [38] Santoso, L., Rina, Y., & Fadli, Z. (2019). Uji Aktivitas Antibakteri Dari Dekokta Dan Ekstrak Kloroform Alga *Clodophora* Sp. Pada Bakteri Gram Positif Dan Negatif. *Jurnal Bio Komplementer Medicine*, 6 (2), 43-49.
- [39] Siregar, A., Sabdono, A., & Pringgenies, D. (2012). Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Stapylococcus epidermis* dan *Microccus luteus*. *Journal Of Marine Research*, 1(2), 152-160.
- [40] Sukmanadi, D.W. (2018). Uji Aktivitas Eksudat Daun Pecut Kuda (*Stachytarpetha jamaicensis* (L) Vahl). Terhadap Penyembuhan Luka Sayat Pada Kelinci (Karya Tulis Ilmiah). Universitas Nahdawaton Mataram. Program Farmasi (DIII). Fakultas Ilmu Kesehatan.
- [41] Susanti, A. (2008). Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea indica less*) terhdap *Escherichia coli* Secara In Vitro. *Jurnal Universitas Airlangga*. 1(1).
- [42] Susanty dan Bachmid, F. (2016). Perbandingan Metode Ekstrak Maserasi dam Refluks Terhadap Kadar Fenolik dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays* L). *Jurnal Konversi*, 5(2), 87 - 93.
- [43] Umarudin., Sari, R., & Syukrianto, B. (2011). Efektivitas Daya Hambat Ekstrak Etanol 96% Bonggol Nanas (*Ananas comosus* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Stapylococcus aureus*. *Journal Of Pharmacy and Scince*, 3(2).
- [44] Utami, E. R. (2012). Antibiotik, Resistensi, dan Rasionalitas Terapi. *Journal SAINTIS*, 1(1), 124-138.
- [45] Vijayaraghavan, K., Rajkumar, J., & Seyed, M. A. (2018). Phytochemical screening, free radical scavenging and antimicrobial potential of *Chromolaena odorata* leaf extracts against pathogenic bacterium in wound infections—a multispectrum perspective. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 15, 103-112.
- [46] Vital, P. G. & Rivera, W. L. (2009). Antimicrobial activity and cytotoxicity of *Chromolaena odorata* (L. f.) King and Robinson and *Uncaria perrottetii* (A. Rich) Merr. *Extract Journal of Medicinal Plants Research*, 3(7), 511 - 518.
- [47] Yang, X., & Wang, H. (2014). Pathogenic *E. coli*. Lacombe Research Center, Lacombe. Canada.
- [48] Fadia, F., Nurlailah, N., Helmhiah, T. E., & Lutpiatina, L. (2020). Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (*Chromolaena Odorata* L) Sebagai Antibakteri *Salmonella Typhi* Dan *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 2(3), 158-168.