



UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK METANOL DAUN KIRINYUH (*Chromolaena odorata*) TERHADAP BAKTERI MDR (*Multi Drug Resistant*) DENGAN METODE KLT BIOAUTOGRAFI

Nurhasanah, Endang Sulistyarini Gultom
Program Studi Biologi, Universitas Negeri Medan
Jl. Williem Iskandar Pasar V, Medan Estate, Kota Medan
Email korespondensi : anasiregar056@gmail.com

Diterima: Januari 2020; Direvisi: Juli 2020; Disetujui: Agustus 2020

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun kirinyuh (*Chromolaena odorata*) terhadap bakteri MDR dengan metode KLT-bioautografi. Bakteri uji yang digunakan adalah bakteri MDR *S.lugdunensis* MRSA, *K.pneumoniae* ESBL dan *P.aeruginosa* ESBL. Metode ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol p.a. Untuk pengujian KLT-bioautografi, ekstrak metanol daun kirinyuh ditotolkan pada plat KLT kemudian dielusi dengan eluen metanol:kloroform (9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8 dan 1:9), kemudian plat KLT ditempelkan pada media MHA yang telah diinokulasikan ke 3 bakteri MDR dan diinkubasi selama 24 jam. Zona hambat yang terbentuk dilakukan identifikasi senyawa menggunakan pereaksi semprot $FeCl_3$, dragendorff, uap amoniak, $SbCl_3$ dan Lieberman bouchardat. Hasil uji KLT-bioautografi menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun kirinyuh dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang ditandai terbentuknya zona bening pada EMDKF3, EMDKF7b, EMDKF9b dengan masing-masing nilai Rf 0,47 cm (fenol), 0,87 cm (flavonoid), 0,92 cm (flavonoid) pada bakteri *S.lugdunensis* MRSA dan EMDKF2, EMDKF7a, EMDKF7c dengan masing-masing nilai Rf 0,6 cm (flavonoid), 0,57 cm (alkaloid), 0,96 cm (flavonoid) pada bakteri *K.pneumoniae* ESBL, sedangkan pada bakteri *P.aeruginosa* ESBL ekstrak metanol daun kirinyuh tidak memiliki aktivitas antibakteri yang ditunjukkan dengan tidak ada zona bening yang terbentuk. Senyawa yang berperan sebagai antibakteri terhadap bakteri *S.lugdunensis* MRSA dan *K.pneumoniae* ESBL adalah senyawa golongan alkaloid, flavonoid dan fenol.

Kata Kunci: *Chromolaena odorata*, Bakteri MDR, Aktivitas Antibakteri, KLT Bioautografi

ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF CIRINYUH LEAF METHANOL EXTRACT (*Chromolaena odorata*) ON MDR (*Multi Drug Resistant*) BACTERIA USING BIOAUTOGRAPH TLC METHOD

ABSTRACT

This study aims to determine the antibacterial activity of methanol extract of kirinyuh leaves (*Chromolaena odorata*) against MDR bacteria by TLC-bioautography method. The test bacteria used were MDR *S.lugdunensis* MRSA, *K.pneumoniae* ESBL and *P.aeruginosa* ESBL. The extraction method is carried out by maceration using methanol solvent p.a. for TLC-bioautographic testing, the methanol extract of the kirinyuh leaves was poured on the TLC plate then eluted with methanol:chloroform eluent (9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8 and 1:9), then the TLC plate was attached to the MHA media which had been inoculated to 3 MDR bacteria and incubated for 24 hours. Inhibition zones formed were identified using compound spray reagents $FeCl_3$, dragendorff, ammonia vapor, $SbCl_3$ and Lieberman bouchardat. The TLC-bioautographic test results showed that the methanolic extract of kirinyuh leaves can inhibit bacterial growth marked by the formation of clear zones in EMDKF3, EMDKF7b, EMDKF9b with each Rf value of 0,47 cm (phenol), 0,87 cm (flavonoids), 0,92

cm (flavonoids) in *S.lugdunensis* MRSA and EMDKF2, EMDKF7a, EMDKF7c bacteria with Rf values of 0,6 cm (flavonoids), 0,57 cm (alkaloids), 0,96 cm (flavonoids) in *K.pneumoniae* ESBL, whereas in *P.aeruginosa* ESBL bacteria the methanolic extract of kirinyuh leaves had no antibacterial activity as indicated by no clear zone formed. The compounds that act as antibacterial against the bacteria *S.lugdunensis* MRSA and *K.pneumoniae* ESBL are alkaloid, flavonoid and phenol compounds.

Keywords: *Chromolaena odorata*, MDR Bacteria, Antibacterial Activity, TLC Bioautography

Pendahuluan

Penyakit infeksi merupakan penyebab utama tingginya angka kematian di negara-negara berkembang seperti halnya Indonesia. Penyakit infeksi dapat disebabkan oleh mikroorganisme patogen, seperti bakteri, virus, parasit atau jamur. Setiap tahun, sekitar 9 juta orang meninggal akibat penyakit infeksi yang sebagian besar terdiri dari anak-anak yang tinggal di negara-negara berpenghasilan rendah dan menengah (WHO, 2012).

Saat ini sudah banyak bakteri patogen yang resisten terhadap beberapa antibiotik, yang biasa disebut sebagai bakteri MDR (*multi drug resistant*). Indonesia merupakan negara dengan predikat *multi drug resistant* tertinggi di dunia dengan menduduki peringkat ke 8 dari 27 negara (WHO, 2016). Bakteri MDR ini dapat terjadi dikarenakan pemberian antibiotik yang kurang tepat dan pemakaian antibiotik yang tidak tepat dosis. Adapun bakteri yang tergolong sebagai bakteri MDR adalah *Pseudomonas sp*, *Klebsiella sp*, *Serratia sp*, *Enterobacter sp*, *Acinetobacter sp*, *Edwardsiella sp*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus sp*, *Escherichia coli*, *Pantoea sp* dan *Mycobacterium tuberculosis* (Estiningsih dkk, 2016; Pringgensis dkk, 2015; Amalia dkk, 2015; Batara dkk, 2018).

Menurut Syarmalina dan Laksmiawati (2005), Indonesia sangat kaya dengan berbagai jenis flora. Dari 40.000 jenis flora yang ada, 30.000 diantaranya tumbuh di Indonesia. Sekitar 26% telah dibudidayakan dan lebih dari 940 jenis digunakan sebagai obat tradisional. Salah satu tumbuhan yang dimanfaatkan sebagai obat tradisional adalah tumbuhan kirinyuh (*Chromolaena odorata*). Secara tradisional, daun kirinyuh dapat digunakan sebagai obat dalam penyembuhan luka, obat malaria, antidiare, antimikroba, anti hipertensi, anti inflamasi dan diuretik (Vital and Rivera, 2009). Menurut Eriadi dkk (2016), kandungan senyawa metabolit sekunder yang ditemukan pada daun kirinyuh adalah kelompok senyawa alkaloid, flavonoid, steroid dan saponin.

Berdasarkan hasil uji antibakteri dengan metode *Kirby bauer*, daun kirinyuh memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S.aureus*, *Enterococcus sp*, *Coagulase negatif staphylococcus* (CONS), *E.coli*,

P.aeruginosa, *K.pneumoniae*, *Proteus sp*, *Acinobacter sp*, *Citrobacter sp*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium* (Munte dkk, 2016; Yutika dkk, 2015; Vital dan Rivera, 2009). Metode ini banyak digunakan untuk menguji kepekaan suatu bakteri terhadap antibiotik, tetapi metode ini tidak dapat menentukan suatu golongan metabolit sekunder yang berperan sebagai antibakteri. Metode yang tepat dalam memisahkan senyawa metabolit sekunder dan mengetahui aktivitas antibakteri dari suatu golongan metabolit sekunder yang terkandung dalam suatu sampel tumbuhan yaitu metode KLT bioautografi.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun kirinyuh (*Chromolaena odorata*) terhadap bakteri MDR (*Multi Drug Resistant*) dengan metode KLT bioautografi.

Bahan dan Metode

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli 2019 sampai dengan September 2019, bertempat di Laboratorium Biologi dan Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Medan.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah bejana maserasi, gelas erlenmeyer, autoclave, oven, neraca analitik, cawan petri, *paper disk*, inkubator, plat KLT, kamera, *chamber*, tabung reaksi, gelas ukur, pipet tetes, pipet kapiler, *rotary evaporator*, plastik wrap, aluminium foil, *cutton bud* steril, kertas saring, lemari pendingin, *stopwatch*, ose bulat, blender dan saringan.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah media NA (*Nutrient Agar*), media MHA (*Mueller Hinton Agar*), aquades, metanol p.a, alkohol 70%, kapas, kloroform, NaCl 0,9%, Larutan Mc Farland, serbuk Mg, HCl, CH₃COOH, H₂SO₄, ammonia, pereaksi mayer, dragendorff, FeCl₃, liebarman bouchardat dan sitroborat.

Pengumpulan Sampel Daun Kirinyuh

Daun kirinyuh diperoleh dari Desa Panei Tengah, Kec Panei, Kab Simalungun. Pengambilan sampel dilakukan secara manual dengan cara

memetik daun. Daun tumbuhan yang diambil berasal dari daun nomor 4 sampai nomor 6, hal ini dilakukan karena daun nomor 4 sampai nomor 6 telah mengalami pematangan fisiologis sehingga memiliki kandungan metabolit sekunder yang maksimal (Manguntungi dkk, 2016).

Pembuatan Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh

Simplisia daun kirinyuh sebanyak 1,5 kilogram diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol p.a sebanyak 6 L selama 3 hari. Ekstrak yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental (Handayani, 2016).

Identifikasi Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh

Identifikasi alkaloid dilakukan dengan melarutkan 0,5 g ekstrak dengan 2 mL kloroform dan 2 mL ammonia, kemudian ekstrak disaring. Filtrat ditambahkan 3-5 tetes H₂SO₄ pekat kemudian dikocok hingga terbentuk dua lapisan. Fraksi asam diambil, kemudian ditambahkan reagen Mayer, Dragendorff dan Wagner masing-masing 4-5 tetes. Pereaksi Mayer memberikan endapan berwarna putih, pereaksi Dragendorff memberikan endapan berwarna merah jingga sedangkan pereaksi Wagner memberikan endapan warna coklat. Identifikasi fenolik dilakukan dengan menambahkan 10 tetes FeCl₃ 1% pada 0,5 g ekstrak. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat. Identifikasi flavonoid dilakukan dengan melarutkan 0,5 g ekstrak dengan 100 mL air panas, dididihkan selama 5 menit, kemudian disaring. Filtrat sebanyak 5 mL ditambahkan 0,05 mg serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat. Apabila menghasilkan warna merah, kuning atau jingga, ekstrak positif mengandung flavonoid. Identifikasi saponin dilakukan dengan melarutkan 0,5 g ekstrak dengan 10 mL air sambil ditambahkan 2 tetes HCl 1 N. Bila busa yang terbentuk tetap stabil ± 7 menit, maka ekstrak positif mengandung saponin. Identifikasi steroid dan terpenoid dilakukan dengan menambahkan 10 tetes CH₃COOH glasial dan 2 tetes H₂SO₄ pekat pada 0,5 g ekstrak. Apabila menghasilkan warna biru atau hijau, ekstrak positif mengandung steroid. Sedangkan triterpenoid menghasilkan warna merah atau ungu (Najoan dkk, 2016).

Penyiapan Bakteri Uji

Regenerasi bakteri MDR dilakukan dengan menggoreskan koloni bakteri pada media NA menggunakan jarum ose. Biakan bakteri di inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian, biakan

bakteri yang telah diregenerasikan diambil satu ose kemudian dimasukkan ke dalam tabung berisi larutan NaCl 0,9%. Suspensi yang terbentuk disetarakan dengan standar Mc Farland (10⁸ CFU/mL) (Sulistiyani and Narwanti, 2015).

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Daun Kirinyuh terhadap Bakteri MDR

Pada pengujian ini, masing-masing biakan bakteri MDR diinokulasikan pada media MHA. Kemudian *paper disk* ditetesi ekstrak daun kirinyuh sebagai sampel, *paper disk* yang mengandung antibiotik kloramfenikol sebagai kontrol positif, *paper disk* yang mengandung pelarut metanol p.a sebagai kontrol negatif. Setelah itu, masing-masing *paper disk* diletakkan di atas permukaan media agar MHA. Kemudian cawan petri di inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Kursia dkk, 2016).

Pemisahan Senyawa Secara Kromatografi Lapis Tipis

Lempeng KLT yang akan digunakan berukuran 8x2 cm. Ekstrak metanol daun kirinyuh kemudian ditotolkan pada lempeng KLT menggunakan pipet kapiler. Lempeng KLT yang telah ditotolkan dielusi dengan eluen metanol:kloroform (9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8 dan 1:9). Setelah perambatan pelarut telah mencapai ketinggian yang ditentukan, lempeng KLT dikeluarkan, dikeringkan dan diamati bercak yang timbul dengan sinar UV 366 nm. Nilai R_f dihitung dari masing-masing bercak (Hidayatullah dkk, 2017).

Pengujian KLT-Bioautografi

Suspensi bakteri MDR diswab pada media MHA menggunakan *cotton bud* steril. Kemudian lempeng KLT yang telah dielusi diletakkan di atas permukaan media MHA. Setelah 30 menit lempeng tersebut diangkat dan dipindahkan. Kemudian media MHA diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil pengujian KLT-bioautografi dengan spot/noda akan membentuk zona hambat pada permukaan media agar padat MHA (Sulistiyani and Narwanti, 2015).

Identifikasi Golongan Senyawa Antibakteri

Noda yang membentuk zona hambat pada lempeng KLT disemprot dengan pereaksi semprot FeCl₃, dragendorff, uap amoniak, SbCl₃, dan liebarman bouchardat untuk menentukan jenis senyawa yang menghambat pertumbuhan bakteri MDR (Ramadhani, 2017).

Hasil dan Pembahasan

Identifikasi Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh

Hasil pembuatan ekstrak metanol daun kirinyuh diperoleh ekstrak kental sebanyak 111,5 gr dengan nilai rendemen 11,15 %. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh bahwa ekstrak metanol daun

kirinyuh mengandung golongan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin dan steroid (Tabel 1.)

Tabel 1. Hasil Uji Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh

No.	Senyawa Kimia	Pereaksi	Hasil Reaksi	Keterangan
1.	Alkaloid	Mayer	+	Terbentuk endapan berwarna putih
		Dragendorf	+	Terbentuk endapan berwarna jingga
		Wagner	+	Terbentuk endapan berwarna coklat
2.	Fenolik	FeCl ₃ 1%	+	Terbentuk warna hitam pekat
3.	Flavonoid	Mg-HCl pekat	+	Terbentuk warna jingga
4.	Saponin	Air + HCl 1 N	+	Terbentuk busa permanen ±7 menit
5.	Steroid	Lieberman	+	Terbentuk warna hijau
		Terpenoid	Bouchardat	-

Berdasarkan hasil identifikasi metabolit sekunder, ekstrak metanol daun kirinyuh positif mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid, fanolik, flavonoid, saponin, steroid dan negatif terhadap senyawa metabolit sekunder terpenoid. Hal ini sesuai dengan penelitian Eriadi dkk (2016), menyatakan bahwa ekstrak kental daun kirinyuh memiliki senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, saponin dan steroid.

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Daun Kirinyuh terhadap Bakteri MDR

Berdasarkan hasil pengamatan yang telah dilakukan bahwa ekstrak metanol daun kirinyuh (*Chromolaena odorata*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus lugdunensis* MRSA dan *Klebsiella pneumoniae* ESBL, tetapi ekstrak metanol daun kirinyuh (*Chromolaena odorata*) tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ESBL. Hasil pengujian ini dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 1.

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Daun Kirinyuh

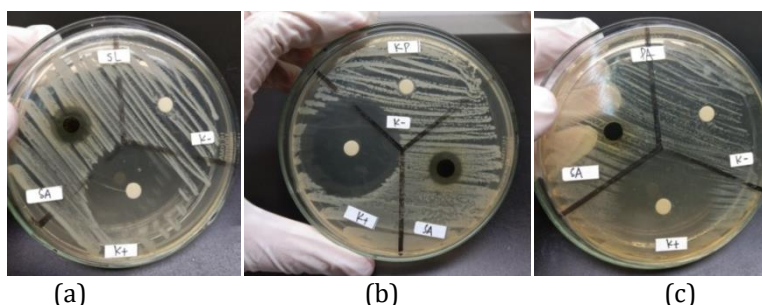
Nama Bakteri	Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-Rata (mm)	Potensi
		Ulangan				
		1	2	3		
<i>Staphylococcus lugdunensis</i> MRSA	EMDK	14,3	15	15,4	14,9	Kuat
	K ⁺	36,9	40,6	42	39,8	Sangat kuat
	K ⁻	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ESBL	EMDK	13,2	12	13,2	12,8	Kuat
	K ⁺	46,7	37,5	39,9	41,3	Sangat Kuat
	K ⁻	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ESBL	EMDK	-	-	-	-	-
	K ⁺	39,4	49,1	43,9	44,1	Sangat kuat
	K ⁻	-	-	-	-	-

Keterangan :

EMDK : Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh

Kontrol positif (K⁺) : Antibiotik kloramfenikol

Kontrol negatif (K⁻) : Pelarut Metanol p.a



Gambar 1. Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Daun Kirinyuh pada Bakteri (a) *S.lugdunensis* MRSA, (b) *K.pneumoniae* ESBL, (c) *P.aeruginosa* ESBL

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh bahwa ekstrak metanol daun kirinyuh memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *S.lugdunensis* MRSA dan *K.pneumoniae* ESBL yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening dengan rata-rata diameter 14,9 mm (kuat) dan 12,8 mm (kuat). Ekstrak metanol daun kirinyuh memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *S.lugdunensis* MRSA dan *K.pneumoniae* ESBL dikarenakan mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin dan steroid. Senyawa-senyawa ini mampu bersinergi dan saling menguatkan satu sama lain sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Ekstrak metanol daun kirinyuh tidak memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *P.aeruginosa* ESBL dikarenakan bakteri *P.aeruginosa* ESBL memiliki

efflux-pump mechanism yaitu suatu mekanisme untuk mengeluarkan senyawa-senyawa yang tidak dibutuhkan dalam proses biotransformasi seluler bakteri melalui sistem sekresi, sehingga menghambat proses internalisasi senyawa obat untuk mampu mempengaruhi mekanisme seluler dari bakteri (Bara *et al*, 2015).

Pemisahan Senyawa Metabolit Sekunder dengan KLT

Pada pengujian KLT eluen yang digunakan adalah metanol:kloroform dengan 9 perbandingan (9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8 dan 1:9). Hasil KLT ekstrak metanol daun kirinyuh menunjukkan pemisahan dan kenaikan noda yang bervariasi, seperti yang ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh

Perbandingan Eluen Metanol:Kloroform	Noda	Fraksi	Nilai Rf	Senyawa
9:1	1	EMDKF1	0,52	Alkaloid
8:2	1	EMDKF2	0,6	Flavonoid
7:3	1	EMDKF3	0,47	Fenol
6:4	1	EMDKF4	0,86	Flavonoid
5:5	1	EMDKF5a	0,34	Steroid
	2	EMDKF5b	0,81	Flavonoid
4:6	1	EMDKF6	0,75	Fenol
3:7	1	EMDKF7a	0,57	Alkaloid
	2	EMDKF7b	0,87	Flavonoid
	3	EMDKF7c	0,96	Flavonoid
2:8	1	EMDKF8a	0,4	Fenol
	2	EMDKF8b	0,98	Flavonoid
1:9	1	EMDKF9a	0,21	Steroid
	2	EMDKF9b	0,92	Flavonoid

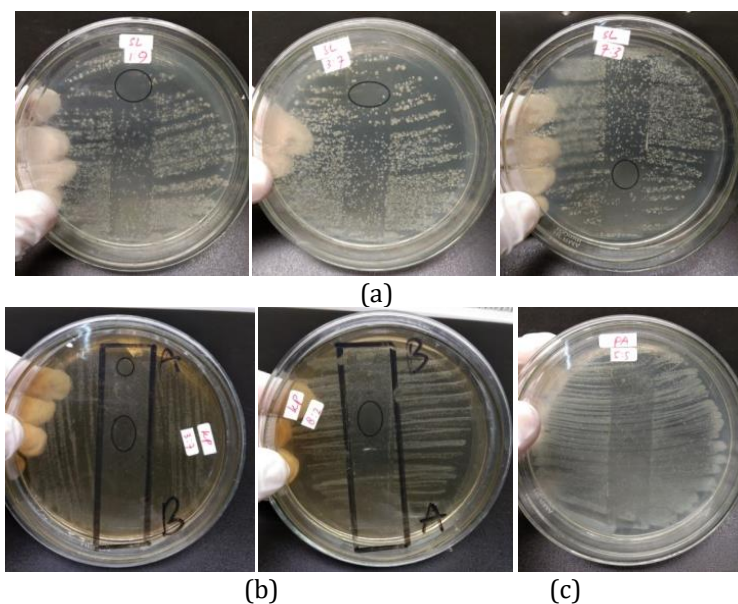
Keterangan : EMDKF1 (Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh Fraksi 1); EMDKF2 (Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh Fraksi 2); EMDKF3 (Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh Fraksi 3); EMDKF4 (Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh Fraksi 4); EMDKF5a (Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh Fraksi 5a); EMDKF5b (Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh Fraksi 5b); EMDKF6 (Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh Fraksi 6); EMDKF7a (Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh Fraksi 7a); EMDKF7b (Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh Fraksi 7b); EMDKF7c (Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh Fraksi 7c); EMDKF8a (Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh Fraksi 8a); EMDKF8b (Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh Fraksi 8b); EMDKF9a (Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh Fraksi 9a); EMDKF9b (Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh Fraksi 9b)

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh bahwa EMDKF1 dan EMDKF7a menghasilkan nilai Rf 0,52 cm dan 0,57 cm yang diduga mengandung senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid. Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh Untoro dkk (2016) nilai Rf yang dihasilkan untuk senyawa alkaloid sebesar 0,56 cm. EMDKF2 diduga mengandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid dengan nilai Rf 0,6 cm. Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh Rofida dan Nurwahdaniati (2015) nilai Rf yang dihasilkan untuk senyawa flavonoid adalah 0,6 cm. EMDKF7c, EMDKF8b dan EMDKF9b diduga mengandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid dengan masing-masing nilai Rf 0,96 cm, 0,98 cm dan 0,92 cm. Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh Rofida dan Nurwahdaniati (2015) nilai Rf yang dihasilkan untuk senyawa flavonoid berada pada kisaran 0,9 cm. EMDKF4, EMDKF5b dan EMDKF7b juga mengandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid dengan masing-masing nilai Rf 0,86 cm, 0,81 cm dan 0,87 cm. Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh Rohmah dkk (2019) nilai Rf yang dihasilkan untuk senyawa flavonoid adalah 0,88 cm dan 0,83 cm. EMDKF3 dan EMDKF8a

masing-masing menghasilkan nilai Rf 0,47 cm dan 0,4 cm yang diduga mengandung senyawa metabolit sekunder golongan fenol. Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh Susanti (2017) nilai Rf yang dihasilkan untuk senyawa fenol sebesar 0,4 cm. EMDKF6 juga diduga mengandung senyawa fenol dengan nilai Rf 0,75 cm. Menurut hasil penelitian Rofida dan Nurwahdaniati (2015) nilai Rf yang dihasilkan untuk senyawa fenol berada pada kisaran 0,7 cm. EMDKF5a menghasilkan nilai Rf 0,34 cm dan diduga mengandung senyawa metabolit sekunder golongan steroid. Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh Marliana (2007) nilai Rf yang dihasilkan untuk senyawa steroid sebesar 0,37 cm. EMDKF9a juga diduga mengandung senyawa metabolit sekunder golongan steroid dengan nilai Rf 0,21 cm. Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh Rohmah dkk (2019) nilai Rf yang dihasilkan untuk senyawa steroid sebesar 0,2 cm.

KLT Bioautografi

Hasil uji KLT bioautografi ekstrak metanol daun kirinyuh terhadap bakteri *S.lugdunensis* MRSA, *K.pneumoniae* ESBL dan *P.aeruginosa* ESBL dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil pengujian KLT bioautografi ekstrak metanol daun kirinyuh pada bakteri (a) *S.lugdunensis* MRSA, (b) *K.pneumoniae* ESBL, (c) *P.aeruginosa* ESBL

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun kirinyuh dengan metode KLT bioautografi menunjukkan hasil yang positif terhadap bakteri *S.lugdunensis* MRSA. Noda yang

berpotensi sebagai antibakteri terdapat pada EMDKF3, EMDKF7b dan EMDKF9b. EMDKF3 dengan nilai Rf 0,47 cm ketika disemprot dengan pereaksi $FeCl_3$ akan menghasilkan warna coklat yang

menandakan adanya senyawa golongan fenol. EMDKF7b dengan nilai Rf 0,87 cm dan EMDKF9b dengan nilai Rf 0,92 cm ketika disemprot dengan pereaksi uap amoniak akan menghasilkan warna coklat kehitaman yang menandakan adanya senyawa golongan flavonoid. Senyawa metabolit sekunder yang memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *S.lugdunensis* MRSA adalah golongan fenol dan flavonoid.

Kandungan fenol pada konsentrasi tinggi mampu menembus dan mengganggu dinding sel bakteri dan mempresipitasi protein dalam sel bakteri. Selain itu fenol dapat menyebabkan koagulasi protein, mengubah permeabilitas membran bakteri dan akhirnya sel membran mengalami lisis (mati). Sedangkan pada konsentrasi yang lebih rendah, fenol mampu membentuk ikatan kompleks protein dan fenol yang diikuti penetrasi fenol ke dalam sel dan menyebabkan presipitasi serta denaturasi protein sehingga menginaktifkan sistem enzim penting dalam sel bakteri (Hidayah dkk, 2017).

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun kirinyuh dengan metode KLT-bioautografi menunjukkan hasil yang positif terhadap bakteri *K.pneumoniae* ESBL. Noda yang berpotensi sebagai antibakteri terdapat pada EMDKF2, EMDKF7a dan EMDKF7c. EMDKF2 dengan nilai Rf 0,6 cm dan EMDK7c dengan nilai Rf 0,96 cm ketika disemprot dengan pereaksi uap amoniak akan menghasilkan warna coklat kehitaman yang menandakan adanya senyawa golongan flavonoid, sedangkan EMDKF7a dengan nilai Rf 0,57 cm ketika disemprot dengan pereaksi dragendorf akan menghasilkan warna coklat yang menandakan adanya senyawa golongan alkaloid. Senyawa metabolit sekunder yang memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *K.pneumoniae* ESBL adalah golongan alkaloid dan flavonoid.

Mekanisme kerja senyawa alkaloid sebagai antibakteri adalah dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut, selain itu komponen alkaloid diketahui sebagai interkelator DNA dan menghambat enzim topoisomerase sel bakteri (Ningsih dkk, 2016). Mekanisme kerja flavonoid sebagai antimikroba dapat dibagi menjadi 3 yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membrane sel dan menghambat metabolisme energy (Rijayanti, 2014).

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun kirinyuh dengan metode KLT bioautografi menunjukkan hasil yang negatif terhadap bakteri *P.aeruginosa* ESBL pada semua

perbandingan fase gerak yang ditunjukkan dengan tidak terbentuknya zona hambat pada biakan bakteri yang telah dielusi plat KLT.

Kesimpulan

Ekstrak metanol daun kirinyuh memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri MDR. Senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak metanol daun kirinyuh yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri adalah golongan alkaloid, fenolik dan flavonoid.

Daftar Pustaka

- Amalia, E., Nindatama, M.R., Hayati, L., Handayani, D., (2015), Identifikasi Mutasi Gen *rpoB* Ser531Leu *Mycobacterium tuberculosis* yang Berhubungan Dengan Resistensi Rifampisin, *Biomedical Journal of Indonesia*, **1**(1): 30-34.
- Bara, R.A., Grace, D.K., Antonius, R.B.O., Jimmy, P., (2015), Analisis Senyawa Antibiotik Dari Jamur Simbion yang Terdapat Dalam Ascidians *Didemnum molle* di Sekitar Perairan Bunaken-Sulawesi Utara, *Jurnal LPPM Bidang Sains dan Teknologi*, **2**(2): 28-35.
- Batara, M., Darmawati, S., Prastiyanto, M.E., (2018), Keanekaragaman dan Pola Resistensi Bakteri pada Pasien yang Terdiagnosa Sepsis, *Jurnal Labora Medika*, **2**(2): 1-5.
- Eriadi, A., Arifin, H., Nirwanto., 2016, Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh *Chromolaena odorata* (L) R.M.King & H. Rob) Pada Mencit Putih Jantan, *Jurnal Farmasi Higea*, **8**(2): 122-132.
- Estiningsih, D., Puspitasari, I., Nuryastuti, T., (2016), Identifikasi Infeksi Multi Drug Resistant Organisms (MDRO) Pada Pasien yang Dirawat di Bangsal Neonatal Intensive Care Unit (NICU) Rumah Sakit, *Jurnal Manajemen dan Pelayanan Farmasi*, **6**(3): 243-248.
- Handayany, G.N., (2016), Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antimikroba Ekstrak Metanol Daun Mimba (*Azadirachta indica* Juss), *Jurnal Teknosains*, **10**(2): 211-222.
- Hidayatullah., Anam, S., Tandah, M.R., (2017), Identifikasi Senyawa Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Bamban (*Donax canniformis* (G. Forst.) K. Schum.) Terhadap *Staphylococcus aureus*, *SCIENTIA*, **7**(2): 89-95.
- Hidayah, N., Dewi, M., Siti, H.B., (2017), Aktivitas Antibakteri Infusa Simplisia *Sargasum*

- muticum* terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Life Science*, **6**(2): 49-54.
- Kursia, S., Lebang, J.S., Taebe, B., Burhan, A., Rahim, Wa O.R., Nursamsiar, (2016), Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etilasetat Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*, *IJPST*, **3**(2): 72-22.
- Manguntungi, B., Kusuma, A.B., Yulianti., Asmawati., Yuniarti., (2016), Pengaruh Kombinasi Ekstrak Kirinyuh (*Chromolaena odorata*) dan Sirih (*Piper betle* L) dalam Pengendalian Penyakit Vibriosis pada Udang, *Biota*, **1**(3):138-144.
- Marliana, E., (2007), Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Dari Batang *Spatholobus ferrugineus* (Zoll & Moritzi) Benth yang Berfungsi Sebagai Antioksidan, *JURNAL PENELITIAN MIPA*, **1**(1): 23-29.
- Munte, N., Sartini., Lubis, R., (2016), Skrining Fitokimia dan Antimikroba Ekstrak Daun Kirinyuh terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, *BioLink*, **2**(2): 132-140.
- Najoan, J.J., Runtuwene, M.J.R., Wewengkang, D.S., (2016), Uji Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Tiga (*Allophylus cobbe* L.), *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi*, **5**(1): 266-274.
- Ningsih, D.R., Zufahir., Dwi, K., (2016), Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Antibakteri, *Molekul*, **11**(1): 101-111
- Pringgenis, D., Jumiati, M., dan Ridho, A., (2015), Aktivitas Antibakteri Ekstrak Nudibranch Polkadot (*Jorunna funebris*) (Gastropoda : Moluska) Terhadap Bakteri *Multidrug Resistant* (MDR), *Jurnal Ilmu Kelautan*, **20**(4): 195-206.
- Ramadhani, N., Samudra, A.G. Armando, J., (2017), Identifikasi Senyawa Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta indica* A.Juss) Sebagai Antibakteri Secara KLT-Bioautografi Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, **2**(1): 74-81.
- Rijayanti, R.P., (2014), Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro, *Naskah Publikasi*, Universitas Tanjungpura.
- Rofida, S., dan Nurwahdaniati., (2015), Antibacterial Activity of *Chromolaena odorata* (L) King Leaves With Bioautography, *PHARMACY*, **12**(1): 29-36.
- Rohmah, J., Chylen, S.R., Fitria, E.W., (2019), Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Selada Merah (*Lactuca sativa* var. *Crispa*) Pada Berbagai Pelarut Ekstraksi Dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*), *Jurnal Kimia Riset*, **4**(1): 18-32.
- Sulistiyani, N., and Narwanti, I., (2015), TLC-Bioautography Profile of Ethyl Acetate Extract of 5 Bacteria Isolated from *Ficus carica* L Rhizosphere, *International Journal of Public Health Science*, **4**(2): 81-87.
- Susanti, N.M.P., Luh Putu Mirah, K.D., Harlina, S.M., I Made Agus, G.W., (2017), Identifikasi Senyawa Golongan Fenol Dari Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper betle* Linn.) Dengan Metode KLT-Spektrofotodensitometri, *JURNAL METAMORFOSA*, **4**(1): 108-113.
- Syarmalina., dan Laksmiawati, D.R., (2005), Uji Efek Antibakteri Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta indica* A Juss) terhadap Bakteri, *Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia*.
- Untoro, M., Enny, F., Dewi, K., (2016), Isolasi dan Identifikasi Senyawa Golongan Alkaloid Dari Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*), *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, **19**(2): 58-62.
- Vital, P.G., and Rivera, W.L., (2009), Antimicrobial Activity and Cytotoxicity of *Chromolaena odorata* (L.f) King and Robinson and *Uncaria Perrottetti* (A. Rich) Merr. Extracts, *Journal of Medicinal Plant Research*, **3**(7): 511-518.
- Yutika, M., Rusli, R., Ramadhan, A.M., (2015), Aktivitas Antibakteri Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) R.M.King & H.Rob.) Terhadap Bakteri Gangren, *Prosiding Seminar Nasional Kefarmasian*.
- World Health Organization (WHO), (2012), Global Report for Research on Infectious Diseases of Poverty. https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44850/9789241564489_eng.pdf?sequence=1.
- World Health Organization (WHO), (2016), Tuberculosis. <http://www.searo.who.int/indonesia/topics/tb/indTBmdr2016/en/>.