

SEMINAR NASIONAL SAINS DAN TEKNIK FST UNDANA (SAINSTEK)

Hotel Swiss-Belinn Kristal Kupang, Kupang - 25 Oktober 2019

Identifikasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Daun Kirinyuh (*Chromolaena Odorata* Linn) Asal

Lahan Kering Pulau Timor

Theo M. Da Cunha, Titus Lapailaka, Putri Nenotek

Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknik, Universitas Nusa Cendana, Kupang-NTT

Email: Opa_cece@yahoo.com

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang identifikasi dan uji aktivitas antibakteri daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* Linn) asal Pulau Timor. Tahapan penelitian meliputi preparasi sampel, dilanjutkan dengan ekstraksi sampel dengan teknik maserasi menggunakan pelarut metanol. Ekstrak yang diperoleh kemudian dilakukan uji fitokimia diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, saponin dan terpenoid. Analisis menggunakan LC-MS/MS diperoleh dua jenis komponen senyawa yang memiliki respon terbesar yaitu senyawa Hesperetin dan 5,4'-dihydroxy-6,7,8-trimethoxyflavone. Hasil uji aktivitas antibakteri dengan metode sumuran pada bakteri gram positif *Staphylococcus aureus*. menunjukkan respon hambatan sangat kuat dengan DDH sebesar 22,6 mm dan pada bakteri gram negatif *Escherichia coli* menunjukkan respon hambatan yang sangat kuat dengan DDH sebesar 21,9 mm

Kata kunci: *Chromolaena odorata* L, metabolit sekunder, aktivitas antibakteri

Identification and Antibacterial activity of leaves kirinyuh (*Chromolaena odorata* Linn) From “Lahan Kering” Timor Island

ABSTRACT

A research on identification and antibacterial activity of kirinyuh (*Chromolaena odorata* Linn) leaves from Timor Island. The stages of this research includes sample preparation followed by sample extraction with maceration means using metanol as a solvent. The obtained extract then did a phytochemical assay and it was known that it contains the secondary metabolite compounds from flavanoid, saponine and terpenoid groups. analysis using LC-MS/MS, it was obtained two compounds component with the highest intensity, that are Hesperetine and 5,4'-dihydroxy-6,7,8-trimethoxyflavone. The antibacterial assay result using a cup hole method against *S aureus* as a positive gram bacteria and *E. coli* as a negative gram bacteria performed the strongest inhibition with DDH values are 22.6 mm and 21.9 mm, respectively.

Keywords: *Chromolaena odorata* L,metabolites secondary, antimicrobial activity

1. PENDAHULUAN

Bioaktivitas daun kirinyuh sebagai antibakteri telah dibuktikan dengan penelitian-penelitian sebelumnya. Dimana aktivitas antibakteri terbesar terdapat dalam ekstrak daun kirinyuh dibandingkan akar dan batangnya. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Hasnawati dan Prawita (2010), bahwa daun kirinyuh yang diambil dari daerah Sleman, di Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta memiliki kondisi iklim tropik basah dengan menggunakan pelarut petroleum eter dan metanol mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan zona terkecil 250 µg dengan diameter masing-masing 9,5 dan 7,2 mm. dan menurut Munte dkk, (2016) bahwa daun kirinyuh yang diambil di daerah Berastagi, Kabupaten Karo Sumatera Utara dengan kondisi iklim tropik basah dengan menggunakan pelarut metanol. melaporkan pada konsentrasi 15%, ekstrak metanol daun kirinyuh memiliki zona hambat lebih besar pada bakteri *Escherichia coli* yaitu 1,3 cm dan 1,0 cm pada *Staphylococcus aureus*.

Berdasarkan studi literatur di atas, peneliti akan melakukan skrining fitokimia dan uji bioaktivitas berupa sifat antibakteri dari ekstrak metanol daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* Linn) yang berasal dari daerah Pulau Timor, khususnya di kawasan Undana Kabupaten Kupang Nusa Tenggara Timur, yang memiliki ciri khas beriklim tropis kering. walaupun penelitian tentang tanaman ini telah banyak dilakukan, seperti uji komposisi kimia dan bioaktivitasnya, tetapi harus didasari oleh pemikiran bahwa perbedaan iklim suatu tumbuhan akan mempengaruhi komposisi kandungan senyawa kimia dari suatu tanaman.

2. METODE PENELITIAN

1.1 Prosedur kerja

a. Preparasi sampel

Sampel daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* Linn) diambil di daerah Penfui. Daun tersebut dibersihkan kemudian dikeringkan pada suhu kamar hingga kering tanpa kontak langsung dengan sinar matahari. Selanjutnya daun kirinyuh dihaluskan dan diayak dengan menggunakan saringan hingga diperoleh serbuk (simplicia).

b. Pembuatan Ekstrak Metanol Daun Kirinyuh

Pada tahap ekstraksi, serbuk daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* Linn) disiapkan sebanyak 500 gram, guna untuk dilakukan perendaman selama 3 hari dengan menggunakan pelarut metanol 70 % sebanyak 1500 mL pada suhu ruang tanpa kontak langsung dengan sinar matahari. Kemudian dilakukan pengadukan 2 kali dalam sehari. Hasil maserasi yang diperoleh kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring dan diperoleh maseratnya. Selanjutnya maserat yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 60 °C agar dapat menghilangkan pelarut yang ada sehingga dapat diperoleh ekstrak yang kental. Selanjutnya ekstrak kental yang diperoleh diambil sedikit untuk dilakukan uji fitokimia.

c. Identifikasi dengan pereaksi (Uji fitokimia) dan identifikasi dengan instrument HPLC dan LC-MS/MS.

↳ Steroid dan Terpenoid

Sebanyak 0,1 gram larutan ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 0,5 mL kloroform, setelah itu ditambahkan sebanyak 0,5 mL asam asetat anhidrat. Selanjutnya ditambahkan 2 mL H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung. Uji positif steroid menghasilkan cincin warna hijau atau biru pada perbatasan larutan sedangkan adanya terpenoid menghasilkan cincin warna merah atau violet.

↳ Flavonoid

Sebanyak 0,1 gram larutan ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL aquades, dididihkan selama 5 menit, kemudian disaring. Filtrat ditambahkan 0,1 gram serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat. Kemudian dikocok. Uji positif menunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga.

↳ Saponin

Sebanyak 0,1 gram larutan ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL air panas, kemudian ditambahkan 1 tetes HCl pekat. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya busa permanen ± 15 menit.

↳ Alkaloid

Sebanyak 0,1 gram larutan ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 1 mL HCl 2 N dan 6 mL air suling, kemudian dipanaskan selama 2 menit, didinginkan kemudian disaring. Pengujian adanya senyawa alkaloid yaitu dengan pereaksi Mayer dan pereaksi Wagner. Sebanyak 4 mL filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berbeda kemudian ditambahkan 1 mL pereaksi Mayer. Terbentuknya endapan putih atau krem mengindikasikan uji positif alkaloid. Sedangkan dengan penambahan pereaksi Wagner, terbentuknya endapan jingga sampai merah coklat mengindikasikan sampel mengandung alkaloid.

d. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kirinyuh

↳ Sterilisasi alat dan Media

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian dicuci terlebih dahulu sampai bersih dan dikeringkan dan dibungkus dengan kertas. Kemudian dimasukkan kedalam autoklaf dan ditutup rapat. Kemudian disterilkan selama 15 menit pada suhu 121°C.

↳ Pembuatan Media

Sebanyak 2 gram *Mueller Hinton Agar* dilarutkan dengan 100 mL akuades, kemudian dipanaskan sampai homogen. *Mueller Hinton Agar* yang ada disterilisasi dalam *autoclave* sampai suhu 121 °C.

↳ Pembuatan Stok Bakteri

Setiap bakteri uji diinokulasi ke dalam *Mueller Hinton Agar* dan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Tahap selanjutnya, dibuat pengenceran bakteri dengan 10 mL NaCl Fisiologis.

↳ Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antimikroba menggunakan metode sumuran. Sebanyak 5 mL MHA dan 1 mL suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dimasukkan kedalam gelas ukur kemudian dituangkan ke dalam cawan petri hingga tersebar merata. Sumur dibuat dengan cara media MHA yang telah memadat dilubangi dengan menggunakan kawat ose (diameter 6 mm). pada masing-masing cawan petri dibuat 3 lubang sumuran atau (3 kuadran). sumur ditetesi 0,1 mg/mL ekstrak metanol kirinyuh dengan kontrol positif (kloramfenikol) 0,3 mg/mL dan kontrol negatif (aquades) 1 mL. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan diamati zona bening yang terbentuk disekitar sumur. Diberlakukan hal yang sama pada bakteri *Escherchia coli*.

3. HASIL PENELITIAN

Uji Fitokimia

Pada tahapan ini ekstrak kental yang diperoleh, selanjutnya dilakukan uji fitokimia. Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa bioaktif dalam ekstrak kental daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* Linn) serta untuk mengidentifikasi secara kualitatif terhadap senyawa metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, terpenoid dan steroid. Data hasil pengamatan Uji fitokimia pada ekstrak kental daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* Linn) dapat dilihat pada Tabel 2.

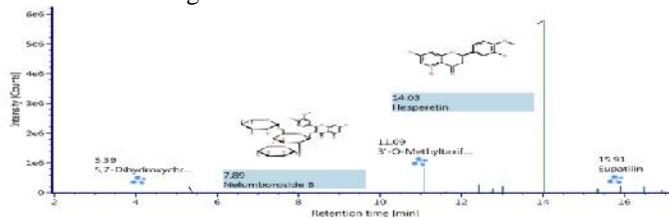
Tabel 2. Hasil uji fitokimia ekstrak metanol daun kirinyuh

No	Jenis Uji	Warna	Hasil
1	Alkaloid	Tidak terbentuk endapan, terjadi perubahan warna putih (pada pereaksi mayer) sedangkan pada pereaksi wagner terjadi perubahan warna menjadi jingga.	-
2	Flavonoid	Jingga	+
3	Saponin	Putih (busa)	+
4	Steroid	Tidak berwarna hijau atau biru	-
5	Terpenoid	Cincin kecoklatan	+

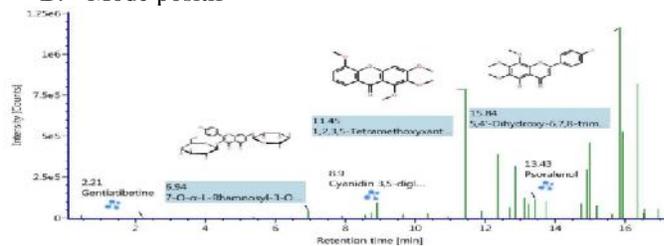
Ket = (+) mengandung senyawa yang dimaksud
 (-) tidak mengandung senyawa yang dimaksud

Analisis Lc-Ms/Ms

A. Mode negatif



B. Mode positif



Gambar 3. Kromatogram LC-MS/MS ekstrak metanol daun kirinyuh (A. mode negatif dan B. mode positif)

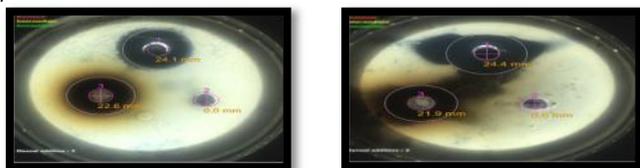
Berdasarkan Gambar 3, banyak sekali puncak yang terdeteksi namun ada dua Peak yang tertinggi dilihat dari intensitas terbesar pada menit ke 14.03 yaitu senyawa Hesperetin dan 15.84 senyawa 5,4'-Dihydroxy-6,7,8-trimethoxyflavone dan data MS masing-masing 301,07242 dan 345,0963.

(a).Struktur Hesperetin

(b).Struktur 5,4'-Dihydroxy-6,7,8-trimethoxyflavone

Gambar 4. Komponen penyusun senyawa metabolit sekunder ekstrak metanol dari daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* Linn).

Uji Aktivitas Antibakteri



Staphylococcus aureus *Escherichia coli*

Gambar 5. Zona hambatan bakteri *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia coli* oleh ekstrak metanol daun kirinyuh, antibiotik kloramfenikol (+) dan akuades (-).

Berdasarkan data Gambar 5, hasil uji aktivitas antibakteri dari ekstrak metanol daun kirinyuh terhadap bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*) memiliki daya hambat bakteri sebesar 22,6 mm dan pada gram negatif (*Escherichia coli*) memiliki daya hambat bakteri sebesar 21,9. Sedangkan pada kontrol positif telah digunakan antibiotik kloramfenikol yang memiliki daya hambat terhadap bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*) sebesar 24,1 mm dan bakteri gram negatif (*Escherichia coli*) yaitu 24,4. Namun ekstrak metanol mampu menunjukkan kekuatan daya hambat yang lebih besar dari 20 berarti daya hambat tergolong sangat kuat jadi ekstrak metanol daun kirinyuh merupakan antibiotik yang baik.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan diatas maka dapat disimpulkan :

1. Ekstrak metanol dari daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* Linn) diidentifikasi menggunakan LC-MS/MS memiliki 2 jenis kandungan senyawa metabolit sekunder yang mempunyai respon terbesar yaitu senyawa Hesperetin dan 5,4'-Dihydroxy-6,7,8-trimethoxyflavone.
2. Aktivitas antibakteri ekstrak metanol dari daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* Linn) menggunakan metode sumuran menunjukkan bahwa ekstrak tersebut aktif dan tergolong sangat kuat untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 22,6 mm dibandingkan bakteri *Escherichia coli* sebesar 21,9 mm.

5. SARAN

1. Perlu dilanjutkan penelitian mengenai bahan aktif yang terdapat dalam ekstrak daun kirinyuh untuk pengujian terhadap bakteri lain yang menyebabkan infeksi.
2. Perlu dilakukan isolasi senyawa yang lebih spesifik yang terkandung dalam ekstrak daun kirinyuh dengan menggunakan pelarut selain metanol dan diujikan dengan metode berbeda pada bakteri lain yang Multiresisten selain *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
3. Perlu dilakukan pengujian lanjut secara klinis pada hewan coba untuk mengetahui lebih luas tentang khasiat daun kirinyuh.

DAFTAR PUSTAKA

- Hanhakphoom, S., Thophon, S., Waranusantigul, P., Kangwanransan, N., and Krajangsan, S., 2016, Antimicrobial Activity Of *Chromolaena odorata* Extracts Against Bacterial Human Skin Infections, *Research Journal by National Research Council of Thailand and Suandusit University*, 159-168.
- Hasnawati dan Prawita, E., 2010, *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antibakteri dari Daun Eupatorium odorata L, Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus ATCC 25923 dan Escherichia coli ATCC 25922*, *Majalah Obat Tradisional*, Vol. 15, No. 1, 41-50.

- Inya-agma, S. I., B. O., Oguntimein., A. Sofowora and T.V. Benjamin, 1987, Phytochemical and Antibacterial Studies on the Essential Oil of *Eupatorium odoratum* L, *Pharmaceutical biology*, Vol. 25, No. 1, 49- 52, Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, University of Lagos, Nigeria.
- Irobi, O. N., 1997, Antibiotic Properties of Ethanol Extract of *Chromolaena odorata* (Astraceae), *International Journal of Pharmacognosy*, Vol. 35, No. 2, 111-115.
- Munte, N., Sartini, & Lubis, R., 2016, Skrinning Fitokimia dan Anti Mikroba Ekstrak Daun Kirinyuh Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, *Jurnal Biologi Lingkungan*. Vol. 2, No. 2, 132-140.
- Omokhua, A. G., 2015, *Phytochemical and Pharmacological Investigations of Invasive Chromolaena odorata (L.) R.M. King & H. Rob. (Asteraceae)*, Thesis, Agriculture, Engineering, and Science University of KwaZulu-Natal, South Africa.
- Rungnapa, O., 2003, *Phytochemistry and Antimalarial Activity of Eupatorium odoratum L.* Thesis, Pharmaceutical Chemistry and Phytochemistry, Mahidol University, Bangkok.