

Artikel Penelitian

Aktivitas Ekstrak Daun Kirinyuh (*Eupatorium Odorata*) terhadap Bakteri *Clostridium Perfringens*

Dwi Marwati JS^{1*}, Samsiar²

¹Program Studi Kimia, Fakultas Sains Farmasi dan Kesehatan, Universitas Mathla'ul Anwar Pandeglang, 42273 – Indonesia

²Program Studi Farmasi, Fakultas Sains Farmasi dan Kesehatan, Universitas Mathla'ul Anwar Pandeglang, 42273 - Indonesia

Masuk: September 2023

Revisi: September 2023

Diterima: Desember 2023

Publish: Desember 2023

Copyright:

©2023, Published by

Jurnal Medika & Sains

Korespondensi:

Dwi Marwati JS

dmarwati@unmabanten.ac.id

DOI:

10.30653/medsains.v3i2.626

Abstrak. *Clostridium perfringens* adalah bakteri patogen penyebab timbulnya penyakit infeksi. Pengobatan penyakit tersebut dapat dilakukan dengan pemberian obat antibakteri. Salah satu tumbuhan yang memiliki potensi untuk digunakan sebagai obat antibakteri yaitu daun kirinyuh (*Eupatorium odorata*) karena adanya kandungan senyawa kimia seperti flavonoid, tanin dan saponin yang berpotensi sebagai antibakteri. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun kirinyuh terhadap bakteri *Clostridium perfringens*. Penelitian ini diawali dengan pembuatan ekstrak dengan metode maserasi, skrining fitokimia dan pengujian aktivitas antibakteri serta penentuan KHM yang dilakukan dengan metode difusi cakram. Hasil penelitian menunjukkan bahwa proses ekstraksi dengan pelarut etanol menghasilkan rendemen sebanyak 14,27%. Pada konsentrasi 100.000, 50.000, dan 25.000 ppm ekstrak memiliki respon hambatan dengan luas daerah hambat secara berturut-turut 8,20 mm, 7,47 mm, 7,21 mm. KHM ekstrak daun kirinyuh terhadap *Clostridium perfringens* adalah 500 ppm. Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun kirinyuh memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *Clostridium perfringens*. Ekstrak daun kirinyuh berpotensi sebagai obat herbal untuk infeksi bakteri namun memerlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruhnya secara in vivo.

Kata Kunci: Antibakteri, *Clostridium perfringens*, *Eupatorium odorata*, gangren gas, kirinyuh

Abstract. *Clostridium perfringens* is a pathogenic bacteria that causes infectious diseases. Treatment of this disease can be done by administering antibacterial drugs. One of the plants that has the potential to be used as an antibacterial drug is kirinyuh leaves (*Eupatorium odorata*) because it contains chemical compounds such as flavonoids, tannins and saponins which have antibacterial potential. The aim of this research is to determine the antibacterial activity of kirinyuh leaf extract against *Clostridium perfringens* bacteria. This research began with making extracts using the maceration method, phytochemical screening and testing antibacterial activity as well as determining the MIC using the disc diffusion method. The research results showed that the extraction process with ethanol solvent produced a yield of 14.27%. At concentrations of 100.000, 50.000, and 25.000 ppm the extract had an inhibitory response with inhibitory area areas of 8.20 mm, 7.47 mm, and 7.21 mm, respectively. The MIC of kirinyuh leaf extract against *Clostridium perfringens* is 500 ppm. Based on the results obtained, it can be concluded that kirinyuh leaf extract has the ability to inhibit the growth of *Clostridium perfringens*. Kirinyuh leaf extract has potential as a herbal medicine for bacterial infections but requires further research to determine its effect in vivo.

Keywords: Antibacterial, *Clostridium perfringens*, *Eupatorium odorata*, gas gangrene, kirinyuh,

1. Pendahuluan

Tumbuhan Kirinyuh atau *Eupatorium Edorata*, juga dikenal sebagai *Eupatorium odoratum* (selanjutnya akan disebut *E. odorata*) menghasilkan metabolit sekunder golongan flavonoid, alkaloid, saponin, fenol, steroid dan terpenoid. Senyawa yang paling banyak ditemukan pada daun muda adalah flavonoid dengan nilai Rf 0,7-0,82. Berdasarkan nilai Rf pada daun tua terdapat 3 senyawa yaitu flavonoid, steroid dan fenol. Senyawa flavonoid merupakan senyawa yang dominan baik yang bersifat polar, semipolar dan nonpolar (Gultom dkk., 2020).

Daun *E. odorata* mengandung senyawa α -humalene, γ -muurilene, bicyclogermacrene, vinylchroman-4-one dan 2-senecioid-4-vinylphenol. Selain itu, daun *E. odorata* kaya akan flavonoid, quersetin, ramnetin, tamariksetin, kaempferid, dan ombuin. Pada bagian aerial dari tanaman ini juga berhasil diisolasi senyawa triterpen, β -kardinen, dan β -sitosterol sesquiterpen., (Munte dkk , 2016). Ekstrak daunnya didominasi oleh golongan monoterpen 66% dan sesquiterpene 28%. dengan kisaran 11-17% α -pinen, 12,5-24,8% cymen, serta 10,6% thymyl acetate. (Hadi, dkk (2008),



Gambar 1. Daun kirinyuh (*E. odorata*)

Clostridium perfringens adalah bakteri gram positif yang menyebabkan gangren gas pada lebih dari 3000 orang setiap tahunnya dengan angka kematian 25% di Amerika Serikat. Sementara, proporsi penderita *gangren* diabetik di *Indonesia* berkisar 15% dengan angka amputasi sebesar 30%. Perawatan gangren diabetik di RS Cipto Mangunkusumo memiliki angka kematian sebesar 16% dan angka amputasi sebesar 25%. (Satya dkk, 2019)

Clostridium perfringens sendiri atau dalam kombinasi dengan organisme lain merupakan penyebab 50 - 100% dari semua infeksi gangren gas dan *C. perfringens* tipe A merupakan organisme penyebab tersering gangren gas yang diisolasi dari luka pasien. *C. perfringens* adalah penyebab paling umum gangren gas yang terdeteksi pada 60%-90% dari kasus *Clostridial* mionekrosis (Angraini, 2016).

Penelitian sebelumnya telah melaporkan bahwa tumbuhan ini menunjukkan aktivitas biologi yaitu sebagai antimikroba, antibiofilm, antihepatotoksisitas, antimalaria, anthelmintik, antivirus, fitopatogen, antiprotozoa, penyembuhan luka, antihiperkolesterolemia dan antioksidan (Hanphakphoom dkk, 2016). Sedangkan pada penggunaan secara empiris, daun kirinyuh dimanfaatkan untuk penyembuhan luka terbuka, antimalaria, demam, menghentikan pendarahan, menjaga kesehatan (*imun booster*), obat batuk, obat rematik dan obat asam urat. Di Nigeria sebagai bahan baku obat luka terbuka pada kulit, obat malaria dan obat batuk (Fernandes dkk, 2018).

Penelitian yang dilakukan oleh Hanphakphoom dkk (2016), ekstrak kirinyuh (*E. odorata*) dengan konsentrasi 100 mg/mL memperlihatkan aktivitas antibakteri yang lebih baik terhadap bakteri gram positif yaitu daripada bakteri gram negatif. Adapun hasil dari penelitian ini yaitu pada gram negatif *Escherichia coli* ($10,7 \pm 0,6$), *Enterobacter aerogenes* (tidak ada hambatan), *Klebsiella pneumonia* (tidak ada hambatan), *Proteus vulgaris* ($11,5 \pm 0,5$) dan *Pseudomonas aeruginosa* ($12,5 \pm 0,3$). Sedangkan pada gram positif meliputi bakteri *Bacillus cereus* ($15,3 \pm 0,6$), *Staphylococcus epidermidis* ($14,7 \pm 1,5$), *Staphylococcus aureus* ($13,0 \pm 1,0$), *Staphylococcus pyogenes* ($16,0 \pm 0,5$), dan *Propionibacterium acnes* ($15,7 \pm 0,6$)

Penelitian ini bertujuan Untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak daun kirinyuh (*E. odorata*), mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun kirinyuh (*E. odorata*) terhadap bakteri *C. perfringens*, mengetahui nilai Konsentrasi Hambat Minimum ekstrak daun kirinyuh (*E. odorata*) dalam menghambat pertumbuhan *C. perfringens* penyebab gas gangren.

2. Metode Penelitian

a. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain timbangan analitik, batang pengaduk, gelas beaker, blender, cawan petri, jarum ose, bunsen, autoklaf, kertas cakram, pinset, *rotary evaporator*, tabung reaksi, erlenmeyer, kertas saring, corong kaca, anaerobik jar, inkubator, ayakan bertingkat, magnetik stirer, jangka sorong, kromatografi gas, alat destilasi, dan aluminium foil. Bahan yang digunakan yaitu daun kirinyuh (*E. odorata*), akuades, Mueller Hinton agar, bakteri *Clostridium perfringens*, dimetilsulfoksida, asam klorida 2N, reagen besi(III) klorida, serbuk Mg, asam klorida pekat, iso amil alkohol, pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, asam asetat anhidrat, kloroform, dan etanol 96%.

b. Prosedur Penelitian

Preparasi daun *E. odorata*

Daun *E. odorata* diperoleh dari Kecamatan Saketi Kabupaten Pandeglang. Daun *E. odorata* dipilih daun tua yang berasal dari daun nomor 4-6 dari pucuk daun, yang masih hijau dan tidak rusak, dibersihkan dari bahan-bahan pengotor dengan menggunakan air mengalir. Sampel daun yang telah dibersihkan tersebut lalu dikeringkan (Gultom dkk, 2020). Sampel dikeringkan di bawah sinar matahari menggunakan penutup kain hitam. Daun yang telah kering kemudian dihaluskan menggunakan blender dan diayak dengan mesh 60 (Frastika dkk, 2017).

Ekstraksi

Sebanyak 1 kg serbuk simplisia daun *E. odorata* dimasukkan ke dalam bejana maserasi. Lalu ditambahkan pelarut etanol 96% hingga simplisia terendam, dibiarkan selama 24 jam dalam bejana tertutup rapat dan terlindung dari cahaya matahari langsung, sambil sesekali diaduk. Setelah 24 jam dilakukan penyaringan untuk memperoleh ekstrak etanol cair. Ampas yang ada kemudian diremaserasi selama 24 jam dengan cairan penyari yang baru lalu disaring. Hasil penyarian yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 45°C dan kecepatan 90 rpm. (Armadany dkk, 2017). Ekstrak kental yang diperoleh sebanyak 128,47 g dari 900 g serbuk simplisia kering daun *E. odorata*.

Uji Sisa Pelarut

Sepuluh mL sample dimasukkan ke dalam labu destilasi kemudian tambahkan Aquades dan batu didih, Selanjutnya sample siap didestilasi hingga tanda tera. Fasa cair selanjutnya dipisahkan dan diinjeksikan ke kromatografi gas. Setelahnya pelarut ditinjeksikan sebanyak 1 µL ke dalam kolom. Bila aliran gas pembawa dan sistem pemanasan sempurna, puncak pelarut akan nampak dalam waktu kurang dari 5 menit. Fase diam yang digunakan adalah column RT-Q-BOND Restek. Larutan standar yang digunakan adalah etanol, metanol dan isopropil alkohol.

Identifikasi Fitokimia

a. Saponin

Sampel sebanyak 0,5 g dicampur dengan 10 mL air panas kemudian didinginkan dan dikocok kuat selama 10 detik hingga muncul buih. Lalu ditambahkan 1 tetes HCl 2 N, untuk mengamati ketahanan buih. adanya buih yang mantap menunjukkan saponin (Sulistyarini dkk, 2020)

b. Tanin

Ekstrak sebanyak 0,5 g diaduk dengan 10 mL akuades panas, disaring dan ditambahkan reagen FeCl₃. Warna hijau/biru kehitaman menunjukkan kandungan tanin (Frastika dkk, 2017).

c. Flavonoid

Sebanyak 1 mL ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 8 tetes isoamil alkohol, 1 mL methanol 96%, HCl 10 tetes, dan 1 cm pita magnesium lalu dikocok. Akan terjadi terbentuknya warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan isoamil alkohol menunjukkan adanya flavonoid (Doko & Barbara, 2018).

d. Alkaloid

Sebanyak 0,1 g larutan ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 1 mL HCl 2 N dan 6 mL akuades, 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 menandakan reaksi positif alkaloid. Sedangkan dengan penambahan pereaksi Wagner, terbentuknya endapan jingga sampai merah coklat mengindikasikan sampel mengandung alkaloid (Cunha dkk, 2019).

e. Terpenoid

Sebanyak 1 mL ekstrak kental ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat kemudian diaduk, setelah itu diteteskan 1-2 tetes H₂SO₄ pekat kemudian diamati warna yang terbentuk. Hasil positif apabila terbentuk warna merah, merah kecoklatan atau ungu (Ekayani dkk, 2021).

f. Steroid

Ekstrak seberat 0,5 g, ditambah 2 mL etanol 70%, 2 mL kloroform dan 2 mL H₂SO₄ pekat dengan cara diteteskan pelan-pelan dari dinding tabung reaksi. Pembentukan cincin merah menunjukkan adanya steroid (Koban dkk, 2019)

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak daun kirinyuh (*E. odorata*) dilakukan dengan metode difusi cakram. Sebelumnya semua alat dan bahan disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Media Mueller-Hinton Agar (MHA) sebanyak 20 mL dituang ke dalam cawan petri steril, diinokulasikan masing-masing suspensi bakteri uji sebanyak 1,2 mL, dihomogenkan kemudian didiamkan beberapa saat hingga memadat. Kemudian pada permukaan media agar diletakkan kertas cakram, ditetesi masing-masing konsentrasi larutan 25.000, 50.000, dan 100.000 ppm yang telah ditentukan sebanyak 20 µl. Pengujian juga dilakukan terhadap kontrol positif menggunakan amoxicillin 1000 ppm dan kontrol negatif dengan menggunakan DMSO. Inkubasi dilakukan dengan pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona hambat yang terbentuk kemudian diukur diameternya menggunakan jangka sorong (Effendi dkk, 2014).

Penentuan Kadar Hambat Minimum (KHM)

Penentuan nilai konsentrasi hambat minimum dilakukan dengan metode difusi agar dengan menggunakan kertas cakram dengan diameter 6 mm. Suspensi bakteri dimasukkan kedalam cawan petri sebanyak 0,1 mL, kemudian ditambahkan medium Mueller-Hinton Agar 10 mL yang belum membeku, cawan petri digoyang-goyang dan didiamkan sampai membeku. kemudian masukkan kertas cakram berdiameter 6 mm dan ditetesi dengan larutan ekstrak sebanyak 10 µL dengan menggunakan mikropipet, konsentrasi ekstrak yaitu 500, 1.000, 2.000, 5.000, 10.000 dan

25.000 ppm. Setelah diinkubasi selama 24 jam pada inkubator dengan suhu 37°C diukur diameter hambatan yang terbentuk (Salni dkk, 2011).

3. Hasil dan Pembahasan

Preparasi sampel

Sebelum dilakukan sortasi, tumbuhan terlebih dahulu dilakukan determinasi untuk mencegah terjadinya kesalahan spesies. Daun *E. odorata* yang diambil adalah daun tua yang berasal dari daun nomor 4-6 dari pucuk daun. Hal ini dikarenakan pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Gultom (2020) pada daun tua (4-6) terdapat 22 senyawa bioaktif sedangkan pada daun muda (1-3) hanya terdapat sebanyak 13 senyawa bioaktif. Daun *C. odorata* dari Afrika memiliki kandungan pectolinarigenin, 3,7,4'-Tri-O-metilkaemferol, (\pm) -4',5,7-Trimetoksi flavon dan 4''-metoksikaemferol (3,5,7-trihidroksi-4''metoksiflavon). Omokhua-Uyi(2020). Senyawa lain yang terdeteksi dalam ekstrak daun ini antara lain Geijeren, α -Copaena 1,2,4-trietil-linalol, pinocarvona, trans-pinocarveol, β -Copaen-4- α -ol, trans-Verbenol, Germacrene D, Verbenona, Caryofilena oksida, β -Caryofillen, Anisola, p-Mentha-1,5-dien-8-ol (Dougnon & Ito, 2021). Keberagaman kandungan senyawa dan kelimpahannya sangat dipengaruhi oleh tempat tumbuhnya. Iklim, kelimpahan cahaya matahari, pH tanah, unsur hara sering disebut sebagai faktor abiotik. Sedangkan faktor lain yang mempengaruhi kandungan senyawa metabolit sekunder yang lain yakni faktor biotik misalnya organisme lain yang berada di sekitar tumbuhan. Perbedaan senyawa bioaktif pada daun muda dan daun tua disebabkan karena daun tua memiliki kemampuan yang lebih besar untuk mensintesis senyawa bioaktif. Pembentukan senyawa bioaktif sangat dipengaruhi oleh usia organ tanaman. Peningkatan senyawa biokatif juga dipengaruhi oleh rendahnya hara dan cahaya. Faktor lingkungan berpengaruh terhadap metabolit sekunder dan pembentukan senyawa bioaktif pada tanaman, seperti perubahan temperatur siang dan malam, curah hujan, kekeringan, serta lama dan intensitas cahaya matahari.

Ekstraksi

Ekstraksi serbuk simplisia dilakukan dengan cara dingin, yaitu maserasi. Adapun maserasi yang dilakukan pada penelitian ini yaitu remaserasi. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96%. Etanol merupakan pelarut organik dengan polaritas medium dengan sifat mudah menguap. Etanol merupakan pelarut paling aman karena tidak beracun medium dengan sifat mudah menguap (Amelinda dkk, 2018). Tahap selanjutnya yaitu pengentalan ekstrak menggunakan rotary evaporator dengan suhu 45°C. Yuliantari dkk (2017) melaporkan bahwa suhu yang tepat adalah 45°C, hal ini dikarenakan flavonoid tidak tahan pada suhu yang tinggi di atas 50°C sehingga dapat mengalami perubahan struktur. Pada penelitian ini didapatkan berat ekstrak sebanyak 128,47 g dari 900 g simplisia. Sementara Komala dkk, (2021) memperoleh

rendemen simplisia sebesar 32,14% dengan maserasi menggunakan pelarut etanol dan ukuran serbuk 40 mesh.

Uji Sisa Pelarut

Pada penelitian ini dilakukan uji sisa pelarut dengan menggunakan kromatografi gas. Uji sisa pelarut dilakukan untuk membebaskan ekstrak dari etanol sehingga didapatkan ekstrak yang murni tanpa ada kontaminasi, selain itu etanol sendiri bersifat sebagai antibakteri dan antifungi sehingga tidak akan menimbulkan positif palsu pada perlakuan sampel. Hasil pengujian sisa pelarut dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Sisa Pelarut

Sampel	Waktu retensi (menit)	Luas area (%)	Kadar etanol (%)
Ekstrak	3,139	1595,4	0,06

Hasil pengujian sisa pelarut ekstrak daun *E.odorata* yaitu 0,06%. Berdasarkan hasil sisa pelarut tersebut, maka sisa pelarut etanol sudah memenuhi standar yang ditetapkan oleh Departemen Kesehatan RI tahun 2000 yang menyatakan bahwa sisa pelarut ekstrak tidak boleh lebih dari 1 %.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak daun *E.odorata*. Skrining fitokimia dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali (*triplo*). Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 2. Skrining Fitokimia

No	Metabolit sekunder	Metode pengujian	Hasil	
			+/-	Reaksi
1	Saponin	Air panas + HCl 2 N	+	Buih yang stabil
2	Tanin	Akuades panas + reagen FeCl ₃	+	Perubahan warna menjadi hijau kehitaman
3	Flavonoid	Etanol + serbuk Mg + HCl pekat + isoamil alkohol	+	Terbentuk warna jingga pada lapisan isoamil alkohol
4	Alkaloid	HCl 2N + akuades + pereaksi mayer + pereaksi wagner	+	Terbentuk endapan putih
		HCl 2N + akuades + pereaksi wagner	+	Terbentuk endapan merah coklat

5	Terpenoid	Asam asetat anhidrat + H ₂ SO ₄ pekat	+	Terbentuk warna merah kecoklatan
6	Steroid	Etanol 70% + kloroform + H ₂ SO ₄ pekat	+	Terbentuk warna merah

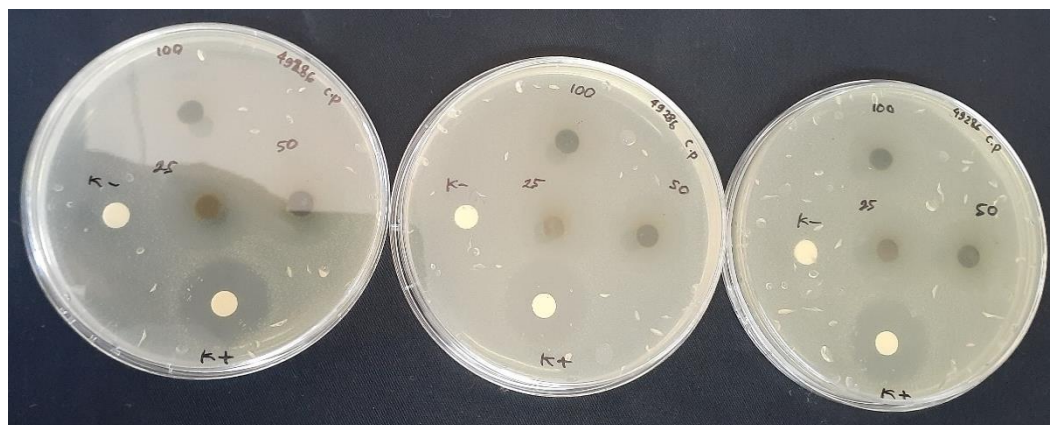
Hasil skrining fitokimia ekstrak daun *E.odorata* menunjukkan adanya kandungan senyawa metabolit sekunder yaitu saponin, tanin, flavonoid, alkaloid, terpenoid dan steroid.

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Metode yang digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri adalah metode difusi cakram dengan menginokulasi bakteri pada media pengujian. Adapun hasil dari pengujian aktivitas antibakteri dapat di lihat pada tabel 3.

Tabel 3. Pengujian Antibakteri Ekstrak Daun *E. odorata*

Konsentrasi ppm	Diameter penghambatan (mm)			Rata – rata diameter (mm)	Ket
100.000	8,44	8,16	8,02	8,20	sedang
50.000	7,46	7,45	7,51	7,47	sedang
25.000	7,03	7,20	7,40	7,21	sedang
Kontrol negatif	0	0	0	0	Tidak ada hambatan
Kontrol positif	8,46	8,15	8,13	8,24	sedang



Gambar 2. Dokumentasi Hasil Antibakteri

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, ekstrak daun *E.odorata* mampu menghambat pertumbuhan *Clostridium perfringens*. Hasil pengukuran zona hambat pada uji Aktivitas ekstrak daun *E.odorata* terhadap bakteri *Clostridium perfringens* didapatkan hasil sebagai berikut : pada konsentrasi ekstrak 100.000 ppm didapatkan rata-rata zona hambat 8,20 mm, pada konsentrasi

ekstrak 50.000 ppm didapatkan rata-rata zona hambat 7,47 mm, pada konsentrasi 25.000 ppm didapatkan rata-rata zona hambat 7,21 mm, pada kontrol positif dengan menggunakan amoksisilin 1000 ppm didapatkan rata-rata zona hambat 8,24 mm.

Klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri *Clostridium perfringens*, bahwa ekstrak daun *E. odorata* 100.000 ppm, 50.000 ppm, dan 25.000 ppm termasuk dalam kategori respon hambatan sedang terhadap *C. perfringens*. Hal yang sama terjadi pada kontrol positif amoxicillin 1000 ppm. Pada uji kontrol negatif yang menggunakan DMSO tidak terbentuk zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Clostridium perfringens*. Fenomena ini dapat disebabkan oleh sifat bakteri *C. perfringens*, yang dalam kondisi tidak menguntungkan, akan membentuk spora yang sangat tahan terhadap tekanan lingkungan seperti radiasi, pengeringan dan panas. Endospora *C. perfringens* tahan terhadap sinar matahari, resisten terhadap berbagai desinfektan, dan pendidihan selama 20 menit. Spora tahan terhadap fenol, etanol atau formalin (Anggraini, 2016).

Penentuan KHM (Konsentrasi Hambat Minimum)

Pemberian antibakteri dalam jumlah yang berlebihan dan secara terus menerus akan menyebabkan sel bakteri menjadi resisten. Pengujian yang dilakukan untuk mengetahui nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari suatu senyawa antibakteri sangat penting karena selain bertujuan untuk meningkatkan efektifitas dari senyawa antibakteri tersebut juga bertujuan untuk mencegah timbulnya masalah resistensi bakteri karena penggunaan dosis yang berlebihan sehingga sel bakteri lama kelamaan akan menjadi kebal (Salni dkk, 2011). Penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) dilakukan dengan metode difusi cakram. Adapun hasil dari penentuan konsentrasi hambat minimum dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Penentuan KHM ekstrak daun *E. odorata*

Konsentrasi (ppm)	Diameter penghambatan (mm)			Rata- rata diameter (mm)
500	0,49	0,30	0,18	0,32
1000	0,83	0,42	0,18	0,47
2000	1,37	0,97	0,42	0,92
5000	1,87	1,83	1,74	1,81
10.000	4,14	3,32	3,34	3,60
15.000	5,54	4,53	3,52	4,53
Kontrol negatif	0	0	0	0
Kontrol positif	11,65	11,62	11,65	11,64

Berdasarkan hasil dari penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) rata-rata diameter hambat pada konsentrasi 500 ppm yaitu 0,32 mm, pada konsentrasi 1000 ppm rata-rata diameter hambatnya sebesar 0,47 mm, pada konsentrasi 2000 ppm rata-rata diameter hambatnya yaitu 0,92 mm, pada konsentrasi 5000 ppm rata-rata diameter hambatnya yaitu 1,81 mm, pada konsentrasi 10.000 ppm rata-rata diameter hambatnya yaitu 3,60 mm, dan pada konsentrasi 15.000 ppm rata-rata diameter hambatnya yaitu 4,53 mm. Sedangkan pada kontrol negatif tidak ada zona bening atau tidak adanya hambatan sehingga dapat diketahui bahwa ekstrak *E.odorata* memiliki senyawa metabolit sekunder yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Clostridium perfringens* dan pada kontrol positif menggunakan amoxicillin 1000 ppm rata-rata diameter hambatnya sebesar 11,64 mm. Berdasarkan hasil ini, maka konsentrasi terkecil yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Clostridium perfringens* adalah pada konsentrasi 500 ppm dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 0,32 mm.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa Ekstrak daun *E.odorata* mempunyai kandungan senyawa metabolit sekunder yang meliputi alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, steroid, dan terpenoid. Ekstrak daun *E.odorata* memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *Clostridium perfringens*. Nilai kadar hambat minimum (KHM) ekstrak daun *E.odorata* terhadap bakteri *Clostridium perfringens* terdapat pada konsentrasi 500 ppm.

Daftar Pustaka

- Amelinda, E., Wayan R.W., & Luh P.T.D. 2018. Pengaruh Waktu Maserasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 7(4): 165-174.
- Anggraini, D. 2016. Aspek Klinis Dan Pemeriksaan Laboratorium *Clostridium perfringens* Tipe A. *Jurnal Kedokteran Baiturrahmah*: 51-58.
- Armadany, F. I., Andi, N. T. A. M., Ayu, S. F. & Novi N. 2017. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Komba-Komba (*Eupatorium odoratum*) Berbunga Putih dan Berbunga Kuning Sebagai Antinyamuk. *Jurnal Farmasi, Sains, dan Kesehatan*. 3 (2): 18-21.
- Cunha, T. M.D., Titus L. & Putri N. 2019. Identifikasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* Linn) Asal Lahan Kering Pulau Timor. *Seminar Nasional Sains Dan Teknik FST UNDANA (SAINSTEK)*: 312-316.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jendral Pengawas Obat Dan Makanan. Jakarta.

- Doko, J.K & Barbara A.S. 2018. Identifikasi Senyawa Kimia pada Ekstrak Tanaman Taduk (*Alstonia scholaris*): 20-23.
- Dougnon, G. & Ito, M., 2021. Essential Oil from the Leaves of *Chromolaena odorata*, and Sesquiterpene Caryophyllene Oxide Induce Sedative Activity in Mice. *Pharmaceuticals* 14, 651.
- Effendi, F., Anna P. R. & Ernie S. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Teh Kombucha Probiotik Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 4(2).
- Ekayani, M., Yohanes J. & Aliefman H. 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.
- Frastika, D., Ramadhanil P. & Nengah S. 2013. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) R. M. King Dan H. Rob) Sebagai Herbisida Alami Terhadap Perkecambahan Biji Kacang Hijau (*Vigna Radiata* (L.) R. Wilczek) Dan Biji Karulei (*Mimosa Invisa Mart. ex Colla*). *Natural Science: Journal of Science and Technology*. 6(3): 225-238.
- Hanphakphoom, S., Suchada T., Piyaporn W., Niwat K. & Sukhumaporn K. 2016. Antimicrobial Activity of *Chromolaena odorata* Extracts against Bacterial Human Skin Infections. *Modern Applied Science*. 10(2): 159-171.
- Koban, I. Y. R., Maria E. K. & Magi M. T. R. 2019. Uji Aktivitas Antihiperkolesterolemia Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) Terhadap Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Jantan Yang Diinduksi Diet Lemak Tinggi. *Chmk Pharmaceutical Scientific Journal*, 2(2): 73-82.
- Komala, O. Yulianita, & Rahmawati, R. 2021. Aktivitas Ekstrak Etanol 96% dan Fraksi Daun Kirinyuh (*Chromolaena Odorata* L.) terhadap *Propionibacterium acnes*. *FITOFARMAKA : Jurnal Ilmiah Farmasi*. 11(1): 23-34.
- Mulyadi, M., Wuryanti & Purbowatiningrum R. S. 2017. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Kadar Sampel Alang - Alang (*Imperata cylindrica*) dalam Etanol Melalui Metode Difusi Cakram. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*. 20(3):130 –135.
- Omokhua-Uyi. 2020. Flavonoids isolated from the South African weed *Chromolaena odorata* (Asteraceae) have Pharmacological Activity against Uropathogens BMC. *Complementary Medicine and Therapies*. 20:233 <https://doi.org/10.1186/s12906-020-03024-0>.
- Rosmania & Fitri Y. 2020. Perhitungan Jumlah Bakteri di Laboratorium Mikrobiologi Menggunakan Pengembangan Metode Spektrofotometri. *Jurnal Penelitian Sains*. 22(2): 76-86.

- Salni, Hanifa M & Ratna W.M. 2011. Isolasi Senyawa Antibakteri Dari Daun Jengkol (*Pithecolobium lobatum Benth*) dan Penentuan Nilai KHM-nya. *Jurnal Penelitian Sains*. 14(1): 38-41.
- Satya, K. D. R., Ari, U., Nissa, K., Lintang, D. S. 2019. Faktor-Faktor Yang Berhubungan dengan Timbulnya Gangren pada Pasien Diabetes Mellitus Di Rsud K.R.M.T. Wongsonegoro Semarang, *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 7(1).
- Sulistyarini, I., Diah A. S. & Tony A. W. 2020. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*. 5(1): 56-62.
- Utomo, S. B., Mita F., Warih P. L. & Sri M. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa C-4 Metoksifenilkaliks [4] Resorsinarena Termodifikasi Hexadecyltrimethylammonium Bromide Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia Coli*. *JKPK (Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia)*. 3(3): 201-209.
- Yuliantari, N.W.A., Wayan R.W. & Dewa G.M.P. 2017. Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi Terhadap Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Menggunakan Ultrasonik. *Media Ilmiah Teknologi Pangan (Scientific Journal of Food Technology)*. 4(1): 35 – 42.