

**POTENSI EKSTRAK DAUN KIPAIT (TITHONIA DIVERSIFOLIA)
SEBAGAI ANTIMIKROBA BAKTERI BACILLUS CEREUS**

**Akehke Rezekine Meidea Naosis¹, Angelica Natasya Elisabeth Nababan², Mesya Minerva Dearn
Saragih³**

akehkerezekine@gmail.com¹,

angelicanatasyaa09@gmail.com², mesyadearni@gmail.com³

Universitas Negeri Medan

ABSTRAK

Daya berkembang dan resistensi bakteri terhadap antimikroba terus berkembang secara signifikan sehingga menyebabkan kegagalan pengobatan. Tujuan penelitian ini ialah mengetahui kandungan metabolit sekunder dan potensi daun kipait (*Tithonia diversifolia*) sebagai antibakteri terhadap *Bacillus cereus*. Metode yang digunakan adalah metode difusi kertas cakram Kirby Baurer menggunakan ekstrak kipait yang dilarutkan dengan etanol. Konsentrasi yang diuji adalah 20%, 25%, dan 30%. Berdasarkan uji fitokimia yang dilakukan, ekstrak daun kipait positif mengandung alkaloid, flavonoid, dan saponin. Pada penelitian ini, ditemukan aktivitas antibakteri pada konsentrasi 20%, 25% dan 30% berturut-turut memiliki zona hambat berdiameter 10,05 mm, 9,55 mm, dan 9,35 mm. Disimpulkan konsentrasi ekstrak daun kipait (*Tithonia diversifolia*) paling optimal sebagai antibakteri adalah 20% yang dikategorikan ke dalam kriteria resisten kuat.

Kata Kunci: B. Cereus, Kipait, Antibakteri, Fitokimia.

PENDAHULUAN

Resistensi adalah mekanisme tubuh secara keseluruhan menghambat perkembangbiakan agen menular atau racun. Bakteri yang resisten terhadap antibiotik tidak akan mati namun perkembangbiakannya terus berlanjut hingga menjadi berbahaya bagi tubuh manusia (Prayoga, 2013). *Bacillus cereus* merupakan bakteri anaerobik fakultatif gram positif yang menghasilkan racun berupa hemolisin, fosfolipase, dan protease. Racun-racun yang disekresikan ini dapat menyebabkan penyakit gastrointestinal jika tertelan. *B. cereus* juga terlibat atas infeksi mata, saluran pernafasan, dan luka (McDowell, et al., 2023).

Tithonia diversifolia merupakan tumbuhan berkayu atau perdu sukulen yang tumbuh setinggi 1,2 hingga 3 meter (Karebba, et al., 2019). *Tithonia diversifolia* menunjukkan kemanjuran antibakteri terhadap berbagai penyakit, termasuk patogen lingkungan dan manusia., (Odeyemi, et al., 2014) menyelidiki ekstrak air, etanol, dan metanol terhadap beberapa bakteri patogen, termasuk *Enterococcus* sp, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* spp., dan *Shigella* spp menggunakan agar dari kultur stok melalui metode difusi. Dalam penyelidikan mereka, semua mikroorganisme yang diperiksa tidak terpengaruh oleh sifat antibakteri ekstrak bunga. Namun, pada penelitian (Agboola, et al., 2016), minyak atsiri bunga *T. diversifolia* terbukti efisien melawan spesies bakteri dan jamur yang diuji. Mereka menemukan bahwa semua spesies jamur dan bakteri yang diperiksa ditekan pada dosis 40 mg/ml.

Beberapa peneliti telah melakukan penelitian untuk mencari antibiotik alternatif. Tujuan artikel ini adalah untuk mengetahui potensi antibakteri ekstrak daun kipait (*Tithonia diversifolia*) terhadap aktivitas dari bakteri *Bacillus cereus*, sehingga dapat menjadikan daun kipait (*Tithonia diversifolia*) sebagai obat antibakteri alami atau antibakteri alternatif.

METODE PENELITIAN

A. Prosedur Kerja Potensi Ekstrak Daun Kipahit Terhadap Aktivitas Bakteri

Adapun metode kerja yang digunakan untuk menguji resistensi bakteri terhadap antibiotik antara lain: Mempersiapkan dan mensterilkan seluruh alat dan bahan yang akan digunakan dalam pengujian. Alat dan bahan yang disiapkan antara lain ekstrak daun kipahit (20%, 25% dan 30%), media MHA, antibiotik amoxilin, cawan petri, kertas cakram, bunsen, kapas, pinset, kertas label, dan plastik wrap. Kemudian, semua alat dan bahan yang akan digunakan dimasukkan ke dalam aliran udara laminar untuk memulai pengujian. Dinyalakan bunsen dan letakkan cawan petri yang akan digunakan pada area sekitar bunsen untuk menjaga kondisi steril cawan petri. Setelah itu, letakkan cawan petri menjadi 3 bagian, karena pada pengujian ini ekstrak daun kipahit yang digunakan memiliki konsentrasi 20%, 25% dan 30%. Tuang media MHA secukupnya ke dalam cawan petri, lalu diamkan hingga memadat. Diambil suspensi bakteri bekas menggunakan kapas steril lalu oleskan pada cawan petri secara zig-zag secara merata dan padat. Setelah itu, ambil paper disc yang sudah direndam ekstrak daun kipahit konsentrasi 20%, 25% dan 30% dengan menggunakan pinset steril. Kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri sesuai bagian yang telah digariskan. Ditutup cawan petri lalu bungkus menggunakan plastik wrap. Kemudian, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Lalu, ukur diameter daerah hambat (zona bening) disekitar piringan.

B. Identifikasi Metabolit Sekunder pada Daun Kipahit

• Identifikasi Alkaloid

Adapun prosedur kerja dari tes identifikasi alkaloid, antara lain: Ditimbang 4 gr ekstrak daun kipahit lalu campurkan dengan sedikit kloroform (15ml). Kemudian tambahkan amonia kloroform 0,05 N (kurang lebih 5 mL) ke dalam sisa ekstrak kloroform sambil digiling beberapa saat. Selanjutnya disaring dengan pipet dan kapas ke dalam tabung reaksi berukuran sedang, kemudian ditambahkan H₂SO₄ 2 N (10-20 tetes) dan kocok perlahan dengan cara membalikkan tabung reaksi. Didiamkan beberapa saat hingga terbentuk lapisan asam (atas) dan lapisan kloroform di bagian bawah. Pipet lapisan asam (atas) ke dalam 2 tabung reaksi kecil, kemudian uji dengan 2 tetes pereaksi Mayer dan 2 tetes pereaksi Dragendorf. Untuk reagen Mayer uji positif (+) ditandai dengan adanya endapan putih, bila relatif banyak (+4), kabut putih tebal (+3), kabut putih tipis (+2), dan sangat tipis (+1). Untuk pereaksi Dragendorf membentuk endapan berwarna jingga-merah-oranye (+) dan bila tidak ada endapan (-).

• Uji Saponin dan Flavonoid

Pemeriksaan flavonoid dan saponin dilakukan dengan prosedur : Ditimbang 4 gram ekstrak daun kipahit lalu masukkan ke dalam tabung reaksi, lalu tambahkan air hingga semuanya terendam lalu klem tabung reaksi, rebus langsung di atas api bunsen. Untuk menguji flavonoid, tambahkan 0,5 ml volume cairan dengan HCl pekat dan beberapa butiran magnesium. Jika ada warna oranye hingga merah, berarti (+) mengandung flavonoid. Dan untuk menguji saponin, air rebusan dikocok kuat-kuat selama ± 15 menit. Apabila terdapat busa permanen selama ± 15 menit dan tidak hilang dengan penambahan HCl pekat berarti (+) terdapat saponin.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Skrining Fitokimia

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia

NO	Nama Tumbuhan	Metabolit Sekunder		
		Alkaloid	Flavonoid	Saponin
1	Daun Kipahit (<i>Tithonia diversifolia</i>)	Mayer : (+) Dragendorf : (+)	(+)	(+)

1. Uji Identifikasi Alkaloid

Proses pelaksanaan uji identifikasi alkaloid adalah dengan menimbang 4 gram ekstrak daun kipahit (*Tithonia diversifolia*) kemudian dimasukkan ke dalam cawan dan ditambahkan kloroform-amoniak 0,05 N lalu dilarutkan. Kemudian ditambahkan 1 ml asam sulfat (H_2SO_4 2 N), kocok dan diamkan hingga terjadi pemisahan atau terbentuknya lapisan asam (atas) dan lapisan kloroform (bawah). Ambil bagian asam (atas) lalu masukkan ke dalam 2 tabung reaksi. Pada tabung reaksi 1 ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer dan pada tabung reaksi 2 ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorf. Jika terbentuk kabut atau endapan putih pada tabung reaksi 1 (Mayer) dan kabut atau endapan berwarna jingga-merah-oranye pada tabung reaksi 2 (Dragendorf), maka sampel tersebut positif mengandung alkaloid.

Jadi, setelah dilakukan pengujian mengikuti prosesnya dengan baik, maka uji alkaloid pada ekstrak metabolit daun Kipahit (*Tithonia diversifolia*) positif mengandung alkaloid. Hasil positif untuk alkaloid ditunjukkan dengan adanya perubahan pada setiap larutan, pada tabung reaksi 1 terbentuknya kabut atau endapan berwarna putih namun tipis (+2) setelah ditetesi pereaksi Mayer dan pada tabung reaksi 2 terbentuk warna jingga-merah-oranye endapan terbentuk setelah reagen ditetaskan Dragendorff. Alkaloid merupakan golongan senyawa organik yang banyak terdapat di alam. Hampir seluruh senyawa alkaloid berasal dari tumbuhan dan tersebar luas di berbagai jenis tumbuhan. Hampir semua alkaloid mengandung setidaknya satu atom nitrogen, yang biasanya bersifat basa; sebagian besar atom nitrogen ini adalah bagian dari cincin heterosiklik.

2. Uji Identifikasi Flavonoid

Proses pemeriksaan flavonoid adalah sebagian air rebusan, 4gram ekstrak daun kipahit dan air dimasukkan ke dalam tabung reaksi kecil. Kemudian tambahkan 0,5 mL volume cairan dengan HCl pekat dan tambahkan 0,1 g bubuk magnesium dan homogenkan. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna jingga hingga merah (Cowan, 1999). Setelah dilakukan perlakuan dengan proses yang baik, hasil uji flavonoid dari ekstrak metabolit daun kipahit (*Tithonia diversifolia*) positif. Hal ini ditunjukkan dengan perubahan yang ditunjukkan setelah penambahan 0,5 mL HCl pekat dan 0,1gram bubuk magnesium ke dalam larutan, sehingga terbentuk warna jingga hingga merah. (Harbone, 1987) menjelaskan bahwa jika ekstrak sampel mengandung senyawa flavonoid, maka setelah ditambahkan logam Mg dan HCl akan terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga. Pada tumbuhan tingkat tinggi, flavonoid ditemukan baik dalam bentuk vegetatif maupun pada bunga (Robinson, 1995). Flavonoid dalam bentuk glikosida merupakan senyawa polar sehingga dapat diekstraksi dengan etanol, metanol atau air.

3. Uji Identifikasi Saponin

Proses pemeriksaan saponin adalah tabung reaksi yang diisi campuran 4 gram ekstrak daun kipahit dan air matang, dikocok kuat-kuat selama ± 15 menit. Hasil positif dari percobaan ini adalah terbentuknya busa dengan ketebalan konstan ± 1 cm (Harbone, 1987). Setelah dilakukan perawatan dengan proses yang baik, hasil uji saponin positif (+). Hal ini ditandai dengan terbentuknya busa permanen setelah dikocok dan tidak hilang setelah ditambahkan HCL pekat.

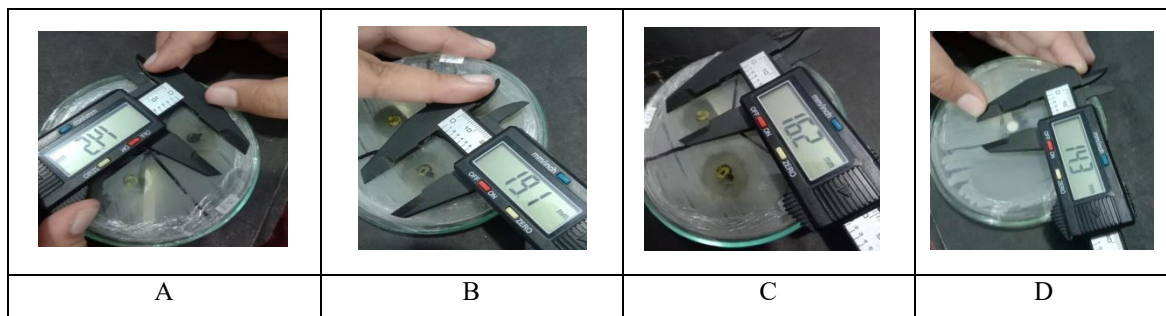
Saponin adalah golongan senyawa kimia yang ditemukan di berbagai tumbuhan. Mereka memiliki struktur seperti sabun yang khas, yang menjadi asal muasal nama mereka. Senyawa-senyawa ini mempunyai bagian hidrofilik (menarik air) dan hidrofobik (menolak air), sehingga memungkinkan mereka berinteraksi dengan air dan lemak. Saponin tersebar luas di dunia tumbuhan dan dapat ditemukan di berbagai spesies tumbuhan, termasuk buah-buahan, sayuran, kacang-kacangan, dan herba. Mereka melakukan berbagai fungsi pada tanaman, seperti bertindak sebagai pestisida alami, antimikroba, dan mekanisme pertahanan terhadap herbivora. Dalam beberapa kasus, mereka berkontribusi terhadap sifat busa atau busa pada tanaman tertentu ketika dicampur dengan air.

B. Uji Aktivitas Antibakteri

Bakteri diinokulasikan pada media MHA dengan menggunakan cotton swab steril secara aseptis demi menghindari kontaminasi. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan

menggunakan metode Kirby Bauer yaitu metode difusi kertas cakram. Setelah bakteri diinkubasi dengan suhu 37° C selama 24 jam, terbentuk zona bening di sekitar kertas cakram yang menunjukkan aktivitas antimikroba. Zona bening menunjukkan kepekaan bakteri terhadap antibakteri, semakin besar zona bening semakin tinggi kepekaan bakteri terhadap antibakteri yang digunakan, artinya semakin besar zona bening semakin baik antibakteri yang digunakan. Diameter zona hambat diukur dengan satuan mm(milimeter).

Sampel	Konsentrasi	Diameter zona hambat	Kriteria Resisten
Esktrak daun kipahit (<i>Tithonia diversifolia</i>)	20%	10,05 mm	Kuat
	25%	9,55 mm	Sedang
	30%	9,35 mm	Sedang
Kontrol	100%	8,45 mm	Sedang



Gambar 1. (A) pengukuran zona hambat menggunakan sampel daun kipahit dengan konsentrasi 20%, (B) konsentrasi 25%, (C) Konsentrasi 30%, (D) Kontrol

(Zahro & Agustini, 2013) menyatakan diameter zona bening dapat digolongkan menjadi lemah ($\leq 5\text{mm}$), sedang ($5\text{-}10\text{mm}$), kuat ($10\text{-}20\text{mm}$) dan sangat kuat ($\geq 20\text{mm}$). Hasil percobaan menggunakan ekstrak kipahit etanol dengan konsentrasi 20% menunjukkan zona bening berukuran 10,05 mm, konsentrasi 25% menunjukkan zona bening berukuran 9,55 mm dan pada konsentrasi 30% menunjukkan zona bening berukuran 9,35 mm. Dapat disimpulkan daya hambat pada konsentrasi 20% adalah kuat, sementara pada konsentrasi 25% dan 30% adalah sedang. Berdasarkan hasil yang didapatkan, besar diameter zona bening berbanding terbalik dengan konsentrasi ekstrak daun kipait. Di mana berturut-turut konsentrasi dengan zona bening terbesar adalah 20%, 25%, dan 30%. Hal ini menunjukkan konsentrasi optimal ekstrak daun kipait sebagai antibakteri terhadap bakteri *B. cereus* adalah 20%.

Aktivitas antibakteri ini dapat disebabkan oleh kandungan metabolit sekunder pada ekstrak daun kipait. Berdasarkan uji fitokimia yang dilakukan, ditemukan bahwa ekstrak daun kipait (*Tithonia diversifolia*) positif mengandung alkaloid, flavonoid, dan saponin. Hasil ini sesuai dengan percobaan sebelumnya oleh (Agidigbi & Odeyemi, (2014) yang menunjukkan bahwa ekstrak daun kipait mengandung alkaloid, flavonoid, fenol seskuiterpen, monoterpen, dan diterpen sebagai komponen aktif.

Alkaloid diduga mempunyai aktivitas antibakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga sel tidak terbentuk dengan baik dan akan menyebabkan kematian sel (Misrahanum, et al., 2022). Senyawa flavonoid merusak membran sitoplasma bakteri yang berfungsi untuk mengatur masuknya bahan makanan dan nutrisi. Jika membran sitoplasma rusak, metabolit penting dalam bakteri akan keluar dan bahan makanan untuk menghasilkan energi tidak dapat masuk, sehingga sel bakteri tidak dapat tumbuh dan akhirnya mati (Dzen, 2003). Saponin juga diduga menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran, menyebabkan kebocoran protein dan enzim pada sel bakteri.

Kemudian, saponin berdifusi melalui dinding sel dan berikatan dengan membran sitoplasma, mengganggu dan menurunkan stabilitas membran sel, menyebabkan sitoplasma bocor keluar sel, menyebabkan kematian sel (Madduluri, et al., 2013).

Bacillus cereus adalah bakteri anaerobik fakultatif gram positif yang menghasilkan racun. Hemolisin, fosfolipase, dan protease adalah racun yang disekresikan dan dapat menyebabkan penyakit gastrointestinal jika tertelan. *B. cereus* juga terlibat atas infeksi mata, saluran pernafasan, dan luka (McDowell, et al., 2023). *B. cereus*, memproduksi enzim proteolitik yang sifatnya menyerupai rennin sehingga dapat menggumpalkan susu. Bakteri anaerobik fakultatif merupakan bakteri yang dapat tumbuh dengan baik dengan maupun tanpa oksigen (Boleng, 2015).

Peptidoglikan yang tebal dan berlapis di luar membran sitoplasma bakteri gram positif terdiri dari asam teikoat, yang larut dalam air dan berfungsi sebagai pengangkut ion positif dan negatif ke dan dari sel. Sifat asam teikoat yang larut dalam air menunjukkan bahwa Gram positif lebih polar. Karena gram positif lebih polar, senyawa polar dapat dengan mudah masuk ke dinding sel dan menghancurkan peptidoglikan polar (Misrahanum, et al., 2022).

KESIMPULAN

Hasil percobaan menggunakan ekstrak kipahit etanol dengan konsentrasi 20% menunjukkan zona bening berukuran 10,05 mm, konsentrasi 25% menunjukkan zona bening berukuran 9,55 mm dan pada konsentrasi 30% menunjukkan zona bening berukuran 9,35 mm. Dapat disimpulkan daya hambat pada konsentrasi 20% adalah kuat, sementara pada konsentrasi 25% dan 30% adalah sedang. Aktivitas antibakteri ini dapat disebabkan oleh kandungan metabolit sekunder pada ekstrak daun kipait. Berdasarkan uji fitokimia yang dilakukan, ditemukan bahwa ekstrak daun kipait (*Tithonia diversifolia*) positif mengandung alkaloid, flavonoid, dan saponin.

DAFTAR PUSTAKA

- Agboola, O. et al., 2016. Chemical composition and antimicrobial activities of essential oil extracted from *Tithonia diversifolia* (Asteraceae) flower. *Journal of Bioresources and Bioproducts*, Volume 1, pp. 169-176.
- Agidigbi, T. S. & Odeyemi, O., (2014. Antibacterial Activities of Crude Extracts of *Tithonia Diversifolia*. *The Experiment*, 20(4), pp. 1421-1426.
- Boleng, D., 2015. *Bakteriologi Konsep-Konsep Dasar*. Malang: Penerbitan Universitas Muhammadiyah Malang.
- Cowan, 1999. *Plant Products as Antimicrobial Agents*. American Society for Microbiology, pp. 564-582.
- Dzen, S. M., 2003. *Bakteriologi Medical*. 1st ed. Malang: Banyumedia Publishing.
- Harbone, 1987. *Metode Fitokimia*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Karebba, N. et al., 2019. Pesticidal activity of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray and *Tephrosia vogelii* (Hook f.); phytochemical isolation and characterization: A review. *South African Journal of Botany*, Volume 121, pp. 366-376.
- Madduluri, S., Babu Rao, K. & Sitaram, B., 2013. In vitro evaluation of antibacterial activity of five indigenous plants extract against five bacterial pathogens of human. *International Journal of* , 5(4), pp. 679-684.
- McDowell, R., Sands, E. & Friedman, H., 2023. *Bacillus Cereus*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
- Misrahanum, Safarah, Z. & Ismail, Y. S., 2022. Antibacterial activity of mexican sunflower leaf *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A.Gray Aqueous extract against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Pharmaciana*, 12(1), pp. 128-135.
- Odeyemi, A., Agidigbi, T., Adefemi, S. & Fasuan, S., 2014. Antibacterial activities of crude extracts of Prayoga, 2013. Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dengan metode difusi disk dan sumuran terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. *Foundations of Physics*, pp. 361-403.
- Robinson, 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Tithonia diversifolia* against common environmental pathogenic bacteria. *The Experiment* , Volume 20,

pp. 1421-1426.
Zahro, L. & Agustini, R., 2013. UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KASAR SAPONIN JAMUR TIRAM PUTIH (*Pleurotus ostreatus*) TERHADAP *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *UNESA Journal of Chemistry*, 2(3), pp. 120-129.