

DOI: <http://dx.doi.org/10.33846/sf16325>

Keunggulan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kipahit dengan Metode Maserasi terhadap Bakteri *Vibrio cholerae*

Muhammad Al Farisi

Program Studi D4 Teknologi Laboratorium Medis, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta, Yogyakarta, Indonesia;
farisimdal@gmail.com

Dhiah Novalina

Program Studi D4 Teknologi Laboratorium Medis, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta, Yogyakarta, Indonesia;
dhiah.novalina@unisayogya.ac.id (koresponden)

Monika Putri Solikah

Program Studi D4 Teknologi Laboratorium Medis, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta, Yogyakarta, Indonesia;
monikaputri@unisayogya.ac.id

ABSTRACT

*Cholera is an intestinal infection caused by the bacterium Vibrio cholerae, which can cause dehydration due to acute diarrhea that can be fatal. The use of antibiotics has the potential to cause resistance and has side effects. The kipahit plant (*Tithonia diversifolia*) can be a potential traditional medicine. Kipahit leaves contain tannins, glycosides, triterpenoids, phenolics, flavonoids, saponins, and alkaloids. The purpose of this study was to test the antibacterial activity of kipahit leaf extract against Vibrio cholerae bacteria, by comparing the infusion and maceration extraction methods. This study was conducted using a true experimental design. Testing the antibacterial activity of kipahit leaf extract against Vibrio cholerae bacteria was carried out using the disc diffusion method, with a comparison between the infusion and maceration extraction methods. The measurement data were analyzed quantitatively by applying the Kruskal-Wallis statistical test. The results of the analysis showed that there was antibacterial activity of kipahit leaf extract against the growth of Vibrio cholerae bacteria. The maceration extraction method at 30% and 50% concentrations showed inhibition zones, while the infusion extraction method at 30% and 50% concentrations showed no inhibition zones against Vibrio cholerae. In conclusion, the maceration extraction method showed antibacterial activity against Vibrio cholerae.*

Keywords: *Vibrio cholerae*; kipahit leaf extract; maceration; antibacterial activity

ABSTRAK

Kolera merupakan suatu infeksi usus oleh bakteri *Vibrio cholerae*, yang dapat menimbulkan dehidrasi akibat diare akut yang berisiko kematian. Penggunaan antibiotik berpotensi menyebabkan resistensi dan memiliki efek samping. Tanaman kipahit (*Tithonia diversifolia*) dapat berpotensi sebagai obat tradisional. Daun kipahit mengandung senyawa tannin, glikosida, triterpenoid, fenolik, flavonoid, saponin, dan alkaloid. Tujuan penelitian ini adalah menguji aktivitas antibakteri ekstrak daun kipahit terhadap bakteri *Vibrio cholerae*, dengan membandingkan metode ekstraksi infusa dan maserasi. Penelitian ini dilakukan menggunakan *true experimental design*. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun kipahit terhadap bakteri *Vibrio cholerae* dilakukan menggunakan metode difusi cakram, dengan perbandingan antara metode ekstraksi infusa dan maserasi. Data hasil pengukuran dianalisis secara kuantitatif dengan penerapan uji statistik Kruskal-Wallis. Hasil analisis menunjukkan bahwa terdapat aktivitas antibakteri ekstrak daun kipahit terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio cholerae*. Metode ekstraksi maserasi konsentrasi 30% dan 50% dapat menunjukkan zona hambat sedangkan melalui metode ekstraksi infusa konsentrasi 30% dan 50% ekstrak daun kipahit tidak menunjukkan zona hambat terhadap *Vibrio cholerae*. Sebagai kesimpulan, melalui metode ekstraksi maserasi, ekstrak daun kipahit dapat menampilkan aktivitas antibakteri terhadap *Vibrio cholerae*.

Kata kunci: *Vibrio cholerae*; ekstrak daun kipahit; maserasi; aktivitas antibakteri

PENDAHULUAN

Kolera merupakan jenis penyakit menular yang disebabkan oleh konsumsi makanan atau air yang terkontaminasi bakteri *Vibrio cholerae*. Penyakit ini dikategorikan sebagai infeksi diare akut, dikarenakan bakteri *Vibrio cholerae* menghasilkan enterotoksin yang dapat mengganggu penyerapan air dan mineral dalam sistem pencernaan. Penyakit kolera dapat menyebabkan gejala seperti diare akut, perut keram, mual dan muntah secara terus-menerus. Penularan dapat tersebar melalui dua cara dari tinja penderita ke manusia atau penularan langsung dari lingkungan yang terkontaminasi. Seseorang yang secara tidak sadar menjadi pembawa bakteri, tidak mencuci tangan dengan sabun juga membuat orang dapat terinfeksi melalui jalur *Fecal-oral*.⁽¹⁻²⁾

Menurut *World Health Organization* (WHO),⁽²⁾ penyediaan air bersih, fasilitas sanitasi, dan praktik kebersihan penting untuk mencegah dan mengendalikan penularan penyakit kolera. Para peneliti memperkirakan bahwa setiap tahunnya terjadi sekitar 1,3-4 juta kasus kolera di seluruh dunia, dengan jumlah kematian mencapai 21.000-143.000 jiwa. Dalam beberapa tahun terakhir, laporan kasus kolera ke WHO mengalami peningkatan. Pada tahun 2023 terdapat 535.321 kasus dan 4.007 kematian yang dilaporkan oleh 45 negara. Dokumen *Ending Cholera: A Global Roadmap to 2030* merupakan implementasi dari strategi global yang dikembangkan oleh *Global Task Force on Cholera Control* (GTFCC) dengan tujuan untuk menurunkan angka kematian akibat penyakit kolera hingga 90% dan menghilangkan penularan penyakit tersebut di 20 negara pada tahun 2030. Penyediaan air bersih, akses terhadap sanitasi dasar dan penerapan kebiasaan hidup bersih merupakan langkah pencegahan utama dalam menghambat penularan penyakit kolera yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio cholerae*.⁽³⁾

Vibrio cholerae merupakan bakteri gram negatif berbentuk koma, dengan panjang 1,5-3,0 μm dan lebar 0,5 μm . Bakteri ini bersifat anaerob fakultatif, bergerak menggunakan flagel monotrik dan tidak membentuk spora. Koloni *Vibrio cholerae* tampak cembung, permukaannya halus, berbentuk bulat keruh dan menunjukkan granula jika terpapar cahaya terang.⁽⁴⁾ Suhu optimum bagi pertumbuhan bakteri ini sekitar 18-37°C. *Vibrio*

cholerae menghasilkan enterotoksin yang dapat memicu terjadinya diare dan dehidrasi. Kondisi dehidrasi yang parah dapat menyebabkan kehilangan cairan dan elektrolit dalam jumlah besar yang menyebabkan kematian.⁽⁵⁾

Menurut Agustanty & Budi,⁽⁶⁾ penggunaan antibiotik Tetrasiklin dapat dilakukan sebagai salah satu tindakan pengobatan penyakit akibat infeksi *Vibrio cholerae*. Antibiotik tetrasiklin dikenal memiliki spektrum antibakteri yang luas. Menurut Susilawati *et al.*,⁽⁷⁾ penggunaan antibiotik dapat menyebabkan resistensi dan memiliki efek samping. Tetrasiklin mempunyai efek samping dapat menyebabkan perubahan warna dan hipoplasia pada gigi, serta merusak hati dan ginjal. Oleh karena itu, diperlukan adanya alternatif lain untuk menghambat pertumbuhan *Vibrio cholerae* terutama dari obat tradisional berdasarkan bahan alam.

Tanaman kipahit (*Tithonia diversifolia*) berpotensi sebagai obat tradisional. Tanaman kipahit masih kurang dikenal masyarakat Indonesia, namun telah digunakan secara tradisional di beberapa daerah sebagai pengobatan gangguan pencernaan. Menurut Purwaningsih *et al.*,⁽⁸⁾ daun kipahit mengandung triterpenoid, alkaloid, tanin, fenolik, glikosida, saponin dan flavonoid. Bagian bunga mengandung flavonoid, saponin dan diterpenes, sedangkan akar hanya mengandung flavonoid dan alkaloid. Menurut Dani,⁽⁹⁾ ekstrak daun kipahit memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Aeromonas salmonicida*, *Edwardsiella tarda* dan *Edwardsiella ictaluri*. Guna mendapatkan ekstrak tersebut, daun kipahit harus diekstraksi terlebih dahulu.

Ekstraksi merupakan metode untuk memisahkan suatu zat dari campurannya dengan menggunakan pelarut sebagai pemisah. Metode ini bertujuan untuk mengisolasi atau menarik senyawa-senyawa tertentu dari suatu sampel.⁽¹⁰⁾ Terdapat 2 jenis metode ekstraksi, yaitu ekstraksi panas dan ekstraksi dingin. Metode ekstraksi panas terdiri dari infusa, sokletasi, dekokta, refluks dan digesti sedangkan metode ekstraksi dingin terdiri dari maserasi dan perkolasii.⁽¹¹⁾ Pemilihan metode ekstraksi dapat mempengaruhi hasil ekstrak dikarenakan beberapa faktor, seperti suhu, waktu, jenis pelarut dan sampel yang digunakan.

Beberapa metode ekstraksi memiliki kelebihan dan kekurangan masing-masing. Menurut Oktavia *et al.*,⁽¹²⁾ metode infusa merupakan ekstraksi panas yang banyak diterapkan dalam produksi obat tradisional, dengan tujuan mengekstrak senyawa aktif yang larut dalam air. Kelebihan infusa dapat menghasilkan ekstrak dalam jumlah lebih banyak dan memiliki waktu ekstraksi yang relatif singkat. Kekurangan infusa adalah terletak pada kestabilan ekstrak yang rendah dan tingginya risiko kontaminasi. Sedangkan metode maserasi dikenal sebagai salah satu metode ekstraksi dingin yang mudah dan banyak digunakan. Metode ini dilakukan tanpa melibatkan pemanasan, sehingga dapat mengurangi risiko kerusakan senyawa aktif. Kekurangan maserasi adalah efisiensinya yang rendah dalam penggunaan pelarut yang mahal dan membutuhkan waktu ekstraksi yang lebih lama dibandingkan dengan metode infusa. Menurut penelitian Simanjuntak *et al.*,⁽¹³⁾ membandingkan metode secara infusa dan maserasi dari batang ketuk, daun kejibeling dan daun mangrove terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* mendapatkan hasil ekstraksi maserasi menunjukkan zona hambat yang lebih baik dibandingkan dengan ekstraksi infusa. Menurut penelitian Qonita *et al.*,⁽¹⁴⁾ hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun jambu biji terhadap *Escherichia coli* dan *Vibrio cholerae* menggunakan metode maserasi menunjukkan zona hambat yang lebih kecil dibandingkan dengan metode infusa yang dilakukan oleh Fadiah *et al.*⁽¹⁵⁾

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan untuk menentukan kemampuan suatu senyawa atau obat dalam menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri. Uji aktivitas antibakteri bisa dilakukan menggunakan metode difusi atau dilusi, di mana difusi merupakan metode yang paling umum digunakan untuk menentukan sensitivitas suatu zat antibakteri. Metode difusi menggunakan kertas cakram sebagai media untuk menampung dan melepaskan zat antibakteri. Menurut Fitriana *et al.*,⁽¹⁶⁾ zona bening yang terbentuk di sekitar cakram kertas pada metode difusi menunjukkan efektivitas ekstrak dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme.

Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak daun kipahit terhadap *Vibrio cholerae* penyebab penyakit kolera dengan membandingkan metode ekstraksi infusa dan maserasi, serta konsentrasi ekstrak yang optimal dalam menghambat pertumbuhan bakteri tersebut.

METODE

Penelitian ini dilakukan dengan rancangan *true experimental*. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun kipahit dilakukan menggunakan metode difusi cakram terhadap *Vibrio cholerae*. Selain itu juga membandingkan metode ekstraksi infusa dan maserasi pada variasi konsentrasi 30% dan 50%. Penelitian dilakukan di Laboratorium Penelitian Terpadu Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta pada bulan Maret sampai April 2025. Populasi pada penelitian ini merupakan tanaman kipahit di sekitaran Jalan Gumuk Indah, Kecamatan Godean, Kabupaten Sleman. Tanaman kipahit diuji determinasi tanaman di Laboratorium Pembelajaran Biologi Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta dengan No.412/Lab.Bio/B/VII/2024. Sampel yang digunakan pada penelitian merupakan daun kipahit dengan teknik pengambilan sampel secara *purposive sampling*.

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak daun kipahit yang diperoleh melalui metode ekstraksi infusa dan maserasi pada variasi konsentrasi 30% dan 50%; sedangkan variabel terikat adalah aktivitas zona hambat *Vibrio cholerae*. Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain loyang, saringan, panci infus, kompor (*Rinai*), blender (*Miyako*), erlemeyer, jam digital, *rotary evaporator* (*HeidolphTM*), *waterbath* (*Faithfull*), beaker glass, ose bulat, *hotplate* (*DLAB*), *magnetic stirrer* (*Scilogex*), bunsen, cawan petri, pinset, jangka sorong, inkubator (*FOC 215*), oven (*Memmert UN 55-60 L*), autoclave (*Labtron*), vortex (*Scilogex*), batang pengaduk, termometer, neraca analitik (*OHAUS PA 224*), daun Kipahit, aquadest steril, biakan *Vibrio cholerae*, media *Nutrient Agar/NA* (*Merck*), media *Thiosulfate-Citrate-Bile-Salt-Sucrose/TCBS* (*DifcoTM*), NaCl Fisiologis, kertas cakram kosong (*Macherey Nagel*), kertas cakram antibiotik Tetrasiklin 30 mcg (*OXOID*), etanol 96%, spiritus, aluminium foil, kertas saring, plastik, kapas steril, lidi kapas steril (*OneMed*), sarung tangan latex dan tisu.

Daun kipahit diekstraksi dengan metode ekstraksi infusa dan maserasi pada variasi konsentrasi ekstrak yang akan digunakan adalah infusa konsentrasi 30%, infusa konsentrasi 50%, maserasi konsentrasi 30% dan maserasi konsentrasi 50%. Penelitian ini menggunakan kontrol positif berupa cakram antibiotik Tetrasiklin 30 mcg. Kontrol negatif pada metode ekstraksi infusa berupa cakram kosong yang direndam dengan aquadest dan kontrol negatif pada metode ekstraksi maserasi berupa cakram kosong yang direndam dengan etanol 96%.

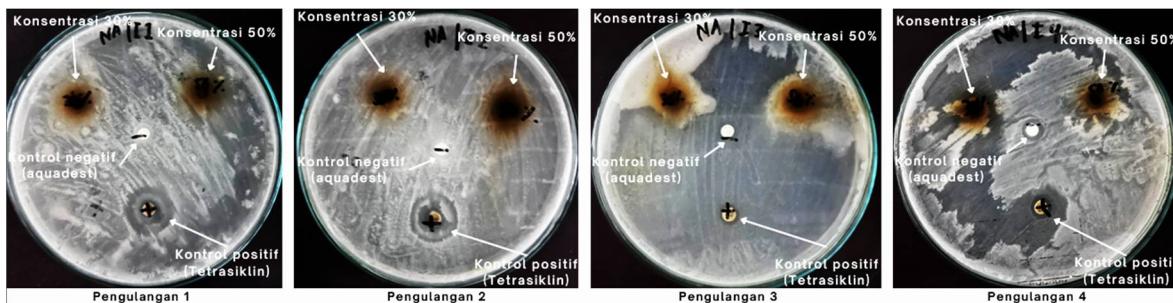
Penelitian ini menggunakan 7 perlakuan dengan 4 ulangan untuk masing-masing metode ekstraksi, sesuai dengan rumus *Federer*.⁽¹⁷⁾ Pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Vibrio cholerae* dilakukan dengan inkubasi terbalik selama 24 jam pada suhu 37°C. Zona hambat yang terbentuk setelah 24 jam diukur menggunakan jangka sorong dan dijadikan indikator untuk menilai aktivitas antibakteri.

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis kuantitatif berupa uji statistik Kruskal-Wallis karena data tidak berdistribusi normal. Uji ini bertujuan untuk mengetahui adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok variabel independent terhadap variabel dependent-nya.⁽¹⁸⁾

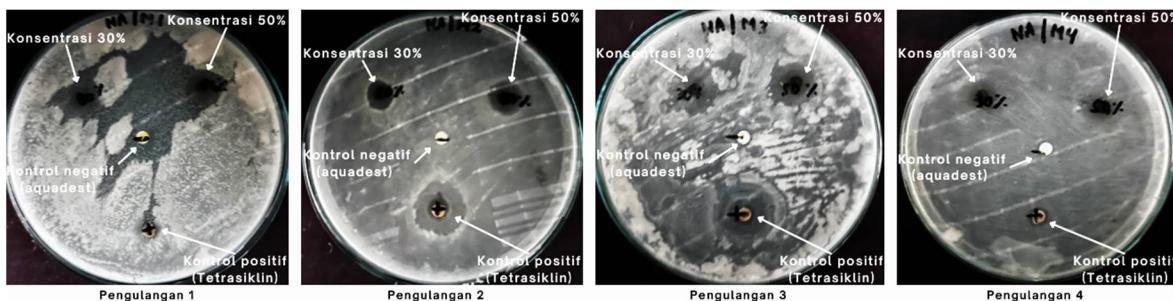
Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan *Ethical Clearance* (EC) di Komisi Etik Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta dengan No.4413/KEP-UNISA/IV/2025. Prinsip-prinsip etika penelitian kesehatan pada fase sebelum, selama dan sesudah penelitian diterapkan dengan semaksimal mungkin oleh tim peneliti.

HASIL

Data diameter zona hambat yang diperoleh melalui uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kipahit dilakukan menggunakan metode difusi cakram terhadap *Vibrio cholerae*, dengan hasil sebagaimana ditampilkan pada Gambar 1 dan Gambar 2.



Gambar 1. Diameter zona hambat yang terbentuk oleh ekstrak daun Kipahit metode ekstraksi infusa



Gambar 2. Diameter zona hambat yang terbentuk oleh ekstrak daun Kipahit metode ekstraksi maserasi

Tabel 1. Diameter zona hambat ekstrak daun Kipahit terhadap *Vibrio cholerae*

Metode ekstraksi	Perlakuan	Pengulangan (mm)				Rata-rata (mm)
		1	2	3	4	
Infusa	Konsentrasi 30%	0	0	0	0	0
	Konsentrasi 50%	0	0	0	0	0
	Kontrol positif (Tetrasiklin 30 mcg)	4,5	4,5	4,0	5,5	4,6
	Kontrol negatif (aquadest)	0	0	0	0	0
Maserasi	Konsentrasi 30%	4,0	5,5	4,5	4,0	4,5
	Konsentrasi 50%	5,5	5,5	7,0	6,0	6,0
	Kontrol positif (Tetrasiklin 30 mcg)	1,0	5,0	4,0	4,5	3,6
	Kontrol negatif (etanol 96%)	0	0	0	0	0

Berdasarkan Tabel 1, ekstrak daun kipahit berbasis metode ekstraksi maserasi dengan konsentrasi 30% dan 50% menunjukkan diameter zona hambat. Pada metode ekstraksi infusa, konsentrasi 30% dan 50% tidak menunjukkan terbentuknya diameter zona hambat.

Tabel 2. Hasil uji perbandingan hasil antara metode ekstraksi infusa dan maserasi

Metode ekstraksi	Jumlah perlakuan	Mean rank	Nilai p
Infusa	16	12,31	0,007
Maserasi	16	20,69	

Tabel 3. Hasil uji perbandingan antar perlakuan

Perlakuan	Jumlah	Mean rank	Nilai p
Infusa 30%	4	8,50	<0,001
Infusa 50%	4	8,50	
Infusa kontrol negatif (aquadest)	4	8,50	
Maserasi 30%	4	22,75	
Maserasi 50%	4	30,00	
Maserasi kontrol negatif (etanol 96%)	4	8,50	
Kontrol positif (Tetrasiklin 30 mcg)	8	22,63	

Berdasarkan Tabel 2, hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan adanya perbedaan zona hambat secara signifikan pada metode ekstraksi infusa dan maserasi dalam menghambat pertumbuhan *Vibrio cholerae* dengan nilai p 0,007. Nilai mean rank metode ekstraksi maserasi lebih tinggi dibandingkan infusa.

Berdasarkan Tabel 3, hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan perbedaan yang signifikan antar perlakuan dengan nilai $p < 0,001$. Perbedaan signifikan antar perlakuan diketahui dengan uji *post-hoc* setelah dilakukan uji Kruskal-Wallis, yang digunakan untuk mengetahui secara spesifik perbedaan antar dua kelompok perlakuan.^(19,20)

Tabel 4. Hasil *Post-hoc* antar perlakuan

Perbedaan antar perlakuan		Nilai p
Infusa 30%	Infusa 50%	1,000
Infusa 30%	Infusa kontrol negatif (aquadest)	1,000
Infusa 30%	Maserasi kontrol negatif (etanol 96%)	1,000
Infusa 50%	Infusa kontrol negatif (aquadest)	1,000
Infusa 50%	Maserasi kontrol negatif (etanol 96%)	1,000
Infusa kontrol negatif (aquadest)	Maserasi kontrol negatif (etanol 96%)	1,000
Infusa 30%	Kontrol positif (Tetrasiklin 30 mcg)	0,008
Infusa 30%	Maserasi 30%	0,021
Infusa 30%	Maserasi 50%	< 0,001
Infusa 50%	Kontrol positif (Tetrasiklin 30 mcg)	0,008
Infusa 50%	Maserasi 30%	0,021
Infusa 50%	Maserasi 50%	< 0,001
Infusa kontrol negatif (aquadest)	Kontrol positif (Tetrasiklin 30 mcg)	0,008
Infusa kontrol negatif (aquadest)	Maserasi 30%	0,021
Infusa kontrol negatif (aquadest)	Maserasi 50%	< 0,001
Maserasi kontrol negatif (etanol 96%)	Kontrol positif (Tetrasiklin 30 mcg)	0,008
Maserasi kontrol negatif (etanol 96%)	Maserasi 30%	0,021
Maserasi kontrol negatif (etanol 96%)	Maserasi 50%	< 0,001
Kontrol positif (Tetrasiklin 30 mcg)	Maserasi 30%	0,981
Kontrol positif (Tetrasiklin 30 mcg)	Maserasi 50%	0,169
Maserasi 30%	Maserasi 50%	0,241

Berdasarkan Tabel 4, hasil uji *post-hoc* menunjukkan bahwa perlakuan maserasi 30%, maserasi 50% dan kontrol positif (Tekrasiklin 30 mcg) memberikan hasil yang tidak berbeda secara signifikan; namun berdasarkan Tabel 1, perlakuan maserasi 50% menghasilkan rerata diameter zona hambat yang lebih besar dibandingkan perlakuan maserasi 30% dan kontrol positif (Tekrasiklin 30 mcg).

PEMBAHASAN

Penelitian dilakukan untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak daun kipahit terhadap *Vibrio cholerae* penyebab penyakit kolera dengan membandingkan metode ekstraksi infusa dan maserasi pada variasi konsentrasi 30% dan 50%. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak daun kipahit memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Vibrio cholerae* yang terbentuk zona bening di sekitar kertas cakram. Aktivitas antibakteri ekstrak ditunjukkan oleh terbentuknya zona bening di sekitar kertas cakram. Menurut Fitriana *et al.*,⁽¹⁶⁾ aktivitas antibakteri suatu senyawa terhadap mikroorganisme ditentukan melalui pengukuran diameter zona bening yang terbentuk di sekeliling kertas cakram. Menurut penelitian Fauziana,⁽²¹⁾ senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun kipahit memiliki aktivitas antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dan *Vibrio alginolyticus*. Menurut penelitian Dani,⁽⁹⁾ kandungan ekstrak daun kipahit memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Edwardsiella ictaluri*, *Edwardsiella tarda* dan *Aeromonas salmonicida*. Menurut hasil skrining fitokimia Purwaningsih *et al.*,⁽⁸⁾ daun kipahit mengandung senyawa tanin, glikosida, fenolik, saponin, triterpenoid, flavonoid dan alkaloid.

Kandungan senyawa antibakteri dalam ekstrak daun kipahit memiliki mekanisme antibakteri yang berbeda namun saling mendukung untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Menurut Dani,⁽⁹⁾ mekanisme penghambatan senyawa antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri dapat melibatkan beberapa cara, seperti menghancurkan struktur dinding sel hingga terjadi lisis, mengganggu integritas membran sel, menghambat proses pembentukan dinding sel, serta menghambat sintesis komponen penting seperti peptidoglikan. Senyawa alkaloid, flavonoid, tanin dan fenolik dapat bekerja secara sinergis dalam merusak membran dan dinding sel, yang pada akhirnya mengakibatkan kematian sel bakteri.⁽²²⁾ Senyawa saponin dapat mengganggu kestabilan membran sel melalui penurunan tegangan permukaan, yang mengakibatkan keluarnya komponen intraseluler.⁽²³⁾ Senyawa fenolik bekerja dengan merusak struktur protein, menghambat sintesis dinding sel, serta mengganggu aktivitas enzimatik.⁽⁹⁾ Senyawa triterpenoid menghambat pertumbuhan bakteri dengan merusak porin, yang menyebabkan terhalangnya masuknya nutrisi ke dalam sel.⁽²⁴⁾

Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak daun kipahit yang diperoleh melalui metode ekstraksi maserasi dapat menunjukkan zona hambat dibandingkan dengan metode ekstraksi infusa yang tidak dapat menunjukkan zona hambat. Hal ini disebabkan oleh perbedaan sifat ketahanan masing-masing senyawa kimia dalam daun kipahit terhadap jenis perlakuan yang diberikan. Metode ekstraksi infusa merupakan metode ekstraksi panas yang digunakan untuk mengekstrak senyawa dalam simplisia yang stabil terhadap panas, berbeda dengan metode maserasi dilakukan tanpa pemanasan dan lebih sesuai untuk senyawa yang bersifat termolabil atau tidak tahan panas.⁽²⁵⁻²⁷⁾ Daun kipahit mengandung senyawa fenolik dan flavonoid yang tidak tahan panas (termolabil), sehingga ekstraksi menggunakan suhu tinggi dapat menyebabkan kerusakan pada gugus glikosidanya. Senyawa kimia metabolit sekunder yang bersifat termolabil lainnya seperti terpenoid, saponin, alkaloid dan steroid akan mudah mengalami degradasi atau perubahan struktur ketika dipanaskan di atas suhu tertentu.⁽²⁵⁾ Menurut penelitian Oematan,⁽²⁸⁾ ekstraksi senyawa tanin dapat diekstraksi secara optimal pada suhu 60-80°C, namun suhu di atas 80°C dapat menyebabkan kerusakan atau perubahan struktur senyawa. Hasil penelitian ini mendukung temuan yang dilaporkan oleh Syafriana *et al.*,⁽²⁹⁾ yang menguji aktivitas antibakteri daun sempur, metode ekstraksi infusa tidak dapat menunjukkan zona hambat terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*.

Menurut Savitri *et al.*,⁽³⁰⁾ faktor yang mempengaruhi hasil ekstraksi meliputi pelarut yang dipakai, waktu dan suhu ekstraksi, perbandingan bahan, serta metode ekstraksi yang digunakan. Ekstrak daun kipahit diperoleh

dengan metode infusa menggunakan pelarut aquadest, sedangkan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Pemilihan pelarut pada proses ekstraksi sangat ditentukan oleh tingkat kepolaran pelarut yang digunakan.⁽³¹⁾ Menurut prinsip 'like dissolves like', senyawa lebih mudah larut dalam pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang sama atau serupa. Menurut Sukmawati *et al.*,⁽³²⁾ pelarut etanol dikenal sebagai pelarut universal karena kemampuannya melarutkan senyawa polar, semi-polar, maupun non-polar. Pelarut ini mampu menyerap dengan baik dan secara efisien melarutkan senyawa aktif, sekaligus meminimalkan pelarutan senyawa pengganggu. Pelarut etanol juga mampu menembus dinding sel tanaman, sehingga mempermudah pelepasan senyawa dari dalam sel. Etanol mengandung gugus hidroksil polar yang mendukung pelarutan senyawa fenolik, serta gugus alkil non-polar yang memperluas spektrum kelarutan terhadap berbagai senyawa.⁽³³⁾ Pelarut aquadest hanya mampu mengekstrak senyawa aktif yang bersifat polar, sehingga kelarutan senyawa fenolik dan flavonoid dalam air cenderung rendah.⁽³⁴⁾ Menurut Simamora,⁽³⁵⁾ rendahnya senyawa fenolik dan flavonoid pada ekstrak dengan pelarut aquadest diduga akibat banyaknya kandungan karbohidrat yang ikut terekstrak sehingga menyebabkan total fenolik dan flavonoid menjadi rendah. Selain itu menurut penelitian Simanjuntak *et al.*,⁽³⁵⁾ perbandingan antara metode infusa dan maserasi pada ekstrak batang ketuk, daun kejibeling dan daun mangrove terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menunjukkan bahwa maserasi menghasilkan diameter zona hambat yang lebih besar dibandingkan infusa.

Berdasarkan hasil perlakuan maserasi 30%, maserasi 50% dan kontrol positif (Tekrasiklin 30 mcg) tidak ada perbedaan signifikan antar perlakuan dengan uji statistik, namun berdasarkan rata-rata zona hambat menunjukkan ada perbedaan antara maserasi 30%, maserasi 50% dan kontrol positif. Perlakuan maserasi 50% menghasilkan rata-rata diameter zona hambat yang lebih besar dibandingkan perlakuan maserasi 30% dan kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa daya antibakteri ekstrak daun kipahit perlakuan maserasi 50% lebih kuat daripada daya antibakteri antibiotik Tekrasiklin 30 mcg dalam menghambat pertumbuhan *Vibrio cholerae*. Sedangkan tidak terbentuknya zona hambat pada kontrol negatif terhadap *Vibrio cholerae* menunjukkan bahwa aquadest dan etanol 96% tidak memiliki efek antibakteri, melainkan hanya berperan sebagai pelarut ekstrak.

Penelitian ini menunjukkan bahwa setiap konsentrasi ekstrak daun kipahit menghasilkan ukuran zona hambat yang berbeda-beda. Menurut Mayaserli,⁽³⁷⁾ konsentrasi ekstrak yang tinggi mengandung lebih banyak senyawa antibakteri, sehingga efektivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri meningkat dan zona hambat menjadi lebih lebar. Sementara itu, pada konsentrasi rendah, kandungan antibakteri menurun sehingga zona hambat yang terbentuk lebih kecil. Hasil penelitian ini konsisten dengan temuan dari Purwaningsih *et al.*,⁽⁸⁾ Dani⁽⁹⁾ dan Fauziana,⁽²¹⁾ yang menunjukkan bahwa variasi konsentrasi ekstrak daun kipahit memengaruhi ukuran zona hambat yang terbentuk. Ukuran zona hambat pada metode difusi cakram dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor teknis, antara lain komposisi media, ketebalan media agar, ukuran cawan petri, kekeruhan suspensi bakteri, kepekatan ekstrak, waktu pemasangan cakram, suhu inkubasi dan waktu inkubasi.⁽³⁶⁾

Hasil perlakuan kontrol positif (Tekrasiklin 30 mcg) menunjukkan diameter zona hambat yang terbentuk tergolong dalam kategori resisten menurut *Clinical And Laboratory Standards Institute* (CLSI). Hal tersebut karena kategori resisten terjadi bila diameter zona hambat ≤ 13 mm, *intermediate* bila diameter adalah 14-16 mm dan sensitif bila diameter adalah ≥ 17 mm.⁽³⁸⁾ Tetrasiklin termasuk golongan antibiotik yang bersifat bakteriostatik. Menurut Simanjuntak *et al.*,⁽³⁹⁾ bakteri menjadi resisten terhadap Tetrasiklin karena memiliki gen ekstrakromosomal yang dapat mereplikasi diri dan memproduksi protein yang dibutuhkan oleh plasmid.

Keterbatasan penelitian ini ada pada penggunaan dua metode ekstraksi dengan satu jenis bakteri uji tanpa analisis kandungan fitokimia secara kuantitatif maupun uji toksisitas, sehingga hasil penelitian masih bersifat awal. Maka, penelitian lanjutan diperlukan dengan desain eksperimen yang lebih komprehensif, meliputi pengujian berbagai metode ekstraksi, evaluasi efek antibakteri pada rentang konsentrasi lebih luas, analisis kandungan fitokimia secara kuantitatif, uji toksisitas, percobaan *in vivo* pada model hewan, serta pengujian pada jenis bakteri yang lebih beragam, guna memperoleh temuan yang lebih valid dan dapat digeneralisasi.

KESIMPULAN

Ekstrak daun kipahit yang diperoleh melalui metode maserasi pada variasi konsentrasi 30% dan 50% dapat menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Vibrio cholerae* yang terbentuk zona bening di sekitar kertas cakram, dibandingkan dengan metode ekstraksi infusa.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sebrina NZ, Ramadhani S, Yunavita D, Fevria R. Analisis bakteri *Vibrio cholerae* pada lalat rumah (*Musca domestica*) penyebab kolera. Prosiding Seminar Nasional Biologi; 2022. p. 319-327.
2. World Health Organization (WHO). Cholera. Geneva: WHO; 2024.
3. Ko M, Cherian T, Groves HT, Klemm EJ, Qazi S. Application of the child health and nutrition research initiative (CHNRI) methodology to prioritize research to enable the implementation of ending cholera: a global roadmap to 2030. PLoS One. 2022;17(5):e0264952.
4. Faudiyah NN. Identifikasi bakteri *Vibrio cholerae* pada tubuh lalat hijau (*Chrysomya megacephala*) di Pasar Legi Jombang. Jombang: STIKes Insan Cendekia Medika Jombang; 2020.
5. Guntina RK, Kusuma SAF. Deteksi bakteri *Vibrio cholerae*. Bandung: Universitas Padjajaran; 2016.
6. Agustanty A, Budi A. Pola resistensi bakteri *Vibrio cholerae* terhadap antibiotik ciprofloxacin dan tetracycline. J Health Sci. 2022;6(1):73-8.
7. Susilawati S, Fakih TM, Rusdi B. Identifikasi struktur pada antibiotika golongan tetrasiklin yang memberikan efek toksik dengan uji in-silico. Bandung Conference Series: Pharmacy. 2023;441-449.
8. Purwaningsih NS, Utami SM, Apriandini W. Uji efektivitas antibakteri dari ekstrak daun kipait (*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray) terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*. J Edu Masda. 2020;4(1):81-7.
9. Dani MO. Uji aktivitas antibakteri daun kipahit (*Tithonia diversifolia*) terhadap bakteri *Aeromonas salmonicida*, *Edwardsiella tarda* dan *Edwardsiella ictaluri*. Pekanbaru: Universitas Islam Riau; 2021.

10. Septiningrum CH, Ariastuti R, Ahwan A. Uji skrining fitokimia ekstrak etanol 96% daun markisa ungu (*Passiflora edulis Sims*). *J Farm SYIFA*. 2024;2(2):37-41.
11. Depkes RI. Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat. Jakarta: Depkes RI; 2000.
12. Oktavia SN, Wahyuningih E, Andasari SD. Skrining fitokimia dari infusa dan ekstrak etanol 70% daun cincau hijau (*Cyclea barbata Miers*). *CERATA J Ilmu Farm*. 2020;11(1):1-6.
13. Simanjuntak P, Susanto E, Sulastri L. Pengaruh metode ekstraksi cara maserasi dan infusa daun mangrove, daun kejibeling dan batang ketuk serta kombinasinya terhadap uji bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Pros Semin Kim*. 2019;1(6).
14. Qonita N, Susilowati SS, Riyandini D. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Vibrio cholerae*. *Acta Pharm Indo*. 2019;7(2):51-7.
15. Fadiah R, Izzah Z, Nasution NE. Aktivitas antibakteri kombinasi probiotik (*Bifidobacterium bifidum* dan *Lactobacillus acidophilus*) dengan infus daun jambu biji (*Psidium guajava*). *Berk Ilm Kim Farm*. 2014;3(2):16-22.
16. Fitriana YAN, Fatimah VAN, Fitri AS. Aktivitas antibakteri daun sirih: uji ekstrak KHM (kadar hambat minimum) dan KBM (kadar bakterisidal minimum). *Sainteks*. 2020;16(2).
17. Charan J, Kantharia ND. How to calculate sample size in animal studies? *J Pharmacol Pharmacother*. 2013 Oct;4(4):303-6. doi: 10.4103/0976-500X.119726. PMID: 24250214; PMCID: PMC3826013.
18. Rozi F, Maulidiya D. Analisis perubahan inflasi beberapa kota besar di Indonesia dengan menggunakan uji Kruskal-Wallis. *Multi Proximity J Stat*. 2022;1(2):103-15.
19. Hasyim DI, Septiasari Y, Saputri N. Pengaruh kombinasi akupresur Tui Na dan sari kurma terhadap peningkatan status gizi pada balita stunting di Kabupaten Pringsewu. *J Ilm Kesehatan*. 2025;14(1):17-30.
20. Mega B, Najib A, Faizah M. Efektivitas ekstrak kulit jeruk siam (*Citrus nobilis*) dan ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. *J Insan Cendekia*. 2024;11(2):145-62.
21. Fauziana N. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kipahit (*Tithonia diversifolia*) terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Vibrio alginolyticus*. Pekanbaru: Universitas Islam Riau; 2021.
22. Devi IAS. Efektivitas daya hambat ekstrak etanol daun bidara arab (*Ziziphus spina-christi L.*) dengan konsentrasi 40% dan 60% terhadap bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* secara in vitro. Denpasar: Universitas Mahasaraswati Denpasar; 2023.
23. Aulia DU, Hidayati AR, Suryani D. Antibacterial activity of methanol extract and n-butanol fraction of *Euphorbia milii* leaves against *Staphylococcus aureus*. *J Biol Tropis*. 2023;23(1):315-23.
24. Hasibuan H, Rosidanelli. Pemanfaatan flavonoid ekstrak daun katuk (*Sauvagesia androgynus (L) Merr*) sebagai antioksidan pada minyak kelapa. *J Tek Kimia USU*. 2016;5(1):45-51.
25. Pradito SA, Muthmainah N, Biworo A. Perbandingan aktivitas antibakteri sediaan infus dan sediaan ekstrak daun sungkai (*Peronema canescens Jack*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Homeostasis*. 2022;5(1):135-44.
26. Chairunisa F, Safithri M, Bintang M. Antibacterial activity of ethanol extract of red betel leaves (*Piper crocatum*) and its fractions against *Escherichia coli* pBR322. *Current Biochemistry*. 2022 Jun 10;9(1):1-5.
27. Torong ET, Sari W, Azahra D, Purba CY, Purba EL, Sabila IN, Priltius N, Marbun ED. Standarisasi parameter spesifik dan non spesifik simpilisia rimpang temu mangga (*Curcuma mangga Val.*). *Jurnal Intelek Dan Cendikiawan Nusantara*. 2025 Jul 30;2(3):4611-23.
28. Oematan ZZB. Pengaruh perbedaan suhu dan waktu ekstraksi terhadap kandungan tanin pada ekstrak daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*). *Calyptra*. 2016;4(2):1-12.
29. Syafriana V, Indriyani I, Puspitasari L. Total flavonoid dan aktivitas antibakteri infusa daun sempur (*Dillenia suffruticosa* (Griff. ex Hook f. & Thomson) Martelli). *Berita Biol*. 2024;23(2):207-14.
30. Savitri M, Pangestoe SH, Uman HI, Perdani MS, Pambudi T. Pengaruh ukuran partikel dan suhu terhadap derajat asetilasi dan yield pada ekstraksi kitin dari belalang melalui green method. *Kovalen J Ris Kim*. 2024;10(2):158-66.
31. Susanti S, Sundari RS, Rizkuloh LR, Mardianingrum R. Pengaruh perbedaan pelarut terhadap kadar fenol total dan aktivitas antioksidan ekstrak gadung (*Dioscorea hispida Dennst.*). *Biopropal Industri*. 2021;12(1):43-9.
32. Sukmawati IK, Susilowati E, Putri SD. Antibacterial activity of extracts and fractions of wood ear mushroom (*Auricularia auricula*). *Pharmaciana*. 2019;9(1):157-66.
33. Sunarmi S, Suhendriyo S, Ambarwanto ST. Uji kandungan fenol dan flavonoid ekstrak daun seligi (*Phyllanthus buxifolius*) dengan pelarut etanol dan etil asetat. *Innovative: Journal Of Social Science Research*. 2024 Dec 28;4(6):8401-8.
34. Evayana E, Aminah S. Determination of total levels of white turmeric flavonoids (*Curcuma zedoria Rosc.*) with variation of solvent types. *Media Eksakta*. 2022 May 31;18(1):1-5.
35. Simamora ACY, Yusasrini NLA, Putra INK. Pengaruh jenis pelarut terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun tenggulun (*Protium javanicum Burm. F*) menggunakan metode maserasi. *J Ilmu Teknol Pangan*. 2021;10(4):681.
36. Nor TA, Indriarini D, Koamesah SMJ. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara in vitro. *Cendana Med J*. 2018;6(3):327-37.
37. Mayaserli DP, DY S. Uji daya hambat dan daya bunuh ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia Linn*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. *J Kesehat Perintis*. 2021;8(1):67-74.
38. Rahmi NA, Pulungan AS. Testing the antibacterial activity of moringa leaf (*Moringa oleifera L.*) ethanol extract on the growth of the bacteria *Propionibacterium acnes* in vitro. *Jurnal Biologi Sains dan Kependidikan*. 2024;4(2):12-18.
39. Simanjuntak HA, Simanjuntak H, Maimunah S, Rahmiati R, Situmorang TS. Diameter zona hambat antibiotik amoxicillin dan tetracycline terhadap *Escherichia coli*. *Herb Med J*. 2022;5(2):55-9.