
 <p>UNIVERSITAS ABDURRAB</p>	<p>Klinikal Sains 11 (2) (2023)</p> <p>JURNAL ANALIS KESEHATAN</p> <p>KLINIKAL SAINS</p> <p>http://jurnal.univrab.ac.id/index.php/klinikal</p>	
<p>AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KITOLOD (<i>Isotoma longiflora</i>) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI <i>Streptococcus pyogenes</i></p> <p>Ari Nuswantoro¹, Kartini¹</p> <p>Department of Medical Laboratory Technology, Poltekkes Kemenkes Pontianak Jln. 28 Oktober, Pontianak, Indonesia, 78241 Email: arinuswantoro82@gmail.com</p>		
<p>Info Artikel</p> <hr/> <p><i>Sejarah Artikel:</i></p> <p>Diterima Januari 2023</p> <p>Disetujui November 2023</p> <p>Dipublikasikan Desember 2023</p> <hr/> <p><i>Keywords:</i></p> <p>kitolod leaf, <i>Streptococcus pyogenes</i>, antibacterial, Kirby-Bauer diffusion</p> <hr/>	<p style="text-align: center;">Abstrak</p> <hr/> <p>Kitolod merupakan tanaman yang mudah tumbuh di daerah tropis, termasuk Indonesia. Daun kitolod mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin dan terpenoid sehingga berpotensi dimanfaatkan sebagai bahan antibakteri untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti <i>Streptococcus pyogenes</i>. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun kitolod terhadap pertumbuhan <i>Streptococcus pyogenes</i>. Penelitian ini berbentuk eksperimental semu dengan teknik <i>purposive sampling</i>. Daun kitolod diekstrak dengan metode maserasi menggunakan etanol kemudian dilarutkan dalam DMSO 15% untuk mendapatkan konsentrasi 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, dan 90%. Selanjutnya dilakukan uji kepekaan antimikroba metode difusi Kirby-Bauer dengan masing-masing konsentrasi dilakukan replikasi tiga kali dan kontrol menggunakan antibiotik basitrasin. Diameter zona hambat yang terbentuk diukur dan dilakukan uji statistik untuk mendapatkan rata-rata diameter zona hambat setiap konsentrasi. Diameter zona hambat dari konsentrasi terkecil ke yang terbesar berturut-turut adalah 17,66 mm (sensitif), 18,16 mm (sensitif), 18,50 mm (sensitif), 19 mm (sensitif), 19,83 mm (sensitif), 21,16 mm (sensitif), 21,83 mm (sensitif), 22,33 mm (sensitif), dan 23,83 mm (sensitif), sedangkan kontrol basitrasin 17,5 mm (sensitif). Dengan demikian, ekstrak daun kitolod terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan <i>Streptococcus pyogenes</i>.</p> <p>Kata Kunci: daun kitolod, <i>Streptococcus pyogenes</i>, antibakteri, difusi Kirby-Bauer</p> <p>Abstract</p> <p>Kitolod is a plant that is easy to grow in the tropics, including Indonesia. Kitolod leaves contain flavonoids, alkaloids, tannins, saponins and terpenoids that have the potential to be used as antibacterial agents to inhibit the growth of pathogenic bacteria such as <i>Streptococcus pyogenes</i>. This study aims to determine the antibacterial activity of kitolod leaf extract on the growth of <i>Streptococcus pyogenes</i>. This research is quasi-experimental with purposive sampling technique. Kitolod leaves were extracted by maceration method using ethanol then dissolved in 15% DMSO to obtain concentrations of 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%,</p>	

	<p>and 90%. Next, the antimicrobial susceptibility test was carried out using the Kirby-Bauer diffusion method. Samples of each concentration were replicated three times and the control used the antibiotic bacitracin. The diameter of the inhibition zone formed was measured and a statistical test was carried out to obtain the average diameter of the inhibition zone for each concentration. The diameter of the inhibition zone from the smallest concentration to the largest is respectively 17.66 mm (sensitive), 18.16 mm (sensitive), 18.50 mm (sensitive), 19 mm (sensitive), 19.83 mm (sensitive), 21.16 mm (sensitive), 21.83 mm (sensitive), 22.33 mm (sensitive), and 23.83 mm (sensitive), while the bacitracin control was 17.5 mm (sensitive). Thus, kitolod leaf extract proved to have antibacterial activity against the growth of <i>Streptococcus pyogenes</i>.</p> <p>Keywords: kitolod leaf, <i>Streptococcus pyogenes</i>, antibacterial, Kirby-Bauer diffusion</p> <p style="text-align: right;">© 2023 Universitas Abdurrah</p>
<p>✉ Alamat korespondensi: Alamat: Jln. Danau Sentarum Komplek Sentarum Mandiri No. B16, Pontianak, Kalimantan Barat, 78116 E-mail: arinuswantoro82@gmail.com</p>	<p style="text-align: right;">ISSN 2338-4921</p>

PENDAHULUAN

Pengobatan tradisional, yang termasuk *herbal medicine*, merupakan bukti kemandirian suatu bangsa dan telah mendapat dukungan dari World Health Organization (WHO) selama digunakan secara rasional dan berbasis bukti (Siahaan et al., 2018; World Health Organization, 2013). Di negara berkembang, termasuk Indonesia, 80% dari jumlah populasinya sudah mempraktekkan pengobatan tradisional (Ekor, 2014). Pengobatan tradisional tersebut biasanya berasal dari tanaman atau bagian tanaman, baik yang tumbuh secara liar atau yang dibudidayakan di pekarangan yang dinamakan tanaman obat keluarga (TOGA) (Harefa et al., 2020), dan salah satu yang sudah dikenal manfaatnya namun belum banyak diteliti adalah tanaman kitolod (*Isotoma longiflora*).

Secara luas, kitolod terbukti memiliki efek antikanker, antioksidan, antifungi, antibakteri, antiinflamasi, analgesik, dan hemostatik. Hal ini tak lepas dari kandungan flavonoid, steroid, saponin, tanin dan alkaloid di dalamnya (Hapsari et al., 2016; Permana et al., 2022). Dalam mengatasi infeksi bakteri, kitolod, terutama daunnya dapat digunakan sebagai obat sakit mata, bronkhitis, radang tenggorokan, asma, sakit gigi dan luka (Santoso, 2022). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kitolod efektif dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* (Tyas Angganawati & Choirin Nisa, 2019), begitu pula jika ekstrak etanol tersebut dijadikan bahan gel *hand sanitizer* maka efektivitasnya dalam menghambat *S. aureus* tetap ada (Setiyowati & Laksmi Ramayani, 2022).

Selain *S. aureus*, bakteri Gram-positif lain yang juga patogen dan dapat menyebabkan masalah kesehatan serius pada manusia adalah *Streptococcus pyogenes* (*Streptococcus* grup A). Bakteri ini berbentuk bulat (*coccus*) yang tumbuh dalam susunan berantai dan bertanggung jawab dalam banyak masalah kesehatan seperti demam *scarlet*, faringitis, impetigo, selulitis, *necrotizing fasciitis* dan sindrom syok toksik, serta gejala sisa demam rematik dan glomerulonefritis pasca-streptokokal akut (Ferretti et al., 2016). Penyakit yang disebabkan oleh *S. pyogenes* masih menjadi beban terutama bagi negara miskin dan daerah dengan infrastruktur yang buruk (Efstratiou & Lamagni, 2022). Meskipun Indonesia bukan tergolong negara miskin, namun pembangunan infrastruktur yang belum merata dan fasilitas kesehatan yang belum memadai dapat menjadi penyebab munculnya ancaman penyakit karena *S. pyogenes*.

Penelitian mengenai kandungan senyawa aktif di dalam daun kitolod dan efeknya terhadap pertumbuhan bakteri Gram-positif dan Gram-negatif telah banyak dilakukan, baik dalam bentuk ekstrak maupun yang sudah menjadi bentuk sediaan. Namun, data tentang efektivitas ekstrak daun kitolod terhadap pertumbuhan *S. pyogenes* terutama pada negara berkembang masih belum ada. Penelitian ini bertujuan untuk memberikan gambaran mengenai kemampuan ekstrak etanol daun kitolod dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus pyogenes*, dan dibandingkan dengan basitrasin.

METODE

Penelitian ini dirancang dengan desain eksperimental semu. Sampel adalah daun kitolod yang diambil dari pekarangan yang berlokasi di Kota Pontianak dan dikumpulkan pada pagi hari untuk efektivitas waktu dan meminimalkan perbedaan variasi sampel. Sampel diekstraksi dengan etanol dan diencerkan dengan dimetil sulfoksida (DMSO) 15% hingga didapat konsentrasi 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, dan 90%. Masing-masing konsentrasi ini dilakukan tiga kali pengulangan sehingga total seluruh perlakuan adalah 27 kali. Sebagai kontrol positif digunakan basitrasin karena sensitivitas *S. pyogenes* yang tinggi terhadap antibiotik ini (Spellerberg & Brandt, 2022), dan kontrol negatif adalah cakram berisi pelarut DMSO 15%. Uji statistik dilakukan untuk menentukan nilai rata-rata diameter zona hambat dari masing-masing konsentrasi.

Penelitian dimulai dengan melakukan ekstraksi daun kitolod menggunakan etanol dengan tahap sebagai berikut: sebanyak 1,5 kilogram (kg) daun kitolod dikeringkan di dalam *cabinet dryer* pada suhu 50-60°C sampai kering kemudian dihancurkan sampai halus. Serbuk ini ditimbang 400 gram, kemudian dimasukkan ke dalam toples kaca bertutup dan dilakukan maserasi dengan

etanol selama 2 hari, dan dilakukan dengan tiga kali pengulangan sehingga didapat maserat yang bening. Pemilihan etanol sebagai pengekstrak didasarkan pada kemampuannya menarik fenol dan alkaloid secara maksimal dan relatif aman bagi manusia (Bitwell et al., 2023; Q. W. Zhang et al., 2018). Maserat diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 60°C hingga diperoleh ekstrak daun kitolod. Ekstrak disimpan pada cawan penguap dan diuapkan pada *hote plate*. Sisa etanol dihilangkan dengan cara meletakkan sisa residu di desikator berisi silika atau pengering selama 24 jam. Selanjutnya ekstrak dilakukan pengenceran dengan menggunakan pelarut DMSO 15% untuk mendapatkan konsentrasi 50%, 55%, 60%, 65%, 75%, 80%, 85%, dan 90% masing-masing dibuat sebanyak 10 mililiter (mL).

Terhadap ekstrak yang didapat dilakukan uji fitokimia dilakukan sebagai berikut:

1. Flavonoid: 2 mL sampel dicampur dengan beberapa tetes NaOH 20% dan akan terbentuk warna kuning. Lalu teteskan HCl 70% hingga warna kuning hilang. Terbentuknya warna kuning yang kemudian hilang menunjukkan adanya flavonoid.
2. Alkaloid: 2 mL sampel dilarutkan dalam HCl dan disaring. Kemudian filtrat ditambahkan reagen Dragendorff's (larutan kalium potassium iodida) dan terbentuk presipitat berwarna merah yang menandakan adanya alkaloid.
3. Tanin: 2 mL sampel yang sudah difiltrasi ditambahkan ke dalam FeCl₃ 10% di dalam alkohol. Munculnya warna hitam atau biru kecoklatan menandakan adanya tanin.
4. Terpenoid: 2 mL sampel yang difiltrasi ditambahkan 0,5 mL kloroform, 0,5 mL asam asetat anhidrat dan beberapa tetes konsentrat asam sulfat. Jika terbentuk presipitat berwarna merah kecoklatan maka terpenoid positif.
5. Saponin: 2 mL sampel difiltrasi dan ditambahkan ke dalam 4 mL air suling. Campuran ini dicampur dan dikocok sehingga terbentuk busa dalam 10 menit yang menandakan adanya saponin (Rajkumar et al., 2021).

Selanjutnya tahap uji kepekaan antimikroba dilakukan sebagai berikut:

1. Membuat media Mueller-Hinton agar (MHA) (Oxoid, ThermoFisher Scientific): sebanyak 19 gr MHA di dalam erlenmeyer dilarutkan dengan 500 mL air suling dan dilarutkan pada penangas air. Media yang sudah homogen disterilkan dengan otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah dibiarkan mendingin pada suhu 45-50°C lalu dituangkan sebanyak 20 mL ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan memadat pada suhu kamar dalam kondisi aseptis. Media ini disimpan pada suhu 4°C hingga saat akan digunakan (Bridson, 2006).
2. Membuat suspensi bakteri *Streptococcus pyogenes* (ATCC 19615, CultiLoops, ThermoFischer Scientific): sebanyak 5 mL NaCl 0,9% steril di dalam tabung reaksi steril

dan ditambahkan 1 ose koloni bakteri, kemudian diaduk sampai homogen dan dibandingkan kekeruhannya dengan standar kekeruhan McFarland 0,5 (9,95 mL H₂SO₄ 1% dan 0,05 mL BaCl₂.2H₂O 1,175%) sehingga jumlah bakteri di dalamnya setara dengan konsentrasi 1,5 x 10⁸ CFU/mL (Lahuerta Zamora & Pérez-Gracia, 2012).

3. Inokulasi dan penempelan cakram antimikroba: dicelupkan swab steril ke dalam suspensi bakteri *Streptococcus pyogenes* kemudian tekan swab steril ke sisi tabung agar air tiris. Swab tersebut diusapkan pada permukaan media MHA sebanyak 3 kali, putar cawan petri kira-kira 60° setiap proses swab agar proses inokulum suspensi merata pada permukaan media, kemudian dibiarkan selama 10 menit. Ambil cakram antimikroba dan letakkan pada permukaan media MHA sambil ditekan agar menempel sempurna. Cawan petri diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam.
4. Kontrol positif menggunakan cakram antibiotik basitrasin 10 mikrogram (mcg) (Oxoid, ThermoFisher Scientific) dan kontrol negatif menggunakan cakram yang diresapkan dengan DMSO 15%.
5. Pembacaan hasil: diukur diameter zona hambat yang terbentuk tepat melewati tengah cakram antimikroba menggunakan penggaris dan dilaporkan dalam satuan milimeter (mm) (Benkova et al., 2020).
6. Interpretasi hasil: diameter zona hambat yang terbentuk dibandingkan dengan tabel antibiotik basitrasin seperti di bawah ini.

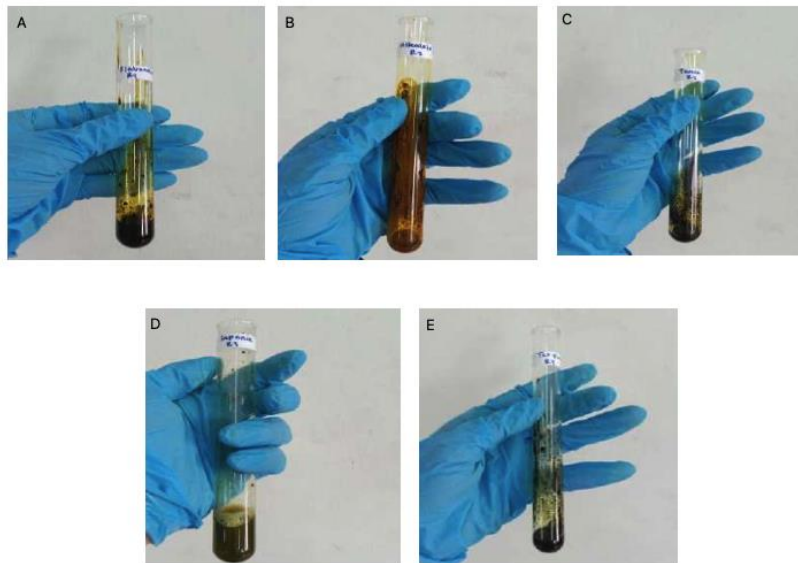
Tabel 1. Interpretasi hasil untuk antibiotik basitrasin

Diameter zona hambat	Interpretasi
≤ 8 mm	Resisten
9-12 mm	Intermediet
≥ 13 mm	Sensitif

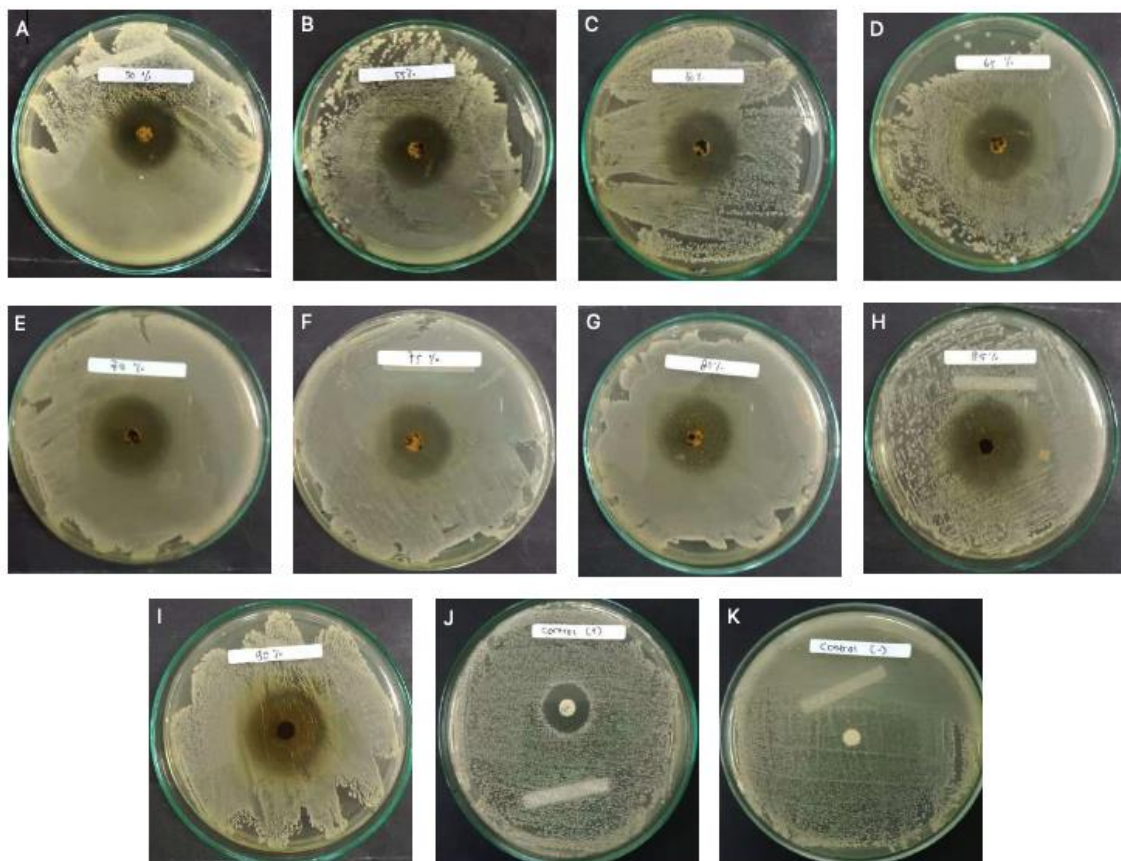
(Balci, 2022)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemeriksaan laboratorium yang dilakukan meliputi uji fitokimia dan uji kepekaan antimikroba metode difusi Kirby-Bauer. Hasil uji fitokimia secara kualitatif membuktikan bahwa ekstrak daun kitolod mengandung kelima bahan aktif antimikroba yaitu flavonoid, alkaloid, tanin, terpenoid, dan saponin (Gambar 1, Tabel 2).



Gambar 1. Hasil uji fitokimia secara kualitatif: (A) flavonoid, (B) alkaloid, (C) tanin, (D) terpenoid, dan (E) saponin



Gambar 2. Diameter zona hambat yang terbentuk dari masing-masing konsentrasi dan kontrol: (A-I) 50-90%, (J) kontrol positif basitrasin, dan (K) kontrol negatif

Hasil uji kepekaan antimikroba metode difusi Kirby-Bauer mendapatkan diameter zona hambat yang bervariasi antar konsentrasi dan kontrol. Gambar 2 menunjukkan bahwa zona hambat yang terbentuk dari masing-masing konsentrasi dapat terlihat dengan jelas dan memiliki batas yang tegas sehingga diameter dapat dengan mudah diukur. Semakin tinggi konsentrasi maka rata-rata ukuran diameter zona hambat juga semakin besar (Tabel 2). Selain itu terlihat juga bahwa semua sampel memiliki ukuran diameter zona hambat yang lebih besar dari kontrol basitrasin. Sedangkan pada plate kontrol negatif tidak menunjukkan adanya zona hambat yang membuktikan bahwa pelarut DMSO 15% tidak memiliki daya hambat pertumbuhan bakteri.

Tabel 2. Hasil uji fitokimia dan difusi Kirby-Bauer

Uji fitokimia		Hasil		
Flavonoid		(+) positif		
Alkaloid		(+) positif		
Tanin		(+) positif		
Terpenoid		(+) positif		
Saponin		(+) positif		
Konsentrasi (50%)	Replikasi	Diameter zona hambat (mm)	Rata-rata (mm)	Interpretasi
50	1	17,5	17,66	Sensitif
	2	18,0		
	3	17,5		
55	1	18,0	18,16	Sensitif
	2	18,5		
	3	18,0		
60	1	18,5	18,50	Sensitif
	2	19,0		
	3	18,0		
65	1	19,0	19,00	Sensitif
	2	19,5		
	3	18,5		
70	1	20,0	19,83	Sensitif
	2	19,5		
	3	20,0		
75	1	21,0	21,16	Sensitif
	2	21,5		
	3	21,0		
80	1	22,0	21,83	Sensitif
	2	21,5		
	3	22,0		
85	1	22,0	22,33	Sensitif
	2	22,5		
	3	22,5		
90	1	24,0	23,83	Sensitif
	2	23,5		
	3	24,0		
Kontrol positif (basitrasin 10 mcg)	1	17,0	17,50	Sensitif
	2	17,5		
	3	18,0		

Kontrol negatif (DMSO 15%)	1	0	0	Tidak ada zona hambat
	2	0		
	3	0		

Penelitian ini membuktikan bahwa kelima senyawa aktif yang terdapat di dalam ekstrak daun kitolod berperan aktif dalam menghambat pertumbuhan *S. pyogenes*. Kelima senyawa itu adalah flavonoid, alkaloid, tannin, terpenoid, dan saponin. Mekanisme kerja yang berbeda-beda dari kelima senyawa tersebut tampaknya memberikan keuntungan karena efeknya terhadap sel bakteri menjadi saling melengkapi.

Flavonoid merupakan senyawa yang termasuk golongan polifenol, terdapat secara luas pada berbagai jenis tumbuhan, (Gutiérrez-Venegas & González-Rosas, 2017), dan terbukti memiliki efek sebagai agen antimikroba (Gutiérrez-Venegas et al., 2019). Tumbuhan yang memiliki kadar flavonoid tinggi dapat mengganggu permukaan bakteri dan menyebabkan kebocoran sel (Musa et al., 2011). Polifenol dalam bentuk katekin telah terbukti memiliki efek menghambat pertumbuhan bakteri seperti *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis* dan *Actinomyces viscosus* (Bai et al., 2016; Bhattacharya et al., 2016; Mankovskaia et al., 2013). Mekanisme kerja flavonoid sebagai antimikroba bermacam-macam tergantung senyawanya. Sebagai contoh, flavon membentuk kompleks dengan komponen dinding sel dan akibatnya menghambat adhesi lebih lanjut dan juga pertumbuhan mikroba (Farhadi et al., 2019); flavonol bekerja dengan cara menghambat β -ketoacyl acyl carrier protein synthase I (yang terkait dengan pemanjangan asam lemak tak jenuh dalam sintesis asam lemak bakteri) (Lee et al., 2011), menghambat aksi sortase A yang berperan kunci dalam adhesi dan invasi inang oleh bakteri Gram-positif (Yang et al., 2015), inhibitor potensial bagi aktivitas enzim xantin oksidase, siklooksigenase, lipooksigenase, dan fosfoinositid-3 kinase (Panche et al., 2016), menekan ekspresi protein bakteri yang mampu pengikat penisilin (Mun et al., 2015), dan eradikasi biofilm (Lopes et al., 2017); flavanon bekerja melalui depolarisasi membran dan penghambatan sintesis DNA, RNA, dan protein sehingga mengurangi kepadatan sel bakteri dan menyebabkan lisis (Dzoyem et al., 2013); dan *chalcones* menunjukkan aktivitas penghambatan infeksi bakteri dengan menurunkan ekspresi gen bakteri, menghambat pertumbuhan bakteri dan mengurangi produksi toksin bakteri (L. Wang et al., 2015), serta dengan efek penghambatan pada pembentukan biofilm (Martín-Rodríguez et al., 2015).

Alkaloid, yang juga meliputi berbagai macam senyawa, ditemukan pada bakteri, jamur, tumbuhan dan hewan, meskipun distribusinya di setiap tingkat makhluk hidup sangat terbatas. Beberapa contoh mekanisme kerja golongan alkaloid misalnya pergularinin dan tilophorinidin yang bertindak dengan menghambat sintesis asam nukleat karena menghambat enzim

dihidrofolat reduktase; isoquinolines bekerja dengan menghambat pembentukan cincin-Z, mengganggu cincin-Z, menghambat pembelahan sel, menghambat aktivitas GTPase, dan menghambat sintesis asam nukleat; skualamin bertindak dengan mengorbankan membran luar dan integritas membran sitoplasma menyebabkan kebocoran isi sitoplasma (Cushnie et al., 2014); dan agelasine D menunjukkan efek antibakterinya dengan menghambat enzim BCG 3185c, yang diduga sebagai suatu enzim dioksigenase, sehingga mengganggu homeostasis bakteri (Arai et al., 2014).

Tanin juga telah banyak diteliti mekanismenya sebagai antibakteri, diantaranya adalah mengikat besi (yang digunakan oleh bakteri), menghambat sintesa dinding sel, mengganggu membrane sel, efek anti-biofilm, menghambat mekanisme pengaturan komunikasi biokimia bakteri, menghambat enzim, menghambat adhesi, menghambat toksin, dan menghambat pergerakan bakteri (Farha et al., 2020). Selain memiliki efek terhadap bakteri, banyak penelitian telah membuktikan bahwa tanin juga memiliki efek antiviral (Kaczmarek, 2020).

Penelitian yang dilakukan oleh (Wang, Chen and Hou, 2019) terhadap tujuh macam senyawa dari golongan terpenoid (α -pinen, limonen, mirsen, geraniol, linalool, nerol, dan terpineol) menunjukkan bahwa semuanya memiliki efek antioksidan dan antibakteri yang kuat. Bahkan jika dibandingkan terhadap bakteri Gram-positif dan Gram-negatif, maka terlihat bakteri Gram-positif lebih rentan terhadap ketujuh senyawa tersebut yang mungkin disebabkan struktur dinding sel bakteri Gram-negatif terutama terdiri dari lipopolisakarida yang bersifat hidrofilik sehingga menghalangi penetrasi komponen hidrofobik terpenoid. Bukti bahwa diameter zona hambat pertumbuhan *Streptococcus pyogenes* yang relatif besar pada penelitian ini memperkuat penjelasan tersebut. Pada penelitian lain, senyawa dari golongan terpenoid seperti timol dan karvakrol yang terdapat pada minyak esensial juga terbukti memiliki efek antibakteri. Aktivitas antimikroba oleh senyawa golongan terpenoid dipercaya karena adanya inti aromatik dengan gugus fungsional polar. Efek dari gugus fungsional tersebut misalnya menyebabkan pecahnya membran sel dan perubahan saluran ion (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , atau Cl^-) dalam membran sel sehingga meningkatkan permeabilitas dan pelepasan konstituen intraseluler vital, dan penghambatan target enzim (Guimarães et al., 2019). Studi sebelumnya mengkonfirmasi mekanisme utama timol adalah disfungsi membran (Chauhan & Kang, 2014). Gugus hidroksil, seperti yang ditemukan pada timol, eugenol, terpineol dan karvakrol, sangat reaktif dan membentuk ikatan hidrogen dengan sisi aktif enzim target, menonaktifkannya dan akibatnya terjadi disfungsi atau pecahnya membran sel (Bhatti et al., 2014).

Senyawa aktif kelima yang ditemukan pada ekstrak daun kitolod adalah saponin. Mekanisme kerja saponin dikaitkan dengan perusakan membran sitoplasma. Membran sitoplasma sangat penting untuk pertumbuhan sel, selain itu juga dapat mendeteksi kebocoran konstituen sel, seperti asam nukleat dan protein, dan dapat mengungkap integritas membran sel (Böttger et al., 2012; Diao et al., 2014). (Dong et al., 2020) membuktikan bahwa *Bacillus cereus* yang terekspos dengan saponin mengalami gangguan integritas membran sel. Gangguan ini dapat mengarah pada hilangnya konstituen intraseluler, kebocoran asam nukleat dan protein, kerusakan membran sel, dan berujung menyebabkan kematian sel. Kerusakan ini dapat dilihat baik melalui pengamatan mikroskopis elektron (Chen et al., 2019; Y. Zhang et al., 2019) maupun pemeriksaan *minimum bactericidal concentration* (MBC) (Sun et al., 2019).

Semua penjelasan di atas sejalan dengan apa yang ditemukan pada penelitian ini dimana semakin besar konsentrasi maka semakin besar pula diameter zona hambat yang terbentuk. Kekurangan dari penelitian ini, yang menjadi saran untuk penelitian selanjutnya, adalah tidak dilakukannya pemeriksaan *minimum inhibitory concentration* (MIC) dan MBC sehingga konsentrasi efektif dari ekstrak daun kitolod ini terhadap pertumbuhan *Streptococcus pyogenes* masih perlu digali lebih lanjut.

SIMPULAN

Penelitian ini berhasil membuktikan bahwa ekstrak etanol daun kitolod konsentrasi 50%-90% mengandung senyawa aktif flavonoid, alkaloid, tanin, terpenoid, dan saponin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* yang diukur dengan metode difusi Kirby-Bauer dan mendapatkan ukuran diameter zona hambat rata-rata mulai dari 17,66 mm sampai dengan 23,83 mm, lebih besar dibandingkan kontrol antibiotik basitrasin yaitu 17,50 mm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada pimpinan dan staf Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Pontianak atas izin dan bantuan teknis yang diberikan selama penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

Arai, M., Yamano, Y., Setiawan, A., & Kobayashi, M. (2014). Identification of the Target Protein of Agelasine D, a Marine Sponge Diterpene Alkaloid, as an Anti-dormant

Mycobacterial Substance. *ChemBioChem*, 15(1), 117–123.
<https://doi.org/10.1002/CBIC.201300470>

Bai, L., Takagi, S., Ando, T., Yoneyama, H., Ito, K., Mizugai, H., & Isogai, E. (2016). Antimicrobial activity of tea catechin against canine oral bacteria and the functional mechanisms. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 78(9), 1439.
<https://doi.org/10.1292/JVMS.16-0198>

Balci, P. (2022). Erythromycin resistance in Group A Beta-hemolytic streptococci. *Anatolian Current Medical Journal*, 4(4), 421–425.
<https://doi.org/10.38053/ACMJ.1166370>

Benkova, M., Soukup, O., & Marek, J. (2020). Antimicrobial susceptibility testing: currently used methods and devices and the near future in clinical practice. *Journal of Applied Microbiology*, 129(4), 806–822. <https://doi.org/10.1111/JAM.14704>

Bhattacharya, D., Bhattacharya, S., Patra, M. M., Chakravorty, S., Sarkar, S., Chakraborty, W., Koley, H., & Gachhui, R. (2016). Antibacterial Activity of Polyphenolic Fraction of Kombucha Against Enteric Bacterial Pathogens. *Current Microbiology*, 73(6), 885–896.
<https://doi.org/10.1007/S00284-016-1136-3>

Bhatti, H. N., Khan, S. S., Khan, A., Rani, M., Ahmad, V. U., & Choudhary, M. I. (2014). Biotransformation of monoterpenoids and their antimicrobial activities. *Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*, 21(12), 1597–1626.
<https://doi.org/10.1016/J.PHYMED.2014.05.011>

Bitwell, C., Indra, S. Sen, Luke, C., & Kakoma, M. K. (2023). A review of modern and conventional extraction techniques and their applications for extracting phytochemicals from plants. *Scientific African*, 19, e01585. <https://doi.org/10.1016/J.SCIAF.2023.E01585>

Böttger, S., Hofmann, K., & Melzig, M. F. (2012). Saponins can perturb biologic membranes and reduce the surface tension of aqueous solutions: a correlation? *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 20(9), 2822–2828. <https://doi.org/10.1016/J.BMC.2012.03.032>

Bridson, E. Y. (2006). *The Oxoid Manual* (9th ed.). OXOID Limited.

Chauhan, A. K., & Kang, S. C. (2014). Thymol disrupts the membrane integrity of *Salmonella* ser. typhimurium in vitro and recovers infected macrophages from oxidative stress in an ex vivo model. *Research in Microbiology*, 165(7), 559–565.
<https://doi.org/10.1016/J.RESMIC.2014.07.001>

Chen, X., Zhao, X., Deng, Y., Bu, X., Ye, H., & Guo, N. (2019). Antimicrobial potential of myristic acid against *Listeria monocytogenes* in milk. *The Journal of Antibiotics*, 72(5), 298–305. <https://doi.org/10.1038/S41429-019-0152-5>

Cushnie, T. P. T., Cushnie, B., & Lamb, A. J. (2014). Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 44(5), 377–386.
<https://doi.org/10.1016/J.IJANTIMICAG.2014.06.001>

- Diao, W. R., Hu, Q. P., Zhang, H., & Xu, J. G. (2014). Chemical composition, antibacterial activity and mechanism of action of essential oil from seeds of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Food Control*, 35(1), 109–116. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2013.06.056>
- Dong, S., Yang, X., Zhao, L., Zhang, F., Hou, Z., & Xue, P. (2020). Antibacterial activity and mechanism of action saponins from *Chenopodium quinoa* Willd. husks against foodborne pathogenic bacteria. *Industrial Crops and Products*, 149, 112350. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2020.112350>
- Dzoyem, J. P., Hamamoto, H., Ngameni, B., Ngadjui, B. T., & Sekimizu, K. (2013). Antimicrobial action mechanism of flavonoids from *Dorstenia* species. *Drug Discoveries & Therapeutics*, 7(2), 66–72. <https://doi.org/10.5582/ddt.2013.v7.2.66>
- Efstratiou, A., & Lamagni, T. (2022). Epidemiology of *Streptococcus pyogenes*. *Streptococcus Pyogenes: Basic Biology to Clinical Manifestations*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK587100/>
- Ekor, M. (2014). The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety. *Frontiers in Pharmacology*, 4. <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2013.00177>
- Farha, A. K., Yang, Q. Q., Kim, G., Li, H. Bin, Zhu, F., Liu, H. Y., Gan, R. Y., & Corke, H. (2020). Tannins as an alternative to antibiotics. *Food Bioscience*, 38, 100751. <https://doi.org/10.1016/J.FBIO.2020.100751>
- Farhadi, F., Khameneh, B., Iranshahi, M., & Iranshahy, M. (2019). Antibacterial activity of flavonoids and their structure–activity relationship: An update review. *Phytotherapy Research*, 33(1), 13–40. <https://doi.org/10.1002/PTR.6208>
- Ferretti, J. J., Stevens, D. L., & Fischetti, V. A. (2016). *Streptococcus pyogenes: Basic Biology to Clinical Manifestations*. University of Oklahoma Health Sciences Center.
- Guimarães, A. C., Meireles, L. M., Lemos, M. F., Guimarães, M. C. C., Endringer, D. C., Fronza, M., & Scherer, R. (2019). Antibacterial Activity of Terpenes and Terpenoids Present in Essential Oils. *Molecules* 2019, Vol. 24, Page 2471, 24(13), 2471. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES24132471>
- Gutiérrez-Venegas, G., Gómez-Mora, J. A., Meraz-Rodríguez, M. A., Flores-Sánchez, M. A., & Ortiz-Miranda, L. F. (2019). Effect of flavonoids on antimicrobial activity of microorganisms present in dental plaque. *Heliyon*, 5(12), e03013. <https://doi.org/10.1016/J.HELIYON.2019.E03013>
- Gutiérrez-Venegas, G., & González-Rosas, Z. (2017). Apigenin reduce lipoteichoic acid-induced inflammatory response in rat cardiomyoblast cells. *Archives of Pharmacal Research*, 40(2), 240–249. <https://doi.org/10.1007/S12272-016-0756-2>
- Hapsari, A., Asti, D., Selviana, Hidayati, R., Kumalla, N., & Suhendi, A. (2016, August 1). The Potency of Kitolod (*Isotoma longiflora* (L)Presl.) Herb Extract as a Cure for Cervical Cancer an in Vitro Study of Hela Cells. *The 2nd International Conference on Science, Technology, and Humanity*.

- Harefa, D., Nias Selatan, S., Kunci, K., & Tanaman Obat Keluarga, P. (2020). Pemanfaatan Hasil Tanaman Sebagai Tanaman Obat Keluarga (TOGA). *Madani : Indonesian Journal of Civil Society*, 2(2), 28–36. <https://doi.org/10.35970/MADANI.V2I2.233>
- Kaczmarek, B. (2020). Tannic Acid with Antiviral and Antibacterial Activity as A Promising Component of Biomaterials—A Minireview. *Materials 2020*, Vol. 13, Page 3224, 13(14), 3224. <https://doi.org/10.3390/MA13143224>
- Lahuerta Zamora, L., & Pérez-Gracia, M. T. (2012). Using digital photography to implement the McFarland method. *Journal of The Royal Society Interface*, 9(73), 1892–1897. <https://doi.org/10.1098/RSIF.2011.0809>
- Lee, J. Y., Lee, E., Jeong, K. W., & Kim, Y. (2011). Antimicrobial Flavonoid, 3,6-Dihydroxyflavone, Have Dual Inhibitory Activity against KAS III and KAS I. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 32(9), 3219–3222. <https://doi.org/10.5012/BKCS.2011.32.9.3219>
- Lopes, L. A. A., dos Santos Rodrigues, J. B., Magnani, M., de Souza, E. L., & de Siqueira-Júnior, J. P. (2017). Inhibitory effects of flavonoids on biofilm formation by *Staphylococcus aureus* that overexpresses efflux protein genes. *Microbial Pathogenesis*, 107, 193–197. <https://doi.org/10.1016/J.MICPATH.2017.03.033>
- Mankovskaia, A., Lévesque, C. M., & Prakki, A. (2013). Catechin-incorporated dental copolymers inhibit growth of *Streptococcus mutans*. *Journal of Applied Oral Science*, 21(2), 203. <https://doi.org/10.1590/1678-7757201302430>
- Martín-Rodríguez, A. J., Ticona, J. C., Jiménez, I. A., Flores, N., Fernández, J. J., & Bazzocchi, I. L. (2015). Flavonoids from *Piper delineatum* modulate quorum-sensing-regulated phenotypes in *Vibrio harveyi*. *Phytochemistry*, 117, 98–106. <https://doi.org/10.1016/J.PHYTOCHEM.2015.06.006>
- Mun, S. H., Lee, Y. S., Han, S. H., Lee, S. W., Cha, S. W., Kim, S. B., Seo, Y. S., Kong, R., Kang, D. H., Shin, D. W., Kang, O. H., & Kwon, D. Y. (2015). In vitro Potential Effect of Morin in the Combination with β -Lactam Antibiotics Against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Foodborne Pathogens and Disease*, 12(6), 545–550. <https://doi.org/10.1089/FPD.2014.1923>
- Musa, N., Musa, N., Ibrahim, W., Shariat, M. Z. A., Zamani, A., Abdullah, M., Wee, T., Marip, M., Razak, L., & Soh, A. (2011). Methanolic Activities of Selected Weeds on Bacteria Isolated from *Macrobrachium rosenbergii* Larvae. *The Thai Journal of Veterinary Medicine*, 41(4).
- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, 5. <https://doi.org/10.1017/JNS.2016.41>
- Permana, A., Aulia, S. D., Azizah, N. N., Ruhdiana, T., Suci, S. E., Izzah, I. N. L., Agustin, A. N., & Wahyudi, S. A. (2022). Artikel Review: Fitokimia dan Farmakologi Tumbuhan Kitolod (*Isotoma longiflora* Presl). *Jurnal Buana Farma*, 2(3), 22–35. <https://doi.org/10.36805/JBF.V2I3.547>

Rajkumar, G., Jayasinghe, M. R., & Sanmugarajah, V. (2021). Comparative Analytical Study of Phytochemicals in Selected Antidiabetic Medicinal Plant Seeds in Sri Lanka. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 8(3), 145–155. <https://doi.org/https://doi.org/10.7454/psr.v8i3.1210>

Santoso, H. B. (2022). *Seri Mukjizat Daun: Daun Kitolod*. PT. Pohon Cahaya Semesta.

Setiyowati, H., & Laksmi Ramayani, S. (2022). POTENSI GEL HANDSANITIZER EKSTRAK DAUN KITOLOD (*Isotoma longiflora* L.) SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Jamu Kusuma*, 2(1), 8–13. <https://doi.org/10.37341/JURNALJAMUKUSUMA.V2I1.26>

Siahaan, S., Ni Ketut Aryastami Pusat Penelitian dan Pengembangan Humaniora dan Manajemen Kesehatan, D., Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, B., Kesehatan, K. R., & Percetakan, J. (2018). Studi Kebijakan Pengembangan Tanaman Obat di Indonesia. *Media Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan*, 28(3), 157–166. <https://doi.org/10.22435/MPK.V28I3.119>

Spellerberg, B., & Brandt, C. (2022). Laboratory Diagnosis of *Streptococcus pyogenes* (group A streptococci). *Streptococcus Pyogenes: Basic Biology to Clinical Manifestations*. <http://europepmc.org/books/NBK587110>

Sun, X., Yang, X., Xue, P., Zhang, Z., & Ren, G. (2019). Improved antibacterial effects of alkali-transformed saponin from quinoa husks against halitosis-related bacteria. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/S12906-019-2455-2>

Tyas Angganawati, R., & Choirin Nisa, T. (2019). *UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KITOLOD (Isotoma longiflora L.) C, PREST TERHADAP BAKTERI Staphylococcus aureus DENGAN KONTROL ANTIBIOTIK OFLOXACIN* (Vol. 3, Issue 1).

Wang, C. Y., Chen, Y. W., & Hou, C. Y. (2019). Antioxidant and antibacterial activity of seven predominant terpenoids. <https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1582541>, 22(1), 230–238. <https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1582541>

Wang, L., Yang, R., Yuan, B., Liu, Y., & Liu, C. (2015). The antiviral and antimicrobial activities of licorice, a widely-used Chinese herb. *Acta Pharmaceutica Sinica. B*, 5(4), 310. <https://doi.org/10.1016/J.APSB.2015.05.005>

World Health Organization. (2013). *WHO Traditional Medicine Strategy 2014-2023*.

Yang, W. Y., Won, T. H., Ahn, C. H., Lee, S. H., Yang, H. C., Shin, J., & Oh, K. B. (2015). *Streptococcus mutans* sortase A inhibitory metabolites from the flowers of *Sophora japonica*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 25(7), 1394–1397. <https://doi.org/10.1016/J.BMCL.2015.02.051>

Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese Medicine (United Kingdom)*, 13(1), 1–26. <https://doi.org/10.1186/S13020-018-0177-X/FIGURES/13>

Zhang, Y., Yao, Y., Qiu, X., Wang, G., Hu, Z., Chen, S., Wu, Z., Yuan, N., Gao, H., Wang, J., Song, H., Girardin, S. E., & Qian, Y. (2019). *Listeria* hijacks host mitophagy through a novel mitophagy receptor to evade killing. *Nature Immunology*, 20(4), 433–446. <https://doi.org/10.1038/S41590-019-0324-2>