

Analysis of the GC-MS Volatile Compound Profile and Antibacterial Activity of 95% Ethanolic Extract of Siam Weed (*Chromolaena odorata* L.) Leaves from Kupang Regency Against *Staphylococcus aureus*

Mathias Endrico Saingo*, Tadeus A. L. Regaletha, Cahyani Purnasari, Matias Nataniel Kolobani

¹Mahasiswa Program studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Kedokteran Hewan, Universitas Nusa Cendana, Kupang, Indonesia;

²Dosen Program studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Kedokteran Hewan, Universitas Nusa Cendana, Kupang, Indonesia;

Article History

Received : July 17th, 2026

Revised : July 27th, 2026

Accepted : August 01th, 2026

*Corresponding Author:

Mathias Endrico Saingo,
Mahasiswa Program studi
Farmasi, Fakultas Kedokteran
dan Kedokteran Hewan,
Universitas Nusa Cendana,
Kupang, Indonesia;
Email:
endricosaingo@gmail.com

Abstract: The need for new antibacterial medicines derived from natural sources is highlighted by the dangerous bacterium *Staphylococcus aureus*, which causes a variety of diseases and is increasingly linked to antibiotic resistance. The leaves of *Chromolaena odorata* (L.) contain a variety of bioactive compounds that may have antibacterial qualities. This study aimed to characterize the metabolite profile of the 95% ethanol extract of *C. odorata* leaves using gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS) and evaluate its antibacterial activity against *S. aureus*. This true experimental post-test-only control group study was conducted from January to May 2026 using leaves collected from Mata Air Village, Kupang Tengah District, Kupang Regency, East Nusa Tenggara, Indonesia. Antibacterial assays were performed in four replicates using the disk diffusion method at extract concentrations of 5–25%. GC-MS identified 118 compounds, with ethyl palmitate, α -linolenic acid, phytol, stigmasterol, squalene, caryophyllene oxide, and α -muurolol as dominant metabolites that may contribute to the observed antibacterial activity based on previous studies. *S. aureus* was inhibited by the extract in a concentration-dependent manner; inhibition zones increased from 8.03 ± 0.04 mm (5%) to 11.41 ± 0.13 mm (25%), and there were significant differences between treatments (one-way ANOVA, $p < 0.001$). This study shows how GC-MS metabolite profiling and antibacterial assessment of the 95% ethanol extract of *C. odorata* can be combined in a unique way. These results suggest that the extract has antibacterial action against *S. aureus* and could be a source of natural antibacterial chemicals.

Keywords: Antibacterial activity; *Chromolaena odorata* (L.); GC-MS; *Staphylococcus aureus*; Volatile compounds.

Pendahuluan

Staphylococcus aureus merupakan patogen oportunistik utama penyebab infeksi nosokomial, bakteremia, pneumonia, serta infeksi kulit dan jaringan lunak. Penyakit-penyakit ini terus menjadi masalah kesehatan masyarakat yang serius di banyak negara, termasuk Indonesia (Hanina *et al.*, 2022; Salim *et al.*, 2023). Meningkatnya prevalensi infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* disertai dengan berkembangnya resistensi terhadap berbagai antibiotik telah menjadi tantangan

serius dalam praktik klinis. Laporan terbaru menunjukkan bahwa resistensi *Staphylococcus aureus* terhadap antibiotik yang umum digunakan, seperti eritromisin, tetrasiklin, dan klindamisin, terus meningkat sehingga membatasi pilihan terapi yang efektif (Tālāpan *et al.*, 2023; Azhari & Sengaji, 2023). Situasi ini mendorong upaya pencarian sumber antibakteri baru yang lebih aman, lebih efektif, dan berkelanjutan, sejalan dengan temuan internasional yang mengidentifikasi resistansi antimikroba sebagai ancaman signifikan bagi kesehatan masyarakat.

Mengingat tanaman obat mengandung beragam metabolit sekunder dengan aktivitas biologis yang tinggi, pemanfaatannya sebagai sumber senyawa antibakteri alami menjadi strategi yang banyak diminati. *Chromolaena odorata* (L.) R.M. King & H. Rob. (yang secara lokal dikenal sebagai *kirinyuh*) merupakan salah satu spesies menjanjikan yang telah lama digunakan untuk mengobati peradangan, luka, dan infeksi kulit (Amir & Abna, 2022). Berdasarkan beberapa penelitian, terpenoid, steroid, flavonoid, senyawa fenolik, dan asam lemak yang terkandung dalam daun *Kirinyuh* berperan sebagai agen antibakteri dengan cara merusak membran sel, meningkatkan permeabilitas membran, serta menghambat metabolisme bakteri (Marpaung *et al.*, 2025; Sujana *et al.*, 2024). Hubungan antara komposisi metabolit dan aktivitas biologis ekstrak dapat dijelaskan berkat kemajuan dalam analisis metabolomik menggunakan kromatografi gas-spektrometri massa (GC-MS), yang memungkinkan identifikasi menyeluruh terhadap senyawa kimia volatil.

Baik lingkungan tumbuh maupun faktor genetik memengaruhi pembentukan metabolit sekunder pada tanaman. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa cekaman abiotik seperti suhu tinggi, intensitas cahaya yang tinggi, serta keterbatasan ketersediaan air dapat memodulasi jalur biosintesis metabolit sekunder, termasuk senyawa volatil golongan terpenoid dan asam lemak (de Eduardo *et al.*, 2018; Ngezahayo *et al.*, 2025). Kabupaten Kupang merupakan wilayah lahan kering dengan karakteristik agroklimat berupa curah hujan rendah, suhu relatif tinggi, dan intensitas radiasi matahari yang tinggi. Oleh karena itu, kondisi lingkungan tersebut diduga memengaruhi profil metabolit sekunder *C. odorata*, meskipun hubungan tersebut masih memerlukan pembuktian secara eksperimental.

Aktivitas antibakteri ekstrak daun Kirinyuh dan identifikasi metabolitnya telah didokumentasikan dalam sejumlah penelitian terdahulu. Dengan menggunakan metode difusi cakram, Marpaung *et al.*, (2025) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun Kirinyuh menghambat pertumbuhan *S. aureus*. Sementara itu, Makin *et al.*, (2023) mengidentifikasi beberapa senyawa volatil daun kirinyuh menggunakan GC-MS dari sampel yang berasal dari Kabupaten Timor Tengah Utara. Namun demikian, penelitian-penelitian tersebut masih memiliki keterbatasan karena umumnya hanya

berfokus pada pengujian aktivitas antibakteri atau identifikasi senyawa secara terpisah, belum menghubungkan profil metabolit volatil dengan aktivitas antibakterinya secara komprehensif. Selain itu, informasi mengenai profil metabolit *C. odorata* yang tumbuh pada ekosistem lahan kering Kabupaten Kupang juga masih sangat terbatas, padahal variasi lingkungan berpotensi menghasilkan komposisi metabolit yang berbeda.

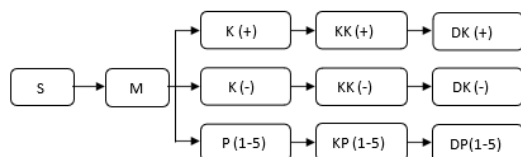
Berdasarkan uraian tersebut, research gap penelitian ini terletak pada belum tersedianya kajian yang mengintegrasikan karakterisasi metabolit volatil menggunakan GC-MS dengan evaluasi aktivitas antibakteri ekstrak etanol 95% daun *Chromolaena odorata* asal Kabupaten Kupang terhadap *Staphylococcus aureus*. Kebaruan (novelty) penelitian ini adalah penggabungan analisis profil metabolit volatil hasil GC-MS dengan pengujian aktivitas antibakteri menggunakan ekstrak etanol 95% daun *C. odorata* yang berasal dari wilayah lahan kering Kabupaten Kupang, sehingga memungkinkan penjelasan keterkaitan antara komposisi metabolit dominan dan aktivitas antibakteri yang dihasilkan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan mengidentifikasi profil senyawa volatil ekstrak etanol 95% daun *Chromolaena odorata* menggunakan GC-MS serta mengevaluasi aktivitas antibakterinya terhadap *Staphylococcus aureus*, sehingga dapat memberikan informasi mengenai hubungan antara komposisi metabolit dan aktivitas antibakteri sebagai dasar pengembangan sumber antibakteri alami.

Bahan dan Metode

Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian menggunakan *true experimental design* dengan rancangan *post-test only control group design*. Pada rancangan ini, seluruh unit percobaan dialokasikan secara acak (*random assignment*) ke dalam kelompok perlakuan dan kelompok kontrol untuk meminimalkan bias seleksi serta mengendalikan pengaruh variabel luar terhadap hasil penelitian. Kelompok perlakuan diberikan intervensi berupa ekstrak etanol 95% daun *Chromolaena odorata* pada konsentrasi yang telah ditentukan, sedangkan kelompok kontrol terdiri atas kontrol positif (klindamisin) dan kontrol negatif (air suling steril). Setelah seluruh perlakuan selesai diberikan, pengukuran hanya dilakukan pada

tahap akhir (*post-test*) dengan mengukur diameter zona hambat terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Perbedaan hasil pengukuran antar kelompok kemudian dianalisis untuk mengevaluasi efektivitas antibakteri ekstrak etanol 95% daun *Chromolaena odorata* (Albina, 2025; Balouri et al., 2016).



Gambar 1. Rancangan penelitian

Lokasi dan waktu penelitian

Penelitian bertempat di Laboratorium Bioscience Universitas Nusa Cendana dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran dan Kedokteran Hewan Universitas Nusa Cendana. Waktu penelitian yaitu dari Januari – Mei 2026.

Sampel penelitian

Galur bakteri penelitian yaitu *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan Masyarakat Surabaya. Bahan uji berupa daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) R.M. King & H. Rob.) dikumpulkan dari Desa Mata Air, Kecamatan Kupang Tengah, Kabupaten Kupang, Nusa Tenggara Timur, Indonesia. Kontrol positif menggunakan cakram antibiotik klindamisin terstandarisasi, sedangkan kontrol negatif menggunakan air suling steril.

Penelitian ini terdiri atas tujuh kelompok perlakuan, yaitu lima kelompok ekstrak etanol 95% daun *Chromolaena odorata* dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25%, satu kelompok kontrol positif (klindamisin), serta satu kelompok kontrol negatif (air suling steril). Rentang konsentrasi ekstrak 5–25% dipilih berdasarkan penelitian terdahulu yang menunjukkan bahwa konsentrasi tersebut telah mampu menghasilkan aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* serta memberikan respons penghambatan yang meningkat seiring dengan kenaikan konsentrasi, sehingga sesuai untuk mengevaluasi hubungan dosis–respons (Marpaung et al., 2025).

Jumlah ulangan pada setiap kelompok ditentukan menggunakan rumus Federer, yaitu $(t - 1)(r - 1) \geq 15$, dengan t merupakan jumlah kelompok perlakuan dan r merupakan jumlah

ulangan. Berdasarkan perhitungan tersebut, diperoleh jumlah ulangan minimum sebanyak empat kali pada setiap kelompok. Dengan demikian, penelitian ini menggunakan tujuh kelompok perlakuan yang masing-masing terdiri atas empat ulangan, sehingga memenuhi persyaratan rancangan penelitian eksperimental dan memberikan jumlah sampel yang memadai untuk analisis statistik (Fauziyah, 2019).

Alat dan bahan

Rak dan tabung reaksi, pipet volume, mikro pipet, cawan petri, pembakar bunsen, jarum inokulum, toples kaca, inkubator merk *Memert*, autoklaf merk *All American*, *laminar air flow* merk *Biosan*, *hot plate* merk *B-One*, *rotary evaporator* merk *B-One*, densitometer merk *Gran-bio*, timbangan analitik merk *Want*, *dispo* 3 cc, blender, tabung *erlenmeyer*, dan jangka sorong merk *Tricle Brand*. Daun kirinyuh, bakteri *S. aureus* ATCC 25923, etanol 70% merk *onemed*, etanol 95% merk *onemed*, kalium dikromat (K_2CrO_3), asam sulfat pekat (H_2SO_4), *Mueller Hinton agar* (MHA) merk *Himedia*, *Natrium Agar* (NA) merk *Himedia*, *aluminium foil*, air suling steril, *cotton swab* steril, NaCl 0,9 % dan *paper disk* antibiotik *clindamicyn* terstandarisasi merk *Thermofish*.

Prosedur Penelitian

Sterilisasi Alat

Mensterilkan seluruh alat gelas menggunakan autoklaf pada suhu $121^\circ C$ selama 15–20 menit. Jarum ose dan pinset disterilkan dengan cara dipijarkan menggunakan nyala bunsen sebelum dan sesudah digunakan.

Pengambilan dan Determinasi Bahan

Daun kirinyuh yang sehat, segar, dan bebas kerusakan dikumpulkan dari Desa Mata Air, Kecamatan Kupang Tengah, Kabupaten Kupang, Nusa Tenggara Timur. Determinasi tanaman dilakukan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu, Kota Batu, Jawa Timur.

Pembuatan Ekstrak Etanol

Mencuci daun kirinyuh, dan dikeringanginkan, kemudian dihaluskan menjadi serbuk. Sebanyak 400 g serbuk dimaserasi menggunakan 2 L etanol 95% (1:5 b/v) selama 72 jam pada suhu ruang dengan pengadukan setiap 24 jam. Setelah menyaring filtrat maserasi menggunakan kertas saring, filtrat tersebut diuapkan pada suhu $40^\circ C$ menggunakan evaporator putar untuk memperoleh ekstrak

pekat. Rendemen ekstrak akhir adalah 6,96%, yang ditentukan menggunakan persamaan 1.

$$\text{Rendemen(\%)} = \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat serbuk simplisia}} \times 100\% \quad (1)$$

Menyimpan ekstrak dalam wadah tertutup pada suhu 4°C hingga digunakan untuk analisis GC-MS dan pengujian aktivitas antibakteri.

Uji Bebas Pelarut

Ekstrak diuji menggunakan larutan kalium dikromat ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) dalam suasana asam. Perubahan warna menjadi biru menunjukkan masih adanya residu etanol, sedangkan tidak adanya perubahan warna menunjukkan ekstrak bebas etanol.

Analisis GC-MS

Sistem GC-MS TRACE 1610-ISQ 7610 (Thermo Fisher Scientific) dengan kolom TG-5MS (30 m $\times$ 0,25 mm $\times$ 0,25 μm) digunakan untuk menganalisis ekstrak etanol 95% daun **Chromolaena odorata** yang telah dilarutkan dalam n-heksana dan disaring menggunakan filter membran 0,22 μm . Gas helium digunakan sebagai gas pembawa dengan laju alir 0,600 mL/menit. Sampel sebanyak 1 μL (rasio **split** 1:10) diinjeksikan pada suhu 250°C. Program suhu oven dimulai pada 50°C, kemudian dinaikkan hingga 300°C dengan laju 10°C/menit. Spektrometer massa dioperasikan menggunakan *electron ionization* (EI) 70 eV dengan rentang massa *m/z* 40–600. Durasi retensi dan pencocokan spektrum massa dengan pustaka NIST menggunakan *similarity index* $\geq 80\%$ digunakan untuk mengidentifikasi senyawa.

Pembuatan Variasi Konsentrasi Ekstrak

Ekstrak diencerkan secara bertingkat menggunakan pelarut steril hingga diperoleh konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25% menggunakan rumus pengenceran ($M_1V_1 = M_2V_2$).

Persiapan Kultur Bakteri

Mengikuti rekomendasi produsen, media Mueller-Hinton Agar (MHA) disiapkan, disterilkan selama 15 menit pada suhu 121°C, lalu dipindahkan ke dalam cawan Petri steril. Setelah melakukan subkultur biakan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media agar, dibuat suspensi dalam larutan salin fisiologis 0,9% dengan tingkat kekeruhan yang setara dengan standar McFarland 0,5 ($1,5 \times 10^2$

CFU/mL).

Uji Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri diuji menggunakan metode difusi cakram (Kirby–Bauer). Suspensi bakteri diinokulasikan secara merata pada permukaan media MHA menggunakan kapas steril. Cakram kertas yang telah direndam dalam ekstrak selama 30 menit diletakkan pada permukaan media sesuai kelompok perlakuan. Cakram antibiotik klindamisin digunakan sebagai kontrol positif, sedangkan air suling steril sebagai kontrol negatif. Seluruh cawan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Pengamatan

Diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram digunakan untuk menghitung aktivitas antibakteri. Jangka sorong digunakan untuk mengukur diameter zona hambat dalam satuan milimeter, dan data penelitian diperoleh dari rata-rata empat ulangan.

Analisis data

Profil senyawa volatil dari ekstrak etanol 95% daun yang diperoleh melalui analisis GC-MS serta diameter zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus* (mm) merupakan data primer, sedangkan jurnal ilmiah, buku, dan sumber pustaka yang relevan menjadi sumber data sekunder. Data diameter zona hambat disajikan sebagai nilai rata-rata $\pm$ standar deviasi (rata-rata $\pm$ SD; $n = 4$). Analisis statistik dilakukan menggunakan perangkat lunak SPSS. Uji Shapiro-Wilk digunakan untuk menentukan normalitas data, sedangkan uji Levene digunakan untuk menentukan homogenitas. Uji One-Way ANOVA dan uji *post-hoc* Tukey HSD digunakan untuk analisis jika data bersifat homogen dan terdistribusi normal ($p > 0,05$). Uji Kruskal-Wallis dan uji Dunn digunakan apabila asumsi-asumsi tersebut tidak terpenuhi. Tingkat signifikansi 95% ($\alpha = 0,05$) digunakan untuk seluruh pengujian. Data GC-MS dianalisis secara deskriptif semi-kuantitatif berdasarkan waktu retensi, persentase luas puncak relatif (relative peak area), dan identifikasi senyawa melalui pencocokan spektrum massa dengan pustaka NIST.

Hasil dan Pembahasan

Determinasi Sampel Daun Kirinyuh

Determinasi tanaman Kirinyuh

berlangsung di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu, Jawa Timur. Berdasarkan hasil determinasi yang tercantum pada Surat Keterangan Determinasi No.000.9.3/191535/102.20/2026, sampel tanaman yang diperiksa teridentifikasi sebagai daun kirinyuh (*Chromolaena Odorata* L) yang termasuk dalam suku Asteraceae. Bagian yang digunakan adalah daun. Determinasi tanaman bertujuan untuk mengetahui kebenaran identitas tanaman yang digunakan dan menghindari adanya kesalahan dalam penelitian (Fransisca *et al.*, 2024).

Eksraksi Daun Kirinyuh

Daun kirinyuh diperoleh dari Desa Mata Air, Kabupaten Kupang, Nusa Tenggara Timur (NTT). Sebanyak tiga kilogram daun *kirinyuh* segar dibersihkan dan dikeringanginkan selama sepuluh hari pada suhu ruang. Setelah kering, daun tersebut digiling menggunakan blender hingga menjadi 400 gram serbuk simplisia. Selanjutnya, serbuk ini diekstraksi melalui metode maserasi selama tiga hari menggunakan pelarut etanol 95% dengan rasio bahan terhadap pelarut sebesar 1:5. Campuran tersebut diaduk satu kali sehari selama proses maserasi berlangsung. Setelah proses maserasi selesai, campuran disaring untuk menghasilkan filtrat etanol daun kirinyuh. Filtrat tersebut kemudian dipekatkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* untuk menghasilkan ekstrak kental daun kirinyuh*.

Uji Bebas Etanol Ekstrak Daun Kirinyuh

Untuk memastikan tidak adanya sisa etanol dalam ekstrak daun Kirinyuh setelah proses penguapan pelarut, dilakukan uji bebas etanol. Uji ini didasarkan pada reaksi oksidasi etanol menggunakan kalium dikromat ($K_2Cr_2O_4$) dalam suasana asam yang dihasilkan melalui penambahan asam sulfat (H_2SO_4) pekat. Perubahan warna larutan menjadi biru menandakan adanya etanol; sebaliknya, ekstrak dinyatakan bebas etanol jika tidak terjadi perubahan warna menjadi biru dan hanya terlihat warna campuran antara ekstrak dan reagen. Tabel 1 menyajikan hasil uji bebas etanol untuk ekstrak daun Kirinyuh.

Tabel 1. Hasil Uji Bebas Etanol Ekstrak Daun Kirinyuh

Identifikasi	Hasil Reaksi	Interpretasi
Uji Bebas Etanol		Negatif (-)

Identifikasi Senyawa Aktif dengan GC-MS

Kromatografi Gas-Spektrometri Massa (GC-MS) digunakan untuk mengidentifikasi komponen kimia dari ekstrak etanol 95% daun Kirinyuh. Tujuan identifikasi ini adalah untuk menunjukkan bahwa ekstrak tersebut mengandung senyawa kimia volatil yang, dalam uji difusi, memiliki sifat antimikroba dan antibakteri

Tabel 2. Senyawa Aktif Hasil Analisis GC-MS Ekstrak Etanol 95% Daun kirinyuh

Waktu Retensi (menit)	Senyawa	Luas Area
19,942	Caryophyllene oxide	1,23E+05
21,126	α -Muurolool (<i>Muurolole, 14-oxy-α-</i>)	1,08E+05
23,473	Phytol	8,76E+04
26,020	<i>n</i> -Hexadecanoic acid	1,39E+05
27,061	Hexadecanoic acid, ethyl ester	3,24E+06
31,404	Phytol	8,67E+05
33,037	9(E),11(E)-Conjugated linoleic acid, ethyl ester	1,56E+06
33,244	9,12,15-Octadecatrienoic acid (Z,Z,Z)	2,27E+06
46,767	Squalene	4,65E+05
53,389	Stigmasterol	6,22E+05

Keterangan: Analisis GC-MS mendeteksi 118 senyawa pada ekstrak etanol 95% daun kirinyuh. Tabel ini hanya menampilkan senyawa dominan yang memiliki luas area relatif tinggi dan relevan dengan aktivitas biologis.

Jenis-jenis senyawa yang terkandung dalam ekstrak tersebut diketahui dengan membandingkan spektrum massa (MS) dari setiap puncak yang terdeteksi dengan basis data Wiley, sebagaimana tercantum dalam Tabel 2

(Hartono *et al.*, 2017). Kromatogram dari analisis GC dan spektrum massa dari analisis MS merupakan dua kumpulan data utama yang dihasilkan oleh analisis GC-MS. Selama analisis yang berlangsung selama 59,89 menit,

ditemukan 118 puncak pada kromatogram GC sampel tersebut. Tabel 2 menampilkan kromatogram GC untuk sampel tersebut. Hasil Analisis *Gas Chromatography–Mass Spectrometry* ekstrak etanol 95% daun kirinyuh

asal Kabupaten Kupang berhasil mengidentifikasi 118 senyawa yang diklasifikasikan ke dalam enam golongan utama yang ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Klasifikasi Senyawa Hasil GC-MS Berdasarkan Golongan Metabolit Sekunder

Nama Senyawa	Jumlah Senyawa	Nomor Golongan Senyawa pada tabel 2
Hidrokarbon (alkana, sikloalkana, aromatik, dan tak jenuh)	41	1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 34, 36, 39, 40, 42, 46, 60, 63, 67, 80, 83, 35, 58, 94, 97
Terpenoid (monoterpen, <i>sesquiterpenee</i> , diterpen, dan triterpen)	20	37, 43, 48, 49, 50, 51, 52, 56, 59, 61, 71, 72, 75, 76, 74, 78, 111, 100.
Asam lemak dan ester	16	38, 55, 79, 82, 84, 85, 86, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 95, 98, 101
Steroid dan turunannya	4	96, 99, 108, 110
Alkohol dan eter	15	2, 18, 19, 33, 45, 47, 68, 87, 44, 102, 114, 116, 104, 105, 106, 107, 109, 113, 115, 117, 118
Aldehid, keton, dan <i>epoxide</i>	12	51, 52, 53, 57, 64, 72, 77, 103, 62, 66, 69, 70, 81, 99, 94, 97

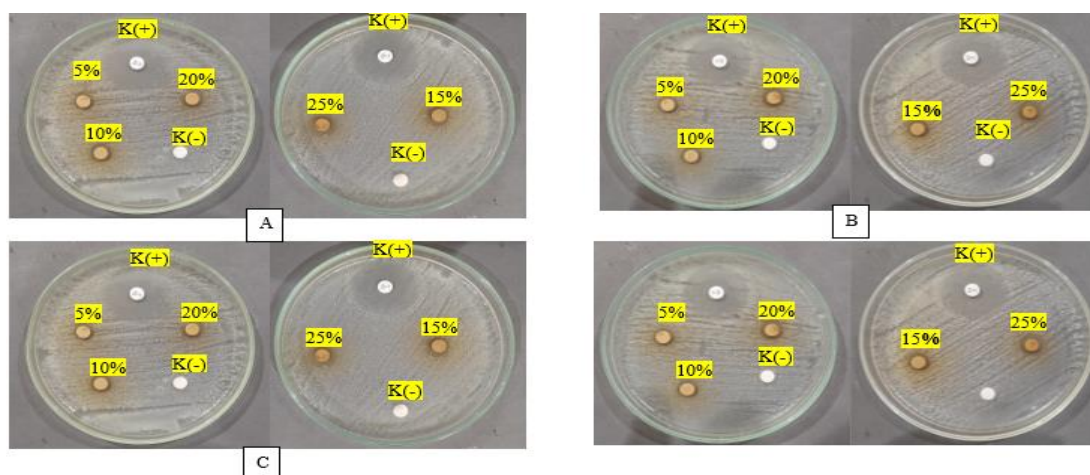
Tabel 4. Senyawa Aktif Hasil Analisis GC-MS Ekstrak Etanol 95% Daun kirinyuh dengan peak tertinggi

Nama Senyawa	Golongan Senyawa	Nomor Senyawa
Hexadecanoic acid (etil palmitat)	Asam lemak dan ester	86
9,12,15-Octadecatrienoic acid (asam α -linolenat)	Asam lemak dan ester	89
9(E),11(E)-Conjugated linoleic acid, ethyl ester	Asam lemak dan ester	88
<i>Phytol</i>	Terpenoid (diterpen)	74, 75, 78, 87
Stigmasterol	Steroid dan turunannya	108
Squalene (skualen)	Terpenoid (triterpen)	100
<i>Caryophyllene oxide</i>	Terpenoid (<i>sesquiterpenee oxide</i>)	51
Murolene, 14-oxy-alpha- (α -muurolol)	Terpenoid (<i>sesquiterpenee oxide</i>)	61

Uji Aktivitas Antibakteri

Ekstrak daun Kirinyuh diuji aktivitas antibakterinya pada konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25%. Hasilnya dibandingkan dengan pertumbuhan *Staphylococcus aureus* menggunakan kontrol positif (antibiotik klindamisin standar) dan kontrol negatif

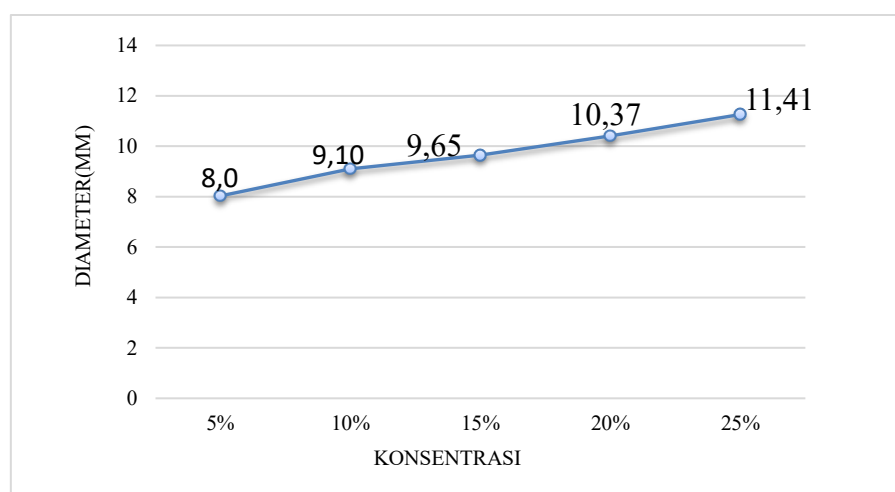
(akuades steril). Terbentuknya zona hambat area bening di sekeliling cakram kertas yang mengandung ekstrak etanol 95% daun Kirinyuh menunjukkan adanya aktivitas antibakteri. Gambar 3 dan Tabel 3 menampilkan hasil uji aktivitas antibakteri.



Gambar 3. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 95% Daun Kirinyuh (*C. odorata* L.) Terhadap *S. aureus*. Keterangan: (A) Replikasi 1; (B) Replikasi 2; (C) Replikasi 3; (D) Replikasi 4

Tabel 5. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Ekstrak Daun Kirinyuh Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus Aureus*

Konsentrasi Ekstrak	Diameter Zona Hambat (mm)				Mean $\pm$ SD	Klasifikasi
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 4		
5%	7,98	8,04	8,05	8,08	8,03 $\pm$ 0,41	Sedang
10%	9,13	8,95	9,20	9,09	9,10 $\pm$ 0,11	Sedang
15%	9,35	9,69	9,75	9,81	9,65 $\pm$ 0,21	Sedang
20%	10,10	10,14	10,67	10,55	10,37 $\pm$ 0,29	Kuat
25%	11,35	11,14	11,41	11,75	11,41 $\pm$ 0,13	Kuat
Positif	24,82	25,26	25,74	26,13	25,48 $\pm$ 0,56	Sangat Kuat
Kontrol (-)	0	0	0	0	0 $\pm$ 0,00	Tidak Ada



Gambar 4. Grafik Hubungan Konsentrasi Dengan Diameter Zona Hambat

Analisis Data

Uji Normalitas Diameter Zona Hambat

Uji normalitas dilakukan dengan Uji *Shapiro Wilk*, dikarenakan sampel dalam penelitian ini kurang dari 50, kondisi ini sesuai dengan penelitian Razali (2011) yang menyatakan bahwa Uji *Shapiro-Wilk* dianggap paling efektif terutama untuk sampel kecil hingga sedang, dan juga menunjukkan konsistensi yang baik pada sampel yang lebih besar (Fadia *et al.*, 2020).

Tabel 6. Hasil Uji Normalitas Diameter Zona

Kelompok Perlakuan	Nilai <i>P</i>	Distribusi Data
Konsentrasi 5%	0,650	Normal
Konsentrasi 10%	0,647	Normal
Konsentrasi 15%	0,184	Normal
Konsentrasi 20%	0,235	Normal
Konsentrasi 25%	0,773	Normal
Kontrol (-)	Diabaikan	-
Kontrol (+)	0,939	Normal

Keterangan: Uji normalitas dengan uji *Shapiro-Wilk*
 $p > 0,05$: data terdistribusi normal
 $p < 0,05$: data tidak terdistribusi normal

Uji Homogenitas Diameter Zona Hambat

Untuk memastikan apakah varians antar-kelompok perlakuan menunjukkan tingkat dispersi yang sebanding, dilakukan uji homogenitas varians. Kesamaan varians antar-kelompok merupakan syarat krusial untuk memperoleh temuan yang dapat diandalkan dari analisis statistik parametrik (Razali & Wah, 2011).

Tabel 7. Hasil Uji Homogenitas Diameter Zona

Diameter Zona Hambat	Nilai <i>p</i>	Keterangan
	0,129	Homogen

Keterangan: Uji homogenitas dengan statistik *Levene*
 $p > 0,05$: data homogen
 $p < 0,05$: data tidak homogen

Uji *One Way ANOVA* Diameter Zona Hambat

Rata-rata dari lebih dari dua kelompok perlakuan dapat dibandingkan secara bersamaan menggunakan uji *one-way ANOVA*, yang juga disebut sebagai analisis varians satu arah. Hasil penelitian lebih jelas dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil Uji *One Way ANOVA* Diameter Zona Hambat Ekstrak Daun Kirinyuh terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

	Nilai P
Diameter Zona Hambat	< 0,001
	Terdapat perbedaan rerata yang signifikan antara kelompok konsentrasi

Keterangan: Uji perbedaan rerata signifikan dengan Uji *One Way ANOVA*

$p < 0,05$: terdapat perbedaan rerata yang signifikan

$p > 0,05$: tidak terdapat perbedaan rerata yang signifikan

Uji *Post Hoc* Diameter Zona Hambat

Uji *post-hoc* digunakan setelah ANOVA Satu Arah untuk mengidentifikasi kelompok perlakuan yang memiliki perbedaan nilai rata-rata secara signifikan. Karena uji homogenitas menggunakan statistik Levene menunjukkan bahwa data bersifat homogen (nilai- $p = 0,192 > 0,05$), maka uji Tukey dipilih. Setelah analisis varians (ANOVA) menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar-kelompok, uji Tukey sebagai uji perbandingan jamak digunakan untuk menentukan secara spesifik pasangan perlakuan mana yang berbeda secara signifikan (Djamaris *et al.*, 2024).

Tabel 9. Uji *Post Hoc* Tukey Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol 95% Daun Kirinyuh (*C. odorata* L) terhadap Pertumbuhan Bakteri *S. aureus*

Kelompok Uji	Kelompok Uji					
	5%	10%	15%	20%	25%	K (+)
5%		0,011 ^a	0,001 ^a	0,001 ^a	0,001 ^a	0,001 ^a
10%	0,011 ^a		0,136 ^b	0,001 ^a	0,001 ^a	0,001 ^a
15%	0,001 ^a	0,136 ^b		0,031 ^a	0,001 ^a	0,001 ^a
20%	0,001 ^a	0,001 ^a	0,031 ^a		0,001 ^a	0,001 ^a
25%	0,001 ^a	0,001 ^a	0,001 ^a	0,001 ^a		0,001 ^a
K (+)	0,001 ^a	0,001 ^a	0,001 ^a	0,001 ^a	0,001 ^a	

Keterangan:

^a : Ada perbedaan signifikan (Sig < 0,05)

^b : Tidak Ada perbedaan signifikan (Sig > 0,05)

Pembahasan

Hasil Ekstraksi dan Uji Bebas Etanol

Rendemen ekstrak etanol 95% daun kirinyuh yang diperoleh sebesar 6,96%, lebih rendah dibandingkan penelitian Damayanti *et al.* (2025) yang melaporkan rendemen 9,48%. Perbedaan tersebut diduga dipengaruhi oleh rasio pelarut (1:5 dibandingkan 1:10), tidak dilakukannya remaserasi, serta penggunaan etanol 95% dibandingkan etanol absolut, yang dapat memengaruhi efisiensi pelarutan metabolit sekunder (Ningsih *et al.*, 2017; Damayanti & Maryanti, 2025).

Ketiadaan residu pelarut dalam ekstrak diverifikasi melalui pengujian bebas etanol, yang memungkinkan zona hambat yang teramati dikaitkan dengan komponen bioaktif tanaman tersebut, bukan dengan aktivitas antibakteri etanol (Sukadiasa *et al.*, 2023). Ekstrak tersebut kemudian dianalisis menggunakan GC-MS untuk mengarakterisasi metabolit volatil dan semi-volatil yang mungkin berperan dalam aktivitas antibakteri tersebut.

Hasil Analisis *Gas Chromatography Mass Spectrometry*

Analisis GC-MS mengidentifikasi 118 senyawa, dengan golongan hidrokarbon mendominasi kromatogram. Dominasi hidrokarbon kemungkinan berkaitan dengan volatilitasnya yang tinggi sehingga lebih mudah terelusi pada awal analisis (Dewi *et al.*, 2025). Namun demikian, hidrokarbon tidak dapat langsung diinterpretasikan sebagai komponen bioaktif utama karena berbagai penelitian melaporkan bahwa sebagian senyawa tersebut dapat berasal dari artefak preparasi sampel, kontaminasi pelarut, maupun komponen instrumen GC-MS seperti septum, liner, atau kolom kromatografi (Alfianur, 2017; Nugraha & Prartono, 2018). Oleh karena itu, interpretasi aktivitas biologis pada penelitian ini lebih difokuskan pada metabolit sekunder yang telah banyak dilaporkan memiliki aktivitas farmakologis.

Senyawa Germacrene D tidak terdeteksi, berbeda dengan beberapa penelitian sebelumnya. Sebaliknya, penelitian ini mengidentifikasi caryophyllene oxide dan α -muurolol sebagai seskuiterpen dominan. Perbedaan tersebut

diduga mencerminkan variasi chemotype *Chromolaena odorata* akibat pengaruh kondisi geografis, iklim, jenis tanah, umur tanaman, maupun faktor lingkungan lainnya, bukan menunjukkan kegagalan proses ekstraksi ataupun analisis (Dougnon & Ito, 2018; Dougnon & Ito, 2021).

Perbedaan profil metabolit ini juga terlihat pada berbagai populasi *C. odorata*. Sampel dari Vietnam dilaporkan kaya akan Germacrene D, sedangkan populasi Benin didominasi oleh caryophyllene oxide. Temuan penelitian ini menunjukkan profil yang lebih mendekati chemotype Benin, meskipun berasal dari Kabupaten Kupang yang memiliki kondisi agroklimat lahan kering. Perbedaan tersebut kemungkinan dipengaruhi oleh faktor geografis, kondisi lingkungan tumbuh, jenis pelarut, maupun metode ekstraksi sehingga menghasilkan komposisi metabolit yang berbeda (Vo *et al.*, 2025; Pitakpawasutthi *et al.*, 2016; Dougnon & Ito, 2021). Hal ini sekaligus menjadi kebaruan penelitian karena karakterisasi metabolit volatil *C. odorata* asal Kabupaten Kupang masih sangat terbatas.

Banyak senyawa dengan luas puncak yang tinggi termasuk fitol, kariofilena oksida, α -muurolol, asam heksadekanoat, etil palmitat, asam α -linolenat, etil linoleat terkonjugasi, skualena, dan stigmasterol telah dilaporkan memiliki aktivitas antimikroba. Namun, identifikasi melalui GC-MS tersebut bersifat tentatif karena hanya didasarkan pada pencocokan spektrum massa dengan pustaka NIST tanpa konfirmasi menggunakan standar autentik. Akibatnya, senyawa-senyawa ini diperkirakan berkontribusi terhadap aktivitas antibakteri ekstrak tersebut, meskipun temuan penelitian tidak memungkinkan penetapannya sebagai penyebab utama.

Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Staphylococcus aureus tidak dapat tumbuh pada konsentrasi berapa pun dari ekstrak etanol 95% daun Kirinyuh. Sementara kontrol positif (klindamisin) menghasilkan zona hambat sebesar 25,48 mm dan kontrol negatif tidak menunjukkan aktivitas, diameter zona hambat meningkat dari 8,03 mm pada konsentrasi 5% menjadi 11,41 mm pada konsentrasi 25%. Temuan ini menunjukkan adanya hubungan dosis-respons, di mana aktivitas antibakteri meningkat seiring dengan naiknya konsentrasi ekstrak.

Analisis *One-Way* ANOVA menghasilkan $p < 0,001$, yang menunjukkan adanya perbedaan signifikan antarperlakuan, sementara analisis statistik mengungkapkan bahwa seluruh data memenuhi asumsi normalitas dan homogenitas. Meskipun semua konsentrasi tetap menunjukkan daya hambat yang lebih rendah dibandingkan klindamisin, uji *post-hoc* Tukey menunjukkan bahwa konsentrasi 20% dan 25% memberikan aktivitas yang meningkat secara signifikan dibandingkan dengan konsentrasi yang lebih rendah. Dibandingkan dengan penelitian Marpaung *et al.*, (2025) yang melaporkan diameter zona hambat sebesar 9,46 mm pada konsentrasi 25%, hasil penelitian ini menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih tinggi, yaitu sebesar 11,41 mm. Perbedaan ini disebabkan oleh penggunaan etanol 95% yang mampu mengekstraksi molekul bersifat semi-polar hingga non-polar secara lebih efisien dibandingkan etanol 70%, sehingga menghasilkan jumlah metabolit aktif yang lebih besar (Fa'izzah & Hartati, 2024).

Keberadaan sejumlah metabolit sekunder yang teridentifikasi melalui analisis GC-MS meliputi fitol, kariofilena oksida, α -muurolol, dan stigmasterol kemungkinan besar berperan dalam aktivitas antibakteri ekstrak etanol 95% daun *Chromolaena odorata*, yang menghasilkan diameter zona hambat sebesar 8,03–11,41 mm. Meskipun identifikasi senyawa melalui GC-MS bersifat tentatif dan penelitian ini tidak mengevaluasi kontribusi masing-masing senyawa secara individual, keberadaan metabolit tersebut dapat mendukung aktivitas antibakteri yang diamati. Berdasarkan berbagai penelitian terdahulu, phytol diketahui mampu meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri dan menginduksi stres oksidatif, sedangkan caryophyllene oxide dan α -muurolol merupakan seskuiterpen yang dilaporkan dapat mengganggu integritas membran sehingga menyebabkan kebocoran komponen intraseluler (Lee *et al.*, 2016; Almeida-Bezerra *et al.*, 2024; Khwaza *et al.*, 2025).

Selain itu, stigmasterol dilaporkan memiliki aktivitas bakteriostatik melalui penghambatan sintesis protein dan pembentukan biofilm (Almeida-Bezerra *et al.*, 2024). Kombinasi berbagai metabolit tersebut diduga memberikan kontribusi terhadap peningkatan daya hambat yang terlihat seiring meningkatnya konsentrasi ekstrak, dari 8,03 mm pada konsentrasi 5% menjadi 11,41 mm pada

konsentrasi 25%. Dengan demikian, hasil profil metabolit menggunakan GC-MS mendukung temuan biologis bahwa ekstrak etanol 95% daun *C. odorata* memiliki potensi aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, meskipun hubungan sebab-akibat antara masing-masing senyawa dan besarnya zona hambat masih memerlukan konfirmasi melalui isolasi senyawa aktif, penentuan MIC/MBC, serta pengujian mekanisme antibakteri secara spesifik.

Keberadaan phytol, caryophyllene oxide, α -muurolol, stigmaterol, etil palmitat, dan asam α -linolenat dalam ekstrak diduga mendukung terbentuknya zona hambat sebesar 8,03–11,41 mm. Berdasarkan berbagai penelitian terdahulu, phytol dilaporkan mampu meningkatkan permeabilitas membran dan menginduksi stres oksidatif, sedangkan caryophyllene oxide serta α -muurolol berpotensi mengganggu integritas membran bakteri. Stigmaterol dilaporkan memiliki aktivitas bakteriostatik melalui penghambatan sintesis protein, sementara asam lemak seperti etil palmitat dan asam α -linolenat diketahui dapat mengganggu stabilitas membran sel bakteri (Lee *et al.*, 2016; Ibrahim *et al.*, 2017; Almeida-Bezerra *et al.*, 2024; Khwaza *et al.*, 2025). Mekanisme tersebut berasal dari hasil penelitian sebelumnya dan belum dibuktikan secara langsung pada penelitian ini.

Secara keseluruhan, aktivitas antibakteri ekstrak diduga merupakan hasil kontribusi berbagai metabolit sekunder yang bekerja melalui mekanisme berbeda sehingga berpotensi memberikan efek sinergis, meskipun interaksi antarsenyawa tidak dievaluasi dalam penelitian ini. Temuan ini memperkuat dugaan bahwa karakteristik metabolit volatil *Chromolaena odorata* asal Kabupaten Kupang berkaitan dengan aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus*, sekaligus menjadi aspek kebaruan penelitian. Namun demikian, penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan, yaitu identifikasi senyawa masih berdasarkan pustaka NIST tanpa konfirmasi menggunakan standar autentik, analisis GC-MS bersifat semi-kuantitatif, serta belum dilakukan penentuan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC), *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC), maupun pengujian mekanisme antibakteri secara molekuler. Penelitian lanjutan diperlukan untuk mengonfirmasi identitas senyawa aktif dan menjelaskan hubungan kuantitatif antara komposisi metabolit dengan aktivitas antibakterinya.

Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yang perlu diperhatikan dalam menginterpretasikan hasil. Pertama, sampel untuk analisis GC-MS dikirimkan melalui jasa ekspedisi sehingga peneliti tidak dapat melakukan pengawasan secara langsung selama proses pengiriman. Kondisi tersebut juga membatasi kemungkinan dilakukannya analisis ulang secara segera apabila ditemukan kendala atau ketidaksesuaian pada hasil pengujian. Kedua, analisis GC-MS dalam penelitian ini hanya bersifat kualitatif sehingga belum memberikan informasi mengenai kadar atau persentase masing-masing senyawa aktif yang diduga berperan terhadap aktivitas antibakteri ekstrak daun kirinyuh. Selain itu, senyawa volatil dari daun kirinyuh tidak diekstraksi menggunakan metode destilasi uap, sehingga rendemen dan kualitas komponen volatil yang diperoleh kemungkinan belum optimal.

Kesimpulan

Analisis GC-MS terhadap ekstrak etanol 95% daun Kirinyuh tidak mengonfirmasi keberadaan germakrena D, namun berhasil mengidentifikasi beberapa senyawa yang berpotensi memiliki aktivitas antibakteri: etil ester asam heksadekanat, asam 9,12,15-oktadekatrienoat (Z,Z,Z)-, fitol, stigmaterol, skualena, kariofilena oksida, dan α -muurolol. Ekstrak etanol 95% tersebut menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* pada semua konsentrasi yang diuji (5–25%), dengan rata-rata diameter zona hambat yang meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi: 8,03 mm (5%), 9,09 mm (10%), 9,65 mm (15%), 10,37 mm (20%), dan 11,41 mm (25%). Dosis 5–15% diklasifikasikan memiliki daya hambat sedang, sedangkan dosis 20% dan 25% diklasifikasikan memiliki daya hambat kuat. Ekstrak etanol 95% daun kirinyuh memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, berdasarkan hasil uji ANOVA satu arah yang menunjukkan adanya perbedaan signifikan antar-kelompok perlakuan ($p < 0,05$).

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Program studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Kedokteran Hewan, Universitas Nusa Cendana yang telah

memfasilitasi dan membantu penulis dalam menyelesaikan artikel ini.

Referensi

- Afifurrahman, A., Samadin, K. H., & Aziz, S. (2014). Pola kepekaan bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap antibiotik vancomycin di RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang. *Majalah Kedokteran Sriwijaya*, 46(4), 266–270.
- Albina, M. (2025). Model penelitian eksperimental dalam pendidikan: jenis, tujuan, dan aplikasinya. *Jurnal Media Akademik (JMA)*, 3(6). <https://doi.org/10.62281/v3i6.2365>
- Alfianur, A. (2017). *Identifikasi komponen penyusun minyak atsiri kulit jeruk manis (Citrus sinensis L.) asal Selorejo dan uji aktivitas antibakteri menggunakan metode kertas cakram* (Doctoral dissertation). Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Alkausar, A. (2025). *Uji efektivitas antibakteri ekstrak batang kopasanda (Chromolaena odorata L.) asal Kabupaten Takalar dalam menghambat pertumbuhan bakteri Staphylococcus aureus* (Doctoral dissertation). Institut Ilmu Kesehatan Pelamonia.
- Almeida-Bezerra, J. W., Menezes, S. A., Silva, C., Sousa, S. G., Alves, D. S., Alencar, G. G., et al. (2024). Analysis of the antibiotic-potentiating activity, absorption, distribution, metabolism, and excretion (ADME), and the molecular docking properties of phytol against multidrug-resistant (MDR) strains. *Antibiotics*, 13(12). <https://doi.org/10.3390/antibiotics13121171>
- Arina, Y., Pratiwi, G., & Alta, U. (2023). Efektivitas kombinasi ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dan daun mint (*Mentha piperita* L.) pada uji daya hambat bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal 'Aisyiyah Medika*, 8(2).
- Azhari, M., & Sengaji, R. F. (2023). Antimicrobial activity of turmeric, ginger, and galangal rhizome ethanol extracts in combination using the checkerboard method. *Journal Borneo*. <https://doi.org/10.57174/j.born.v3i3.108>
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI. (2019). *Laporan nasional Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2018*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Dalimunthe, K. H. (2025). Analisis ekstrak etanol daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) yang berpotensi sebagai antibakteri dengan menggunakan metode kromatografi kolom. *SNBIPA*, 1(1), 93–100.
- Damayanti, E., & Maryati, M. (2025). Uji antibakteri ekstrak daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) dan daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus subtilis*. *Usadha Journal of Pharmacy*, 4(1), 1–12. <https://doi.org/10.23917/ujp.v4i1.519>
- Dewi, A. P. (2019). Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun senduduk (*Melastoma affine* D. Don) terhadap *Staphylococcus aureus*. *JOPS (Journal of Pharmacy and Science)*, 3(1), 10–14.
- Dewi, I. A. S., Dewi, N. M. A. S., & Wulandari, N. W. S. (2025). Analysis of the bioactive content of kirinyu (*Chromolaena odorata*) extract through GC-MS phytochemical testing. *Pakistan Journal of Life and Social Sciences*, 23(1), 8937–8946. https://www.pjlss.edu.pk/pdf_files/2025_1/8937-8946.pdf
- Djamaris, A., Ardiansyah, Sari, D. A. P., & Novianti, M. D. (2024). *Desain percobaan: Teori dan aplikasi* (1st ed.). Universitas Bakrie Press.
- Douglas, E. J. A., Palk, N., Rudolph, E. R., & Laabei, M. (2025). Anti-staphylococcal fatty acids: Mode of action, bacterial resistance and implications for therapeutic application. *Microbiology*, 171(5), Article 001563. <https://doi.org/10.1099/mic.0.001563>
- Dougnon, G., & Ito, M. (2021). Essential oil from the leaves of *Chromolaena odorata*, and sesquiterpene caryophyllene oxide induce sedative activity in mice. *Pharmaceuticals*, 14(7), 651. <https://doi.org/10.3390/ph14070651>
- Dougnon, G., & Ito, M. (2021). Essential oil from

- the leaves of *Chromolaena odorata*, and sesquiterpene caryophyllene oxide induce sedative activity in mice. *Pharmaceuticals*, 14(7), 651. <https://doi.org/10.3390/ph14070651>
- Fadia, F., Nurlailah, N., Helmiyah, T. E., & Lutpiatina, L. (2020). Efektivitas ekstrak etanol daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) sebagai antibakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 2(3), 158–168. <https://doi.org/10.33759/jrki.v2i3.104>
- Fa'izzah, N. H., & Hartati, A. (2024). Uji antibakteri ekstrak etanol daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) R.M. King & H. Rob.) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Technology*, 1(2), 52–58.
- Halim, S., Nasrul, M., & Firdaus, A. (2022). The role of homogeneity test in analyzing learning models. *Educational Research Update*, 18(3), 112–117. <https://doi.org/10.1007/edu.2022.18312>
- Hanina, H., Humaryanto, H., Gading, P. W., Aurora, W. I. D., & Harahap, H. (2022). Peningkatan pengetahuan siswa Pondok Pesantren Nurul Iman tentang infeksi *Staphylococcus aureus* di kulit dengan metode penyuluhan. *Medical Dedication: Jurnal Pengabdian kepada Masyarakat FKIK UNJA*, 5(2), 426–430. <https://online-journal.unja.ac.id/medic/article/view/21000>
- Hartono, H., Soetjipto, H., & Kristijanto, A. I. G. N. (2017). Extraction and chemical compounds identification of red rice bran oil using gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS) method. *Eksakta: Jurnal Ilmu-Ilmu MIPA*, 17(2), 98–110. <https://doi.org/10.20885/eksakta.vol17.iss2.art2>
- Ibrahim, N., Mohamed, N., Nor, N. M., Zakaria, Z. A., Sulaiman, S. F., & Arief, S. J. (2017). Transcriptome analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in response to stigmaterol and lupeol. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 11, 88–92. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.07.011>
- Khwaza, V., & Aderibigbe, B. A. (2025). Antibacterial activity of selected essential oil components and their derivatives: A review. *Antibiotics*, 14(1), 68. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14010068>
- Lee, W., Woo, E. R., & Lee, D. G. (2016). Phytol has antibacterial property by inducing oxidative stress response in *Pseudomonas aeruginosa*. *Free Radical Research*, 50(12), 1309–1318. <https://doi.org/10.1080/10715762.2016.1235780>
- Makin, F. M. P. R., Tnunay, I. M. Y., & Wiguna, G. A. (2023). GC-MS (Gas Chromatography–Mass Spectrometry) metabolit sekunder ekstrak etanol dan metanol daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.). *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, 11(1), 194–202. <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v11i1.6519>
- Marpaung, J. K., Suharyanisa, & Simbolon, L. P. (2025). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) R.M. King & H. Rob.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Farmanesia*, 12(1), 59–63.
- Marpaung, J. K., Suharyanisa, & Simbolon, L. P. (2025). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) R.M. King & H. Rob.) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Farmanesia*, 12(1), 59–63.
- Misrahanum, M., Zahira, C. A. D., & Saidi, N. (2022). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) dan identifikasi senyawa dengan metode GC-MS. *Jurnal Pharmascience*, 9(2), 310–318.
- Ningsih, G., Utami, S. R., & Nugrahani, R. A. (2017). Pengaruh lamanya waktu ekstraksi remaserasi kulit buah durian terhadap rendemen saponin dan aplikasinya sebagai zat aktif antijamur. *Jurnal Konversi*, 4(1).
- Nugraha, M. A., & Prartono, T. (2018). Investigasi kontaminasi minyak melalui fingerprint kimia di Estuari Muara Angke, Cimandiri, dan Cilintang. *Jurnal Kelautan Tropis*, 21(1), 1–8.
- Owolabi, M. S., Ogundajo, A., Yusuf, K. O., Lajide, L., Villanueva, H. E., Tuten, J. A., & Setzer, W. N. (2010). Chemical composition and bioactivity of the essential oil of *Chromolaena odorata* from Nigeria. *Records of Natural Products*, 4(1), 72–78.
- Parsons, J. B., Yao, J., Frank, M. W., Jackson, P.,

- & Rock, C. O. (2012). Membrane disruption by antimicrobial fatty acids releases low-molecular-weight proteins from *Staphylococcus aureus*. *Journal of Bacteriology*, 194(19), 5294–5304. <https://doi.org/10.1128/JB.00743-12>
- Pitakpawasutthi, Y., Thitikornpong, W., Palanuvej, C., & Ruangrunsi, N. (2016). Chlorogenic acid content, essential oil compositions, and in vitro antioxidant activities of *Chromolaena odorata* leaves. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 7(2), 37–42. <https://doi.org/10.4103/2231-4040.177200>
- Razali, N. M., & Wah, Y. B. (2011). Power comparisons of Shapiro–Wilk, Kolmogorov–Smirnov, Lilliefors and Anderson–Darling tests. *Journal of Statistical Modeling and Analytics*, 2(1), 21–33. <https://www.nrc.gov/docs/ML1714/ML17143A100.pdf>
- Salim, M., Gestiwana, O., & Kamilla, L. (2023). Efektivitas sediaan sabun wajah cair ekstrak daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* metode difusi. *Jurnal Laboratorium Khatulistiwa*, 7(1), 85–92. <https://ejournal.poltekkes-pontianak.ac.id/index.php/JLK/article/view/1255>
- Sarassari, R., Bramantono, B., & Kuntaman, K. (2022). Susceptibility pattern of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteria in Dr. Soetomo General Academic Hospital Surabaya. *Jurnal Berkala Epidemiologi*, 10(3), 331–340. <https://doi.org/10.20473/jbe.V10I32022.331-340>
- Septiani, S. (2017). Pengaruh pemberian ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap jumlah koloni bakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Biosains*, 8(2), 45–52. <https://jurnal.unimed.ac.id/2012/index.php/biosains/article/download/22671/1556>
- Sujana, K. V., Katja, D. G., & Koleangan, H. S. J. (2024). Aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi kulit batang *Chisocheton* sp. (C.DC.) Harms terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Chemistry Progress*, 17(1), 87–96. <https://doi.org/10.35799/cp.17.1.2024.54950>
- Sukadisa, P. I. K., Wintariani, N. P., & Wartana, I. G. N. A. W. (2023). Uji efektivitas antibakteri ekstrak etanol 96% tanaman gonda (*Sphenoclea zeylanica* Gaertn.) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 9(1), 61–69.
- Tălăpan, D., Sandu, A. M., & Rafila, A. (2023). Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated between 2017 and 2022 from infections at a tertiary care hospital in Romania. *Antibiotics*, 12(6), 974. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12060974>
- Vo, H. V., Satyal, P., Vo, T. T., Le, T. T.-T., Nguyen, A. T.-G., Vu, H. T., Nguyen, T. T., & Nguyen, H. H. (2025). Chemical composition and biological activities of *Chromolaena odorata* (L.) R.M. King & H. Rob. essential oils from Central Vietnam. *Molecules*, 30(17), 3602. <https://doi.org/10.3390/molecules30173602>
- Watkins, R. R., & Bonomo, R. A. (2016). Overview: Global and local impact of antibiotic resistance. *Infectious Disease Clinics of North America*, 30(2), 313–322.