

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY AND EFFECTIVENESS TEST OF BANDOTAN
(*Ageratum conyzoides* Linn.) LEAVES ETHANOL EXTRACT AGAINST
*Staphylococcus aureus***

**UJI AKTIVITAS DAN EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN
BANDOTAN (*Ageratum conyzoides* Linn.) TERHADAP
BAKTERI *Staphylococcus aureus***

Repita Anis Jungjunan¹, Pudji Rahayu¹, Yulyuswarni¹, Dias Ardini¹
Email : repitajung@gmail.com

ABSTRAK

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi, baik flora maupun fauna. Salah satunya adalah tumbuhan yang memiliki khasiat untuk kesehatan. Pemanfaatan tumbuhan sebagai obat oleh masyarakat Indonesia sudah dilakukan secara turun-temurun dalam sistem pengobatan tradisional Indonesia. Tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) sudah lama digunakan menjadi salah satu tanaman yang paling ampuh dalam mengobati luka. Pada sampel pus (nanah) dari luka infeksi kulit, ditemukan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas dan efektivitas antibakteri ekstrak etanol 96% daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini bersifat eksperimental dengan 5 perlakuan dan 5 kali pengulangan, yaitu: variasi konsentrasi 50%, 75%, 100% ekstrak etanol 96% daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.), kontrol positif (kloramfenikol 30µg), dan kontrol negatif (aquadest). Metode uji antibakteri yang digunakan adalah metode difusi cakram (Kirby & Bauer). Parameter yang diukur adalah besarnya diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar disk. Analisis data dilakukan dengan uji *One Way ANOVA (Analysis of Varians)* dan dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, dan steroid/terpenoid. Rata-rata zona hambat yang terbentuk dari ekstrak etanol 96% daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) dengan konsentrasi 50%, 75%, dan 100% berturut-turut sebesar 6,79 mm, 8,75 mm, dan 9,45 mm, rata-rata zona hambat yang terbentuk dari kontrol negatif sebesar 0,00 mm dan kontrol positif (kloramfenikol 30µg) sebesar 25,47 mm. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 96% daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) dengan konsentrasi 50%, 75%, dan 100% memiliki aktivitas antibakteri dengan daya hambat sedang (*moderate*) namun kurang efektif sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Kata kunci : Uji aktivitas antibakteri, ekstrak etanol 96%, Bandotan
(*Ageratum conyzoides* Linn.)

ABSTRACT

Indonesia has a high biodiversity, both flora and fauna. One of them is a plant that has health benefits. The use of plants as medicine by the Indonesian people has been carried out for generations in the Indonesian traditional medicine system. Bandotan plant (*Ageratum conyzoides* Linn.) has long been used as one of the most effective plants in treating wounds. In the sample of pus from a skin infection wound, *Staphylococcus aureus* was found. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity and effectiveness of 96% ethanol extract of bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) leaves against *Staphylococcus aureus* bacteria. This study is an experimental study with 5 treatments and 5 repetitions, viz.: concentration variations 50%, 75%, 100% of 96% ethanol extract of bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) leaves, positive control (30µg chloramphenicol), and negative control (aquadest). The antibacterial test method used in this study is the disc diffusion method (Kirby & Bauer). The parameter measured was the diameter of the inhibition zone formed around the disc. Data were analyzed by One Way ANOVA (Analysis of Variance) test and continued with BNT (Least Significant Difference) test. The results of this study indicate that bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) leaves contain alkaloids, flavonoids, and steroids/terpenoids. The average inhibition zone formed from 96% ethanol extract of bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) leaves with concentrations of 50%, 75%, and 100%, respectively, was 6,79 mm, 8,75 mm, and 9,45 mm., the average inhibition zone formed from the negative control was 0,00 mm and from the positive control (chloramphenicol 30µg) was 25,47 mm. From the results of this study it can be concluded that 96% ethanol extract of bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) leaves with concentrations of 50%, 75%, and 100% have antibacterial activity with moderate inhibition but are less effective as an antibacterial against *Staphylococcus aureus* bacteria.

Keywords : Antibacterial activity test, 96% ethanol extract, Bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.)

Pendahuluan

Indonesia terletak di daerah beriklim tropis dan dilewati oleh garis khatulistiwa. Letak ini menyebabkan Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi, baik flora maupun fauna. Keanekaragaman hayati dapat diartikan sebagai keragaman berbagai makhluk hidup mulai dari hewan, tumbuhan, dan mikroorganisme, termasuk gen yang dimiliki serta ekosistem yang menjadi lingkungan hidupnya (Badan Pusat Statistik Indonesia, 2015:47).

Indonesia adalah salah satu rumah bagi kehidupan hayati yang paling kaya di

dunia. Keanekaragaman hayati telah memberikan manfaat bagi kehidupan manusia, antara lain sebagai sumber bahan pangan, sandang, papan serta menyediakan jasa lingkungan (Badan Pusat Statistik Indonesia, 2015:47).

Bangsa Indonesia telah lama mengenal dan menggunakan tumbuhan berkhasiat obat sebagai salah satu upaya dalam menanggulangi masalah kesehatan. Pengetahuan tentang tumbuhan berkhasiat obat berdasarkan pada pengalaman dan keterampilan yang secara turun-temurun telah diwariskan dari satu generasi ke

generasi berikutnya. Penggunaan bahan alam sebagai obat tradisional di Indonesia telah dilakukan oleh nenek moyang kita sejak berabad-abad yang lalu, terbukti dari adanya naskah lama pada daun lontar Husodo (Jawa), Usada (Bali), Lontarak pabbura (Sulawesi Selatan), dokumen Serat Primbon Jampi, Serat Racikan Boreh Wulang Dalem, dan relief Candi Borobudur yang menggambarkan orang sedang meracik obat (jamu) dengan tumbuhan sebagai bahan bakunya (Sukandar, 2006 dalam Nurmalasari, Sukarsa, Hidayah, 2012:142).

Pemanfaatan tumbuhan sebagai obat oleh masyarakat Indonesia sudah dilakukan secara turun-temurun dalam sistem pengobatan tradisional Indonesia. Dari 30.000-35.000 jenis tumbuhan yang diperkirakan ada di Indonesia, sekitar 7.500 jenis sudah dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia. Dari jumlah jenis yang telah dimanfaatkan tersebut, kurang dari 30 jenis sudah beredar sebagai produk komersial (Maryanto; *et al.*, 2013 dalam Retnowati; *et al.*, 2019:13).

Tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) adalah herba dari famili *Asteraceae* yang dapat tumbuh pada wilayah subtropis dan tropis. Tanaman ini memiliki tinggi 10-120 cm, berbatang tegak atau terbaring, berdaun tunggal dan menyirip dengan bentuk bulat bergerigi dan ujung lancip, serta memiliki mahkota bunga berbentuk lonceng dan berwarna ungu atau putih (Bamidele; *et al.*, 2010 dalam Cahyani dan Mita, 2018:126).

Tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) sudah lama digunakan menjadi salah satu tanaman yang paling ampuh dalam mengobati luka. Tanaman ini termasuk dalam rangkaian pengobatan tradisional India (Ayurveda) dan China. Umumnya, masyarakat menggunakan bagian daun tanaman yang telah ditumbuk hingga halus dan ramuan ini diaplikasikan langsung pada bagian tubuh yang luka. Selanjutnya, luka dapat dibalut perban agar terlindung dari paparan dunia luar. Hal ini dapat dilakukan 3-4 kali dalam sehari dan diulangi kembali sampai sembuh (Dalimartha, 2008 dalam Cahyani dan Mita, 2018:128).

Ageratum conyzoides Linn. mengandung metabolit sekunder terpenoid, flavanoid, steroid, terpen, saponin, asam lemak dan alkaloid (Silalahi, 2018; 201). Pada jurnal yang ditulis oleh Cahyani dan Mita (2018), diketahui bahwa ekstrak *Ageratum conyzoides* Linn. yang diekstraksi dengan etanol 97% memiliki aktivitas biologis sebagai antimikroba dan antiinflamasi dengan kandungan *Lycopsamine*; *O glucopyranosyl pcoumaric acid*; *ethyl caffeate*; *1,2-benzopyrone*; *ageconyflavone C*; *3'-hidroxy-5,6,7,8,4',5'-hexamethoxy-flavone*; *5,6,7,3',4',5'-hexamethoxyflavone*; *nobiletin*; *5'-methoxy nobileti*; dan *eupalestin* (Cahyani dan Mita, 2018:128).

Luka merupakan peristiwa rusaknya struktur dan jaringan epitel normal, baik pada kulit, otot, saraf, dan pembuluh

darah, yang disebabkan oleh berbagai faktor internal maupun eksternal yang mengenai jaringan tersebut. Luka terbuka termasuk dalam salah satu jenis luka yang sangat mudah terkontaminasi paparan dunia luar, seperti bakteri, sinar matahari, debu, dll. Apabila tidak segera ditangani dengan baik, luka terbuka dapat menimbulkan infeksi yang cukup serius, misalnya abses dan sepsis (Jain; *et al.*, 2009 dalam Cahyani dan Mita, 2018:125).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Ekawati, *et al.* (2018) diketahui bahwa dari isolasi dan identifikasi terhadap sampel pus (nanah) dari luka infeksi kulit didapatkan kuman *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* (Ekawati, Husnul, Herawati, 2018:34).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri patogen bagi manusia. Hampir tiap orang akan mengalami beberapa tipe infeksi *S. aureus* sepanjang hidupnya. Setiap jaringan ataupun alat tubuh dapat terinfeksi dan menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda khas yaitu peradangan, nekrosis, dan pembentukan abses (Fitriani, 2014:68).

Staphylococcus aureus, kokus positif gram, bercirikan tumbuh berkelompok. Bakteri ini normal berada di kulit dan siap untuk tumbuh di jaringan yang lebih dalam menimbulkan infeksi supuratif. Fakta menunjukkan bakteri ini sebagai penyebab tersering infeksi supuratif pada kulit, sendi, tulang, dan merupakan penyebab utama endokarditis infeksi (Pringgoutomo, Himawan, Tjarta, 2002:134).

Pada penelitian uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode sumuran yang dilakukan oleh Nurhayati dan Setiawan (2018), dari ekstrak etanol 70% daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) didapatkan hasil rata-rata zona hambat atau zona bening sebesar 6,02 mm pada konsentrasi 25%, 7,99 mm pada konsentrasi 50%, 11,00 mm pada konsentrasi 75%, dan 14,33 mm pada konsentrasi 100%. Dari hasil tersebut, Nurhayati dan Setiawan menyimpulkan bahwa terdapat aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan maka semakin besar diameter zona bening yang terbentuk karena semakin besar senyawa yang berkhasiat dalam ekstrak yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Nurhayati dan Setiawan, 2018).

Pada penelitian uji efek antibakteri ekstrak etanol daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode *paper disk* (kertas cakram) yang dilakukan oleh Naibaho (2018), dari ekstrak etanol 70% daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) didapatkan hasil rata-rata zona hambat sebesar 13,21 mm pada konsentrasi 40%, 14,45 mm pada konsentrasi 55%, dan 16,70 mm pada konsentrasi 70% (Naibaho, 2018:20). Dari data tersebut Naibaho

menyimpulkan bahwa pada konsentrasi 55% dan 70% memiliki daya hambat yang efektif terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (Naibaho, 2018:23).

Pada penelitian Mengkido, Lambui, dan Harso (2019) tentang uji daya hambat ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, digunakan 4 variasi konsentrasi ekstrak, yaitu: 7,5%, 15%, 35%, dan 50%. Didapatkan hasil zona hambat terbesar pada konsentrasi 50% yaitu 22,0 mm. Mengkido, Lambui, dan Harso menyimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.), semakin besar daya hambatnya (Mengkido, Lambui, dan Harso, 2019:124-128).

Berdasarkan pada latar belakang di atas, khususnya karena latar belakang penggunaan daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) sebagai obat tradisional untuk luka terbuka di masyarakat, peneliti tertarik untuk melakukan uji aktivitas dan efektivitas antibakteri ekstrak etanol 96% daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan variasi konsentrasi 50%, 75%, dan 100% menggunakan metode difusi cakram (*kirby bauer*).

Metode Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, gelas ukur 100 ml, beaker glass 500 ml, beaker glass 100 ml, labu ukur 10 ml, tabung reaksi, Erlenmeyer 100 ml dan 250 ml, kaca

arloji, *cover glass*, batang pengaduk, oven, autoklaf, inkubator, cawan petridish, cawan porselen, *hot plate*, lampu spiritus, blender, ose, pinset, corong gelas, spatula, jangka sorong, *rotary evaporator*, spidol, pipet tetes, pipet volume 1 ml dan 2 ml.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.), 5000 ml etanol 96%, aquadest, 1 gram *Nutrient Agar* (NA), 0,16 gram *Nutrient Broth* (NB), 10,2 gram *Muller Hinton Agar* (MHA), 10 ml H₂SO₄ 1%, 1 ml BaCl₂ 1%, 50 ml NaCl 0,9% steril, 2 ml HCl 2N, 1 ml Pereaksi Meyer, 1 ml Pereaksi Bouchardat, 1 ml Pereaksi Dragendrof, 100 mg Serbuk Mg, 1 ml HCl (P), 2 ml amil alkohol, 20 ml n-Heksan, 1 ml asam asetat anhidrat, 1 ml H₂SO₄ (P), dan 1 ml FeCl₃, *aluminium foil*, kapas steril, 5 disk kloramfenikol 30µg, 20 disk kosong, kertas tempel, kertas saring, dan kertas buram.

Prosedur Penelitian

Determinasi Daun Bandotan

(*Ageratum conyzoides* Linn.) dilakukan secara makroskopik dan mikroskopik dengan cara mengamati sampel daun bandotan yang diambil di Kecamatan Sungkai Utara dan membandingkannya dengan literatur *Materia Medica Indonesia* jilid 5.

Pembuatan Simplisia Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.)

a. Diambil daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) segar yang sudah diidentifikasi morfologinya berdasarkan literatur (*Materia Medica*

- Indonesia jilid 5). Daun bandotan didapatkan di daerah Kecamatan Sungkai Utara, Lampung Utara. Daun yang diambil adalah daun yang masih berwarna hijau dan dipastikan bahwa yang dipetik adalah daunnya tanpa tangkai daun.
- b. Dilakukan sortasi basah dengan memisahkan daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) dari kotoran dan bahan asing lain seperti batang dan tangkai.
 - c. Dicuci bersih daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) menggunakan air mengalir.
 - d. Dilakukan perajangan daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) untuk memperkecil ukurannya.
 - e. Diletakkan daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) di atas nampan *stainless* atau nampan dari anyaman bambu, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan (tidak terkena sinar matahari langsung).
 - f. Dilakukan sortasi kering dengan cara memisahkan daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) dari bahan yang rusak atau terkena kotoran.
 - g. Diperhalus daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) dengan menggunakan blender menjadi serbuk kering.
- b. Ditimbang serbuk kering daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) sebanyak 500 gram pada neraca analitik, dimasukkan ke dalam wadah.
 - c. Ditambahkan 3500 ml etanol 96% sehingga semua daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) terendam pelarut tersebut dan didiamkan selama 72 jam dan diaduk setiap 24 jam.
 - d. Disaring menggunakan kertas saring dan dipisahkan antara hasil ekstrak yang telah disaring dan ampasnya.
 - e. Direndam kembali ampas tersebut dengan 1500 ml etanol 96% selama 48 jam dan diaduk setiap 24 jam. Remaserasi tersebut dilakukan sebanyak satu kali.
 - f. Disaring kembali dan dicampurkan semua maserat yang diperoleh.
 - g. Dikumpulkan dan diuapkan semua maserat dengan *rotary evaporator* Dlab XZ217AR0000006 lalu dilanjutkan penguapan dengan cawan porselen di atas *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental.

Skrining Fitokimia

Uji Alkaloid yaitu dengan menimbang serbuk simplisia sebanyak 0,5 gram, ditambahkan 1 ml asam klorida 2N dan 9 ml air suling, lalu dipanaskan di atas tangas air selama 2 menit, dinginkan lalu saring. Filtrat digunakan untuk percobaan berikut :

Pembuatan Ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) dengan Penyari Etanol 96%

- a. Disiapkan wadah yaitu bejana berbahan kaca yang digunakan untuk

- a. Diambil 3 tetes filtrat, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer

akan menghasilkan endapan putih/kuning.

- b. Diambil 3 tetes filtrat, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Bouchardat akan menghasilkan endapan coklat hitam.
- c. Diambil 3 tetes filtrat, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendrof akan menghasilkan endapan merah bata.

Apabila terdapat endapan paling sedikit 2 atau 3 dari pengujian di atas, maka simplisia dinyatakan mengandung alkaloid.

Uji Flavonoida yaitu dengan menimbang serbuk simplisia sebanyak 10 g, ditambahkan dengan 100 ml air panas. Kemudian dididihkan campuran selama kurang lebih 5 menit, lalu disaring ketika panas. Sebanyak 5 ml filtrat ditambahkan 0,1 g serbuk Mg, 1 ml HCl pekat dan 2 ml amil alkohol, dikocok, dan biarkan memisah. Flavonoid positif jika terjadi warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol.

Uji Saponin yaitu dengan menimbang serbuk simplisia sebanyak 0,5 g, dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 ml air suling panas, didinginkan kemudian dikocok dengan kuat selama 10 detik, terbentuk buih atau busa yang selama tidak kurang dari 10 menit dan setinggi 1-10 cm. Lalu ditambahkan 1 tetes HCl 2N. Apabila pada penambahan 1 tetes larutan HCl 2N buih tidak hilang, menunjukkan adanya saponin.

Uji Steroid/Terpenoida yaitu dengan menimbang serbuk simplisia sebanyak 1 g,

dimaserasi dengan 20 ml n-heksan selama 2 jam, lalu disaring. Filtrat diuapkan dalam cawan penguap. Pada sisa filtrat ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat. Adanya senyawa steroid ditunjukkan dengan warna ungu atau merah, dan adanya senyawa terpenoid ditunjukkan dengan warna hijau biru.

Uji Tanin yaitu dengan menimbang serbuk simplisia sebanyak 0,5 gram lalu diekstrak dengan 10 ml aquadest. Hasil ekstraksi disaring kemudian filtrat yang diperoleh diencerkan dengan aquadest sampai tidak berwarna. Hasil pengenceran ini diambil sebanyak 2 ml, kemudian ditambahkan dengan 1-2 tetes besi (III) klorida. Terjadi warna biru atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin.

Pewarnaan Gram

- a. Dibersihkan kaca objek dengan cara dilap searah dengan kapas alkohol 70%.
- b. Diberi tanda pada kaca objek bagian belakang menggunakan spidol.
- c. Diteteskannya NaCl 0,9% pada kaca objek.
- d. Dipijarkan ose menggunakan lampu spiritus, kemudian diambil bakteri dari tabung sebanyak 2-3 mata ose, lalu diratakan di bagian depan kaca objek yang telah diberi tanda. Ose yang telah digunakan dipijarkan lagi.
- e. Difiksasi kaca objek pada hawa panas lampu spiritus hingga sampel kering kemudian dibiarkan hingga dingin.
- f. Diteteskannya gram A (violet) pada

sampel, ditunggu hingga 2 menit lalu dibilas dengan air mengalir pada kaca objek.

- g. Diteteskan gram B (lugol) pada sampel, ditunggu hingga 1 menit lalu dibilas dengan air mengalir pada kaca objek.
- h. Diteteskan gram C (alkohol 96%) pada sampel, ditunggu hingga 30 detik lalu bilas dengan air pada kaca objek.
- i. Diteteskan gram D (safranin) pada sampel, ditunggu hingga 30 detik kemudian dibilas dengan air mengalir pada kaca objek, lalu dikeringkan kaca objek.
- j. Diamati sampel di bawah mikroskop dengan lensa objektif mulai dari yang berkekuatan rendah dengan ditetesi minyak anisol.

Sterilisasi Alat yaitu dengan cara semua alat yang terbuat dari kaca dicuci bersih dan dikeringkan. Setelah itu, dibungkus dengan kertas buram. Sterilisasi alat non volumetrik yang terbuat dari kaca dilakukan dengan oven pada suhu 160°C selama 1 jam. Sedangkan, untuk jarum ose dan pinset yang berbahan logam disterilkan dengan cara pemijaran. Untuk aquadest dan media yang telah dilarutkan, dimasukan ke dalam erlenmeyer, ditutup dengan kapas dan alumunium foil, kemudian dimasukan ke dalam autoklaf dan disterilkan pada suhu 121°C (tekanan 1 atm) selama 15 menit.

Pembuatan Larutan Uji

- a. Ekstrak yang didapat dari daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.)

yang sudah diupkan berupa ekstrak kental dianggap sebagai ekstrak dengan konsentrasi 100% sebagai larutan induk dan juga larutan uji.

- b. Dari larutan induk tersebut diencerkan menjadi konsentrasi 50%, 75%, dengan aquadest sebagai pelarutnya.
- c. Pengenceran konsentrasi 50% dan 75% digunakan metode pengenceran dengan menggunakan rumus:

$$n = \% \times V$$

Keterangan :

n : Banyaknya ekstrak kental yang diambil (gram)

% : Konsentrasi yang akan dibuat (% b/v)

V : Jumlah volume yang akan dibuat (ml)

Pembuatan Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

dengan cara ditimbang *Mueller Hinton Agar* sebanyak 10,2 gram. Lalu, dimasukkan ke dalam erlenmeyer, ditambahkan 300 ml aquadest, dan dipanaskan pada *hot plate* hingga larut. Kemudian, ditutup dengan kapas yang dibungkus alumunium foil dan disterilkan dengan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit pada tekanan 1 atm. Dibiarkan selama beberapa menit hingga suhu media 45°C-50°C kemudian dituangkan ke dalam cawan petri.

Pembuatan *Nutrient Agar Slant* (NAS)

yaitu dengan cara ditimbang *Nutrient Agar* sebanyak 1 gram, dimasukkan ke dalam *beaker glass*, dan ditambahkan 50 ml aquadest. Kemudian, dipanaskan pada *hot plate* hingga larut dan dimasukkan ke

dalam tabung reaksi. Ditunggalkan dengan kapas yang dibungkus aluminium foil, lalu disterilkan dengan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit pada tekanan 1 atm. Dibiarkan selama beberapa menit hingga suhu media 40°C-45°C kemudian dimiringkan.

Pembuatan Nutrient Broth (NB) yaitu dengan cara ditimbang *Nutrient Broth* sebanyak 0,16 gram. Dimasukkan *Nutrient Broth* ke dalam *beaker glass*, ditambahkan 20 ml aquadest lalu dipanaskan pada *hot plate* hingga larut, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditutup dengan kapas yang dibungkus aluminium foil, lalu disterilkan dengan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit pada tekanan 1 atm, dan dibiarkan selama beberapa menit hingga suhu media 40°C-45°C.

Pembuatan Standar Mac Farland 0,5 yaitu dengan mencampurkan H₂SO₄ 1% sebanyak 9,95 ml dengan larutan BaCl 1% sebanyak 0,05 ml, lalu dihomogenkan. Sebelum digunakan kocok terlebih dahulu agar larutan homogen.

Pembuatan Suspensi Bakteri dilakukan dengan cara mengambil dua mata ose biakan bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah diremajakan pada media *Nutrient Agar Slant* (NAS) lalu diremajakan kembali ke dalam tabung berisi 5 ml media *Nutrient Broth* (NB) kemudian kocok hingga homogen dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Disiapkan larutan NaCl 0,9% steril lalu ditambahkan biakan bakteri yang diremajakan pada media

Nutrient Broth (NB). Suspensi bakteri tersebut kekeruhannya dibandingkan dengan larutan standar Mc Farland 0,5. Apabila suspensi bakteri terlalu keruh maka ditambahkan NaCl 0,9% steril, jika kurang keruh maka ditambahkan biakan bakteri dari media *Nutrient Broth* (NB) hingga kekeruhannya sama dengan standar Mc Farland 0,5 lalu diinkubasi selama 4 jam dengan suhu 37°C.

Pengujian Aktivitas dan Efektivitas Antibakteri

- Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
- Dimasukkan lidi kapas steril ke suspensi bakteri yang sudah disamakan kekeruhannya dengan standar Mac Farland 0,5 selama 10-15 detik.
- Diangkat dan diperas lidi kapas dengan cara ditekan pada dinding bagian dalam tabung sambil diputar-putar.
- Dipulaskan lidi kapas pada media MHA (*Mueller Hinton Agar*) sampai merata.
- Dibiarkan media yang telah dipulaskan selama 15 menit agar suspensi bakteri meresap ke dalam media.
- Direndam disk kosong dengan larutan uji selama 15 menit pada masing-masing konsentrasi seri pengenceran 50%, 75%, dan 100%, juga pada aquadest steril sebagai kontrol negatif.
- Dilakukan penempelan disk kontrol positif (Kloramfenikol 30 µg), disk kontrol negatif (aquadest), dan disk ekstrak etanol 96% daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) dengan

konsentrasi 50%, 75%, 100% di atas pulasan bakteri pada media MHA (*Mueller Hinton Agar*) menggunakan pinset steril dengan cara ditekan satu-persatu supaya disk cakram menempel dengan baik pada media, lalu diinkubasi pada inkubator dengan

suhu 37°C selama 24 jam.

h. Dilakukan pengamatan zona hambat pada media MHA (*Mueller Hinton Agar*) dari setiap disk yang ditandai dengan adanya daerah bening, lalu diukur menggunakan alat ukur jangka sorong dengan satuan milimeter (mm).

Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan penelitian tentang uji aktivitas dan efektivitas antibakteri ekstrak etanol daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang dilakukan di laboratorium jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Tanjungkarang pada bulan Maret-Juni 2022.

Hasil Penelitian

Karakteristik Ekstrak Kental Daun Bandotan

Tabel 1. Karakteristik Ekstrak Kental Daun Bandotan

| No. | Karakteristik ekstrak | Hasil |
|-----|-----------------------|----------------------|
| 1. | Rendemen | 15% |
| 2. | Bentuk | Kental |
| 3. | Warna | Hijau tua kecoklatan |
| 4. | Aroma | Khas daun bandotan |
| 5. | Kelarutan | Agak larut air |

Uji Skrining Fitokimia Serbuk Simplisia Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.)

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Daun Bandotan

| No. | Jenis Senyawa | Hasil Pengamatan | Hasil Pemeriksaan |
|-----|-------------------|---|-------------------|
| 1. | Alkaloid | Terdapat sedikit endapan berwarna coklat pada filtrat yang ditambahkan dengan pereaksi bouchardat dan sedikit endapan berwarna merah bata pada filtrat yang ditambahkan dengan pereaksi dragendof | Positif (+) |
| 2. | Flavonoid | Terbentuk warna jingga pada lapisan amil alkohol | Positif (+) |
| 3. | Saponin | Terbentuk buih, namun hanya sedikit dan cepat menghilang sesaat setelah dikocok kuat | Negatif (-) |
| 4. | Tanin | Tidak terjadi perubahan warna pada filtrat setelah ditambahkan dengan FeCl ₃ | Negatif (-) |
| 5. | Steroid/terpenoid | Terbentuk warna hijau dan | Positif (+) |

| | | | |
|--|--|--|--|
| | | merah pada sisa filtrat setelah ditambahkan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat | |
|--|--|--|--|

Uji Antibakteri

Tabel 3. Hasil Diameter Zona Hambat

| Konsentrasi Ekstrak Daun Bandotan (<i>Ageratum conyzoides</i> Linn.) | Diameter Zona Hambat (mm) | | | | | Total (mm) | Rata-rata (mm) |
|---|---------------------------|-------|-------|-------|-------|------------|----------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |
| Kontrol Negatif (Aquades) | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Konsentrasi 50% | 8,80 | 5,45 | 6,60 | 7,00 | 6,10 | 33,95 | 6,79 |
| Konsentrasi 75% | 11,25 | 7,60 | 8,80 | 8,10 | 8,00 | 43,75 | 8,75 |
| Konsentrasi 100% | 11,55 | 8,30 | 9,90 | 9,00 | 8,50 | 47,25 | 9,45 |
| Kontrol Positif (Kloramfenikol 30 μ g) | 26,60 | 23,40 | 26,70 | 26,55 | 24,10 | 127,35 | 25,47 |

Uji Statistika

Setelah didapatkan data diameter zona hambat ekstrak etanol daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.), dilakukan analisis data dengan menggunakan metode *One Way ANOVA* pada aplikasi IBM SPSS 25. Uji *One Way ANOVA* dilakukan dengan tingkat kepercayaan 95%, $\alpha = 0,05$ yang artinya jika nilai signifikansi $\leq 0,05$, maka setiap kelompok perlakuan memiliki hasil yang berbeda nyata secara statistik. Setelah dilakukan analisis *One Way ANOVA*, didapatkan hasil signifikansi $\leq 0,05$. Maka, analisis statistika dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil). Hasil dari uji BNT sebagai berikut.

Tabel 4. Hasil Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)

| Konsentrasi | Perbedaan Rerata | Sig. | Pengujian | Keputusan |
|---------------|------------------|-------|-----------------|------------------|
| K50% vs K75% | 1.96000 | 0,041 | Sig $\leq 0,05$ | Signifikan |
| K50% vs K100% | 2.66000 | 0,009 | Sig $\leq 0,05$ | Signifikan |
| K75% vs K100% | 70000 | 0,430 | Sig $\geq 0,05$ | Tidak signifikan |

Pembahasan

Pada penelitian ini, dilakukan uji aktivitas dan efektivitas antibakteri ekstrak etanol bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) terhadap *Staphylococcus aureus*. Daun bandotan (*Ageratum conyzoides*

Linn.) yang digunakan berasal dari Kecamatan Sungkai Utara, Lampung Utara. Sampel dibuat dengan cara melakukan pengenceran terhadap ekstrak kental daun bandotan, digunakan 3 konsentrasi, yaitu: konsentrasi 50%, konsentrasi 75%, dan konsentrasi 100%.

Sebelum melakukan uji aktivitas dan efektivitas antibakteri, dilakukan terlebih dahulu ekstraksi daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.). Ekstraksi yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan metode maserasi. Maserasi merupakan salah satu cara ekstraksi yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dengan pelarut yang cocok, pada suhu kamar (tanpa pemanasan) selama waktu tertentu, dan sesekali diaduk/digojok (Marjoni, 2016:40). Metode maserasi ini dipilih oleh peneliti karena dalam prosesnya tidak dilakukan pemanasan yang dapat memengaruhi kandungan metabolit sekunder yang tidak tahan panas pada simplisia daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.). Selain itu, teknik pengerjaan dan pelaratan yang digunakan pada metode maserasi tergolong sederhana. Prinsip kerja dari maserasi adalah proses melarutnya zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut (Marjoni, 2016:40). Oleh karena itu, dalam metode maserasi, proses pengadukan penting karena dapat membantu mempercepat proses difusi sehingga dapat memaksimalkan perpindahan bahan aktif dari serbuk simplisia ke pelarut selama maserasi.

Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah etanol 96%. Etanol 96% digunakan karena pada jurnal yang ditulis oleh Cahyani dan Mita (2018), diketahui bahwa ekstrak *Ageratum conyzoides* Linn. yang diekstraksi dengan etanol 97% memiliki aktivitas biologis sebagai antimikroba dan antiinflamasi

(Cahyani dan Mita, 2018:128). Selain itu, etanol bersifat lebih selektif, dapat menghambat pertumbuhan kapang dan kuman, bersifat non toksik, memiliki daya absorpsi yang baik, memerlukan pemanasan yang lebih rendah untuk pemekatan, dapat melarutkan berbagai zat aktif, dan meminimalisir terlarutnya zat pengganggu seperti lemak (Marjoni, 2016:42-43).

Proses maserasi ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) dengan etanol 96% dilakukan selama 3 hari (72 jam) dan dilanjutkan dengan remaserasi selama 2 hari (48 jam). Setiap 24 jam sekali dilakukan pengadukan. Setelah dilakukan maserasi, hasil ekstraksi dipekatkan dengan menggunakan *Rotary Evaporator* dan dilanjutkan dengan penguapan menggunakan cawan penguap di atas *waterbath* sampai didapatkan ekstrak kental. Ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) dikentalkan agar etanol yang terkandung dalam ekstrak menguap dan tidak memengaruhi hasil dari uji antibakteri karena etanol memiliki sifat antiseptik.

Pada penelitian ini dilakukan juga skrining fitokimia terhadap simplisia daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) untuk mengetahui kandungan senyawa fitokimianya. Skrining fitokimia yang dilakukan yaitu uji alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid/terpenoid. Hasil dari uji skrining fitokimia menunjukkan bahwa simplisia daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.)

mengandung alkaloid, flavonoid, dan steroid/terpenoid.

Bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri *Staphylococcus aureus*. Bakteri ini dipilih karena latar belakang empiris daun bandotan di masyarakat yang digunakan sebagai obat untuk luka terbuka. Pada penelitian yang dilakukan oleh Ekawati, *et al.* (2018) diketahui bahwa dari isolasi dan identifikasi terhadap sampel pus (nanah) dari luka infeksi kulit didapatkan kuman salah satunya adalah bakteri *Staphylococcus aureus* (Ekawati, Husnul, Herawati, 2018:34). Sebelum digunakan, biakan murni yang didapatkan dari Laboratorium Teknologi Hasil Pertanian Politeknik Negeri Lampung diremajakan terlebih dahulu pada media *Nutrient Agar Slant* (NAS) agar didapatkan bakteri yang muda. Selain itu, dilakukan juga pewarnaan gram terhadap biakan murni bakteri *Staphylococcus aureus* untuk memastikan bahwa bakteri yang digunakan adalah benar *Staphylococcus aureus* dengan memerhatikan ciri-ciri dari bakteri tersebut yang bersifat gram positif (menyerap warna ungu) dan berbentuk bulat. Dari hasil pewarnaan bakteri yang telah dilakukan, diketahui bahwa biakan bakteri tersebut menyerap warna ungu (bakteri gram positif) dengan bentuk bulat dan bergerombol. Setelah itu, dilakukan peremajaan kembali biakan murni *Staphylococcus aureus* pada media *Nutrient Broth* (NB) untuk mempermudah pembuatan suspensi bakteri.

Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dibuat dengan cara menambahkan media *Nutrient Broth* (NB) yang sudah ditanami bakteri *Staphylococcus aureus* ke dalam larutan NaCl 0,9% steril lalu kekeruhannya dibandingkan dengan standar Mc. Farland 0,5. Jika suspensi bakteri kurang keruh, maka ditambahkan lagi biakan bakteri pada media *Nutrient Broth* (NB) dan juga sebaliknya, jika suspensi bakteri terlalu keruh, maka ditambahkan larutan NaCl 0,9% steril. Tujuan suspensi bakteri yang dibuat dibandingkan dengan standar Mc. Farland 0,5 adalah agar jumlah koloni bakteri yang ada dalam suspensi tersebut sesuai dengan standar Mc. Farland 0,5 yaitu setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/ml (Dalynn Biologicals, 2014). Standar yang paling umum digunakan dalam laboratorium klinis adalah standar Mc. Farland 0,5 yang ditentukan untuk uji kepekaan antimikroba dan pengujian performa media kultur (Dalynn Biologicals, 2014).

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak kental daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) yang dibuat menjadi 3 konsentrasi, yaitu: konsentrasi 50%, 75%, dan 100%. Tujuan dibuatnya variasi konsentrasi dari ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) adalah agar diketahui pengaruh antibakteri pada konsentrasi tertentu dan juga konsentrasi mana yang paling efektif sebagai antibakteri.

Kontrol positif yang digunakan adalah kloramfenikol 30 μ g. Kontrol positif

digunakan untuk melihat gambaran terbunuhnya bakteri uji yang dilihat dari zona hambat yang terbentuk disekitar disk dan juga sebagai baku pembanding. Kloramfenikol dipilih sebagai kontrol positif karena kloramfenikol merupakan antibiotik spektrum luas yang efektif melawan berbagai infeksi bakteri yang rentan dan serius (*Drugbank*, 2022 <https://go.drugbank.com/drugs/DB00446>). Mekanisme kerja kloramfenikol adalah dengan mengikat protein L16 dari subunit 50S ribosom bakteri, transfer asam amino ke rantai peptide yang sedang tumbuh dicegah, sehingga menghambat pembentukan peptide dan sistensis protein berikutnya (*Drugbank*, 2022 <https://go.drugbank.com/drugs/DB00446>). Kontrol negatif yang digunakan adalah aquadest. Kontrol negatif digunakan untuk memastikan bahwa aquadest yang digunakan untuk pengenceran ekstrak kental tidak memiliki aktivitas antibakteri sehingga tidak memengaruhi hasil uji antibakteri ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.).

Uji antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram (Kirby & Bauer). Metode difusi cakram ini dikembangkan pada tahun 1940 dan merupakan metode resmi yang telah digunakan di banyak laboratorium mikrobiologi klinis untuk uji kepekaan antimikroba (Balouiri, 2015:72). Disk kosong direndam dengan ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) konsentrasi 50%, 70%, dan 100%, serta aquadest selama 15 menit agar meresap ke dalam disk. Setelah itu, disk

ditempelkan pada permukaan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang sudah dipoles dengan suspensi bakteri. Setelah diinkubasi selama 24 jam, dapat diamati zona hambat yang terbentuk dan diukur dengan jangka sorong.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diketahui bahwa pada sampel ekstrak etanol daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) konsentrasi 50%, 75%, dan 100% terbentuk zona hambat yang ditandai dengan adanya zona bening di sekitar disk. Pada kontrol negatif tidak terdapat zona bening atau zona hambat yang berarti aquadest yang digunakan tidak memiliki aktivitas antibakteri dan juga tidak memengaruhi hasil zona hambat sampel. Pada kontrol positif (cloramfenikol 30 µg) terdapat zona bening dan terbentuk zona hambat sebesar 25,47 mm.

Hasil rata-rata diameter zona hambat pada konsentrasi 50%, 75%, dan 100% berturut-turut sebesar 6,79 mm, 8,75 mm, dan 9,45 mm. Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak maka semakin besar zona hambat yang terbentuk. Hal ini sejalan dengan pendapat Pelzar dan Chan (1988), bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka aktivitas antibakterinya akan semakin kuat (Pelzar dan Chan, 1988 dalam Munthe, Widodo, Widayati, 2015). Pada uji antibakteri ini, dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali dan didapatkan hasil yang sedikit berbeda antar pengulangan. Menurut Dewi (2010),

kenaikan dan penurunan zona hambat yang tidak sama dapat disebabkan oleh sifat kelarutan zat aktif pada ekstrak dan perbedaan kecepatan difusi pada media agar (Dewi, 2010 dalam Munthe, Widodo, Widayati, 2015). Jika hasil zona hambat dari sampel ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) yang didapatkan dalam penelitian ini dibandingkan dengan rata-rata zona hambat kontrol positif (Kloramfenikol µg), terlihat perbedaan yang sangat besar, baik konsentrasi 50%, 75%, ataupun 100%. Jika dibandingkan dengan kategori diameter zona hambat, ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) dengan konsentrasi 50%, 75%, 100% yang menghasilkan diameter zona hambat sebesar 6-10 mm memiliki kekuatan daya hambat sedang (*Moderate*). Kategori diameter zona hambat dapat dilihat pada tabel berikut. (Surjowardojo *et al*, 2015 dalam Winastri, Muliasari, Hidayati, 2019).

Tabel 5. Kategori Diameter Zona Hambat

| Diameter | Kekuatan Daya Hambat |
|----------|------------------------------------|
| ≤5 mm | Lemah (<i>weak</i>) |
| 6-10 mm | Sedang (<i>moderate</i>) |
| 11-20 mm | Kuat (<i>strong</i>) |
| ≥21 mm | Sangat kuat (<i>very strong</i>) |

Pada penelitian yang dilakukan oleh Hasyim (2020), didapatkan hasil rata-rata zona hambat pada ekstrak daun bandotan dengan konsentrasi 15%, 25%, dan 35% secara berturut-turut sebesar 22,70 mm, 25,13 mm, dan 26,94 mm (Hasyim, 2020:31). Pada penelitian yang dilakukan oleh Mengkido, Lambui, dan Harso (2019),

didapatkan hasil rata-rata zona hambat pada ekstrak daun bandotan dengan konsentrasi 50% sebesar 22,0 mm (Mengkido, Lambui, Harso, 2019:128). Pada penelitian yang dilakukan oleh Nurhayati dan Setiawan (2018), didapatkan hasil rata-rata zona hambat pada ekstrak daun bandotan dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% secara berturut-turut sebesar 6,02 mm, 7,99 mm, 11,00 mm, dan 14,33 mm (Nurhayati dan Setiawan, 2018).

Jika hasil zona hambat yang didapatkan pada penelitian ini dibandingkan dengan penelitian-penelitian sebelumnya, terdapat perbedaan luas zona hambat yang cukup besar. Perbedaan hasil tersebut dapat terjadi karena perbedaan konsentrasi etanol yang digunakan, metode uji antibakteri yang dipilih, ataupun faktor dari tumbuhan bandotan yang digunakan. Pada penelitian oleh Hasyim (2020) dan Nurhayati *et al* (2018), digunakan etanol 70% sedangkan pada penelitian ini digunakan etanol 96%. Kemungkinan terdapat perbedaan jumlah zat aktif yang didapatkan dari proses maserasi. Proses remaserasi juga dapat memengaruhi jumlah zat aktif yang ditarik. Pada penelitian ini, remaserasi hanya dilakukan sebanyak satu kali, kemungkinan masih terdapat sisa zat aktif yang belum terlarut pada ampas daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.). Kemudian, pada penelitian oleh Mengkido *et al* (2019) dan Nurhayati *et al* (2018), metode uji antibakteri yang digunakan adalah metode sumuran sedangkan pada

penelitian ini digunakan metode difusi cakram. Hal tersebut dapat memengaruhi kecepatan difusi senyawa uji ke dalam media agar juga dapat memengaruhi jumlah senyawa uji yang digunakan (senyawa uji yang menyerap pada disk dan senyawa uji yang dimasukkan ke dalam lubang sumuran). Faktor lain yang dapat memengaruhi adalah faktor lingkungan terhadap tumbuhan bandotan yang digunakan. Pada penelitian ini dan penelitian sebelumnya memang digunakan tumbuhan yang sama yaitu tumbuhan bandotan. Namun, tumbuhan bandotan tersebut didapatkan dari daerah yang berbeda sehingga terdapat faktor lingkungan yang dapat memengaruhi proses pertumbuhan dan perkembangan suatu tumbuhan. Pada buku Fisiologi Tumbuhan yang ditulis oleh Koryati *et al* (2021), dijelaskan bahwa faktor lingkungan yang dapat memengaruhi pertumbuhan dan perkembangan suatu tumbuhan/tanaman antara lain adalah nutrisi dan air, cahaya, oksigen, suhu udara, dan kelembaban (Koryati *et al*, 2021:119-121). Karena tumbuhan bandotan yang digunakan berasal dari daerah yang berbeda, kemungkinan terdapat pula perbedaan lingkungan tempat tumbuhnya sehingga dapat memengaruhi proses metabolisme tumbuhan bandotan dan juga kandungan senyawa metabolit sekundernya.

Sifat antibakteri daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) berasal dari kandungan senyawa metabolit sekundernya. Dapat dilihat dari hasil

skrining fitokimia yang telah dilakukan, bahwa daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) yang digunakan dalam penelitian ini positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, dan steroid/terpenoid. Senyawa alkaloid mempunyai mekanisme kerja sebagai antibakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian pada sel tersebut (Farnworth, 1966 dalam Mengkido, Lambui, Harso, 2019:127). Flavonoid merupakan senyawa yang disintesis oleh tumbuhan sebagai respons terhadap infeksi mikroba. Aktivitas antibakteri tersebut terjadi karena kemampuan flavonoid untuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan kompleks dengan dinding sel bakteri (Cowan, 1999:568). Mekanisme kerja terpenoid sebagai antibakteri tidak sepenuhnya dipahami, tetapi diduga melibatkan gangguan membran sel oleh senyawa lipofilik (Cowan, 1999:571).

Berdasarkan data zona hambat dari tiap variasi konsentrasi ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) yang telah didapatkan, dilakukan analisis data secara statistik dengan analisis *One Way ANOVA (Analysis of Variance)* menggunakan aplikasi SPSS. Sebelum dilakukan analisis *One Way ANOVA*, terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dan homogenitas untuk memastikan bahwa data yang akan dianalisis normal dan homogen. Setelah dilakukan uji normalitas dan homogenitas tersebut,

diketahui bahwa data normal dan homogen. Hasil analisis data dengan *One Way ANOVA* didapatkan signifikansi (sig.) sebesar 0,024 atau $\leq 0,05$. Oleh karena itu, H_0 ditolak dan H_1 diterima. Maka, hasil dari analisis *One Way ANOVA* terhadap besar diameter zona hambat tiap variasi konsentrasi ekstrak etanol daun bandotan adalah terdapat perbedaan diameter zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* yang nyata dari tiap variasi konsentrasi ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.). Karena pada analisis *One Way ANOVA* didapatkan hasil yang berbeda nyata. Maka, analisis statistika dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil). Didapatkan hasil perbedaan zona hambat yang signifikan antara konsentrasi 50% dan konsentrasi 75% dengan nilai signifikansi 0,041 (Sig $\leq 0,05$) dan antara konsentrasi 50% dan konsentrasi 100% dengan nilai signifikansi 0,009 (Sig $\leq 0,05$).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang uji aktivitas dan efektivitas antibakteri ekstrak etanol 96% daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah dilakukan didapatkan kesimpulan sebagai berikut.

1. Hasil dari skrining fitokimia menunjukkan bahwa simplisia daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, dan steroid/terpenoid.

2. Ekstrak etanol 96% daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) dengan konsentrasi 50%, 75%, dan 100% memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.
3. Ekstrak etanol 96% daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) dengan konsentrasi 50%, 75%, dan 100% memiliki daya hambat sedang (*moderate*) namun kurang efektif sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian, peneliti menyarankan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut tentang sifat antibakteri daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.), seperti:

1. Disarankan untuk melakukan uji antibakteri ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) terhadap jenis bakteri lainnya dan menggunakan metode uji antibakteri yang berbeda.
2. Melakukan remaserasi lebih dari satu kali agar zat aktif dari daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) terekstrak secara sempurna.
3. Disarankan juga untuk melakukan penelitian lebih lanjut tentang kandungan metabolit sekunder dari daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) seperti uji menggunakan KLT.

Daftar Pustaka

1. Badan Pusat Statistik Indonesia. 2015. *Statistik Lingkungan Hidup Indonesia*.

- Jakarta: Badan Pusat Statistik. 249 halaman.
2. Balouiri, Mounyr; Moulay Sadiki; Saad Koraichi Ibsouda. 2015. Methods for In Vitro Evaluating Antimicrobial Activity: A Review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 6(2016), 71-79.
 3. Cahyani, Yunistya Dwi dan Soraya Ratnawulan Mita. 2018. Artikel Tinjauan : Aktivitas Biologis Tanaman Bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) sebagai Terapi Luka Terbuka. *Jurnal Farmaka*. 16(2), 125-133.
 4. Cowan, Marjorie Murphy. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12(4), 564-582.
 5. Dalynn Biologicals. 2014. McFarland Standard. Tersedia <http://www.dalynn.com>
 6. Departemen Kesehatan RI. 1985. Cara Pembuatan Simplisia. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 131 halaman.
 7. Departemen kesehatan RI. 1989. Materia Medika Indonesia jilid 5. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 617 halaman.
 8. Drugbank. "Cloramphenicol". Tersedia <https://go.drugbank.com/drugs/DB00446>
 9. Ekawati, Evy Ratnasari; Siti Nur Husnul Y.; Dheasy Herawati. 2018. Identifikasi Kuman pada Pus dari Luka Infeksi Kulit. *Jurnal SainHealth*. 2(1), 31-35.
 10. Fitriani, Any. 2014. Aktivitas Alkaloid (*Ageratum conyzoides* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In Vitro. Prosiding Simposium Penelitian Bahan Obat Alam. Jurusan Pendidikan Biologi, FPMIPA, Universitas Pendidikan Indonesia. Bandung.
 11. Hanafiah, Kemas Ali. 1997. *Rancangan Percobaan Teori dan Aplikasi edisi Revisi*. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada. 193 halaman.
 12. Hanani, Endang. 2017. *Analisis Fitokimia*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 262 halaman.
 13. Hasyim, Muhammad Farid. 2020. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) sebagai Antibakteri dalam Menghambat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Penyebab Bisul. Jurnal Farmasi Sandi Karsa (JFS)*. 6(1), 29-33.
 14. Heliawati, Leny. 2018. *Kimia Organik Bahan Alam*. Bogor: Pascasarjana-UNPAK. 178 halaman.
 15. Hidayati, A.S. dan Harjono. 2017. Uji Aktivitas Krim Ekstrak Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) dalam Pelarut Etanol. *Jurnal MIPA*. 40(1), 33-38.
 16. Jawetz, Melnick, dan Adelberg. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran edisi 23*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
 17. Jones, David S. 2010. *Statistik Farmasi*, diterjemahkan oleh Hesty

- Utami Ramadaniati. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 580 halaman.
18. King, Randall W. 2019. "Staphylococcal Scalded Skin Syndrome (SSSS)". Tersedia <https://emedicine.medscape.com/article/788199-overview#a4> (13 Mei 2019)
19. Koryati, Try, et. al. 2021. *Fisiologi Tumbuhan*. Medan: Yayasan Kita Menulis. 204 halaman.
20. Marjoni, Riza. 2016. *Dasar-Dasar Fitokimia*. Jakarta Timur: CV. Trans Info Media. 153 halaman.
21. Mengkido, Melsi; Orryani Lambui; Wahyu Harso. 2019. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Biocelbes*. 13(2), 121-130.
22. Munthe, Ervi Audina; Tri Widodo; Ratna Widayati. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Laban (*Vitex pinnata Linn.*) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus pyogenes* dengan Metode Difusi Cakram Kirby-Bauer.
23. Menteri Kesehatan Republik Indonesia. 2016. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 6 Tahun 2016 tentang Formularium Obat Herbal Asli Indonesia. Jakarta: Menteri Kesehatan Republik Indonesia.
24. Naibaho, Annisa Ridayani. 2018. *Uji Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Bandotan (Ageratum conyzoides L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus*. Tesis Diploma. Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan. Medan.
25. Nasar, I Made; Sutisna Himawan; Wirasmi Marwoto. 2010. *Buku Ajar Patologi II (Khusus) edisi Kesatu*. Jakarta: CV. Sagung Seto. 738 halaman.
26. Nurhayati, Puspita Eka; Nur Candra Eka Setiawan. 2018. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Bandotan (Ageratum conyzoides L.) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dengan Metode Difusi Sumuran*. Tesis Diploma. Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang. Malang.
27. Nurmalasari, Nisa; Sukarsa; Hexa Apriliana Hidayah. 2012. Studi Kasus Pemanfaatan Tumbuhan sebagai Obat-Obatan Tradisional oleh Masyarakat Adat Kampung Naga di Kabupaten Tasikmalaya. *Biosfera*. 29(3), 141-150.
28. Permana, Heri. 2021. *Tanaman Obat Tradisional*. Bandung: CV Titian Ilmu. 90 halaman.
29. Pringgoutomo, Sudarto; Sutisna Himawan; Achmad Tjarta. 2002. *Buku Ajar Patologi I (Umum) edisi Kesatu*. Jakarta: Sagung Seto. 347 halaman.
30. Pratiwi, Sylvia T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Erlangga. 237 halaman.
31. Retnowati, Atik, et. al. 2019. *Status Keanekaragaman Hayati Indonesia: Kekayaan Jenis Tumbuhan dan Jamur Indonesia*. Jakarta: LIPI Press. 139 halaman.

32. Riadi, Edi. 2016. *Statistika Penelitian*. Yogyakarta: CV. Andi Offset. 442 halaman.
33. Soedarto. 2015. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: CV. Sagung Seto
34. Tranggono, Retno Iswari dan Fatma Latifah. 2007. *Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama. 223 halaman.
35. Winastri, Ni Luh Arisa Prahastuti; Handa Muliastuti; Ernin Hidayati. 2020. Aktivitas Antibakteri Air Perasan dan Rebusan Daun Calincing (*Oxalis corniculata* L.) terhadap *Streptococcus mutans*. *Berita Biologi*. 19(1), 223-230.
36. USDA (United States Department of Agriculture). "Classification for Kingdom Plantae Down to Species *Ageratum Conyzoides* Linn.". Tersedia <https://plants.usda.gov/home/plantProfile?symbol=AGCO>