

## **BAB V**

### **HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Gambaran umum Lokasi penelitian**

Penelitian uji daya hambat ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* dilakukan pada tanggal 20 Mei s/d 14 Juni 2024.

1. Pada Lrg. Epic, Jl. Ade Irma Nasution, Watubangga, Kec. Baruga, Kota Kendari, Sulawesi Tenggara, dilakukan pengambilan sampel daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*).
2. Pada tanggal 20 Mei s/d 27 Mei 2024, di Poltekkes Kemenkes Kendari, dilakukan pengeringan daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) menggunakan *oven dry vacuum*
3. Pada tanggal 7 Juni s/d 9 Juni 2024, di Laboratorium Farmasi Bina Husada Kendari, dilakukan proses maserasi daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*).
4. Pada tanggal 10 Juni s/d 14 Juni 2024, di Laboratorium Mikrobiologi Terpadu Bina Husada Kendari, dilakukan pembuatan ekstrak daun kental, pembuatan media, pewarnaan gram bakteri, peremajaan bakteri, pembuatan konsentrasi ekstrak, penanaman kertas cakram, inkubasi media, pengamatan dan pengukuran hasil.

#### **B. Hasil penelitian**

Hasil pengukuran zona hambat yang terbentuk disekitar kertas cakram diukur menggunakan jangka sorong dan disajikan dalam bentuk tabel, sebagai berikut:

**Tabel 5.1** Hasil Pengukuran Zona Hambat Ekstrak Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides L*) Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumoniae*

No.	Perlakuan	Waktu Pengamatan	Diameter Zona Hambat (mm)		Rata-Rata (mm)	Interpretasi
			P1	P2		
1.	Konsentrasi 30%	2 x 24 jam	-	-	-	Tidak ada zona hambat
2.	Konsentrasi 40%	2 x 24 jam	-	-	-	Tidak ada zona hambat
3.	Konsentrasi 50%	2 x 24 jam	-	-	-	Tidak ada zona hambat
4.	Konsentrasi 60%	2 x 24 jam	-	-	-	Tidak ada zona hambat
5.	Konsentrasi 70%	2 x 24 jam	-	-	-	Tidak ada zona hambat
6.	Konsentrasi 80%	2 x 24 jam	-	3,6	1,8	Resisten
7.	Konsentrasi 90%	2 x 24 jam	6,3	4,65	5,475	Resisten
8.	Konsentrasi 100%	2 x 24 jam	8,5	4,8	6,65	Resisten
<b>Kontrol Negatif</b>		2 x 24 jam	-	-	-	Tidak ada zona hambat
<b>Kontrol Positif</b>		2 x 24 jam	30,35	39,15	34,75	Sensitif

(Sumber: Data Primer, 2024)

Keterangan:

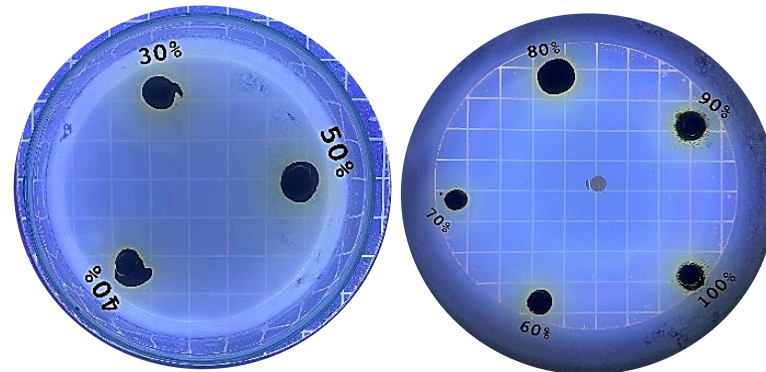
**Resisten:**  $\leq 12$  mm, **Intermediet:** 13-17 mm, **Sensitif:**  $\geq 18$  mm

**P1:** Pengulangan 1, **P2:** Pengulangan 2

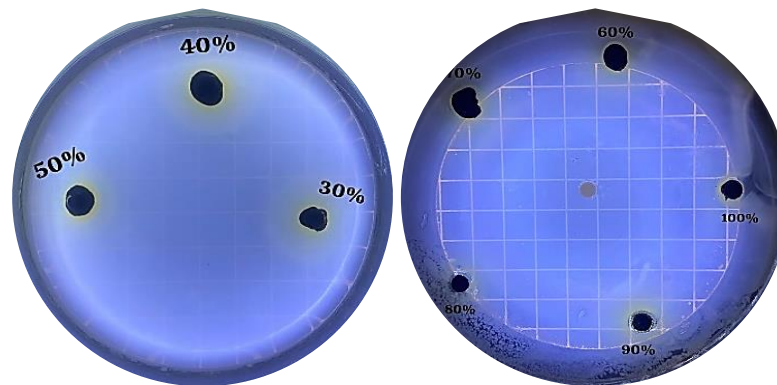
Berdasarkan tabel diatas, dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali (duplo) pada masing-masing konsentrasi dengan hasil yang diperoleh pada konsentrasi 30%, 40%, 50%, 60% dan 70% tidak memiliki daya hambat dan pada konsentrasi 80%, 90% dan 100% memiliki daya hambat dalam kategori resisten atau lemah. Kontrol positif (+) yang digunakan adalah antibiotik kloramfenikol yang berperan sebagai pembanding memiliki respon daya hambat dalam kategori sensitif atau kuat terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

Kontrol negatif (-) yang digunakan adalah aquades, tidak memiliki respon daya hambat.

Dengan memperhatikan zona bening di sekitar kertas *disk* menunjukkan adanya penghambatan terhadap *Klebsiella pneumoniae*, hasilnya disajikan dalam bentuk gambar berikut:

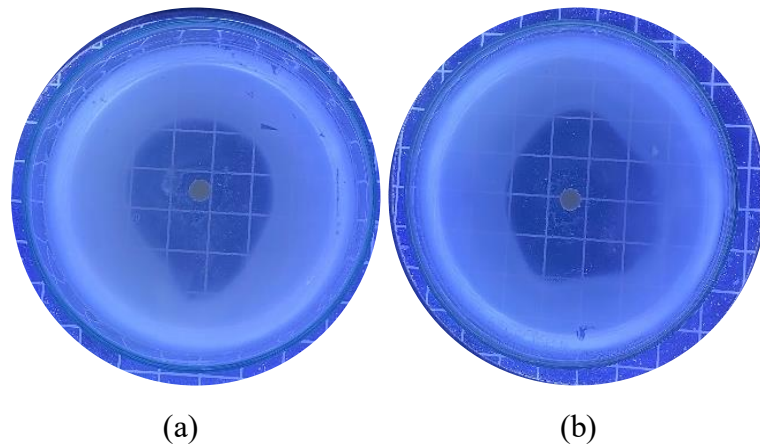


(a)



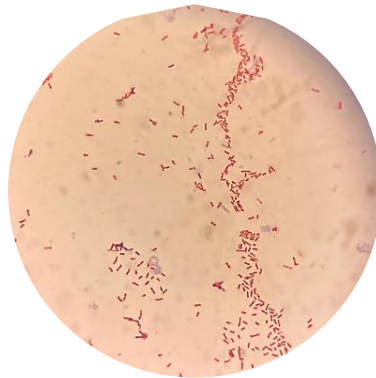
(b)

**Gambar 5.1** Hasil Pengamatan pada Konsentrasi Berbeda dan Kontrol Negatif (Aquades) Pengulangan Pertama (a) dan Kedua (b) Menggunakan Metode *Kirby-Bauer* (Sumber: Data Primer, 2024)



**Gambar 5.2** Hasil Pengamatan Kontrol Positif (Kloramfenikol)  
Pengulangan Pertama (a) dan Kedua (b)  
(Sumber: Data Primer, 2024)

Sebelum dibuat suspensi bakteri yang akan diinokulasikan diatas media *Mueller Hinton Agar* (MHA) terlebih dahulu dilakukan identifikasi terhadap bakteri uji dengan cara pewarnaan gram. Dari hasil pengamatan di bawah mikroskop (gambar 5.5), menunjukkan ciri-ciri gram negatif dan bentuk basil pendek, artinya bakteri yang digunakan adalah murni bakteri *Klebsiella pneumoniae*.



**Gambar 5.3** Hasil Pengamatan Bakteri *Klebsiella pneumoniae*  
Menggunakan Mikroskop Perbesaran 100x  
(Sumber: Data Primer, 2024)

### C. Pembahasan

Dalam penelitian ini, digunakan kontrol positif berupa antibiotik kloramfenikol dan kontrol negatif berupa aquades bertujuan sebagai pembanding.

Kloramfenikol mampu mencegah pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) karena berspektrum luas (Rahman & Prihartini, 2021). Berdasarkan CLSI (2021), diameter zona hambat antibiotik kloramfenikol terhadap famili *Enterobacteriaceae* dibagi menjadi tiga kategori, yaitu resisten ( $\leq 12$  mm), intermediet (13-17 mm) dan sensitif ( $\geq 18$  mm). Pada penelitian ini, rata-rata zona hambat antibiotik kloramfenikol sebagai kontrol positif adalah 34,75 mm yang tergolong sensitif atau kuat dalam menghambat pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae*. Sesuai dengan mekanisme kerjanya dapat menghalangi sintesis protein dengan mengikat subunit ribosom 50S (Chaudari dkk, 2023).

Aquades tidak mempengaruhi pertumbuhan bakteri karena bersifat netral (Gerung dkk, 2021). Penelitian ini menunjukkan tidak adanya daya hambat, artinya aquades sebagai kontrol negatif tidak dapat menghalangi pertumbuhan bakteri, sehingga dapat digunakan sebagai pelarut.

Berdasarkan hasil penelitian (tabel 5.1), konsentrasi 30%, 40%, 50%, 60% dan 70% tidak terdapat zona hambat (0 mm) disekitar kertas cakram dikarenakan beberapa faktor. Sedangkan pada konsentrasi 80%, 90% dan 100% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* dengan rata-rata diameter zona hambat masing-masing sebesar 1,8 mm, 5,47 mm dan 6,65 mm, berdasarkan ketentuan CLSI (2021) zona hambat  $\leq 12$  mm termasuk kategori daya hambat yang resisten atau lemah.

Penelitian yang dilakukan oleh Trinh dkk (2020), menunjukkan seluruh bagian *aerial* tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides* L) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* menggunakan metode sumuran pada konsentrasi 100 mg/ml dengan zona hambat 18 mm yang termasuk dalam kategori sensitif. Sedangkan dalam penelitian ini hanya menggunakan sebagian tanaman yaitu daunnya dengan metode cakram sehingga menyebabkan kurang efektifnya kerja senyawa metabolit sekunder dalam menghalang pertumbuhan

bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Searah dengan penelitian Nurhayati dkk (2020), menunjukkan metode sumuran memperoleh aktivitas antibakteri lebih besar dibandingkan metode cakram pada bakteri *Escherichia coli* maupun *Staphylococcus aureus*.

Tidak sejalan dengan hasil penelitian oleh Asri (2021), ekstrak daun juwet (*Syzygium cumini*) menggunakan metode cakram efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* pada konsentrasi 50% 60%, 70%, 80%, 90% dan 100% menghasilkan diameter zona hambat pada masing-masing konsentrasi sebesar 16 mm, 16,67 mm, 17,58 mm, 18,33 mm, 19,75 mm dan 21,42 mm. Pada konsentrasi 50% 60% dan 70% termasuk dalam kategori intermediet sedangkan pada konsentrasi 80%, 90% dan 100% termasuk dalam kategori sensitif.

Hasil penelitian oleh Hasyim (2020), menunjukkan ekstrak etanol 70% daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) dengan metode difusi cakram efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata zona hambat yang dihasilkan pada konsentrasi 15% (22,7 mm), 25% (25,13 mm) dan 35% (26,94 mm) yang termasuk dalam kategori sensitif. Dalam penelitian tersebut menggunakan etanol 70% yang sifatnya polar sehingga senyawa metabolit seperti *flavonoid glikosida*, *saponin*, *tanin* yang bersifat polar lebih banyak terlarut. Sedangkan dalam penelitian ini menggunakan etanol 96% yang bersifat semi polar, sehingga senyawa metabolit yang cenderung larut adalah *flavonoid aglikon* seperti *isoflavan*, *flavanon*, *flavon*, dan *flavonol* (Kumalasari dkk, 2023).

Ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) dalam penelitian ini hanya dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* pada konsentrasi tinggi yaitu 80%, 90% dan 100% namun masih dalam kategori resisten, tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian Safrida dan Rahmah (2021), menggunakan ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 25%, 50%, 75% tidak menunjukkan daya hambat dan pada konsentrasi 100% memiliki diameter daya hambat sebesar 5 mm yang termasuk kategori resisten.

Penelitian ini sejalan dengan penelitian oleh Widjaja (2021), karena menunjukkan ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) terhadap bakteri *Escherichia coli* menggunakan metode cakram pada masing-masing konsentrasi 25%, 50%, dan 75% tidak memiliki hambatan sehingga tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Penelitian sejalan lainnya oleh Omole dkk (2019), menggunakan metode sumuran menunjukkan hasil aktivitas antibakteri ekstrak etanol akar bandotan (*Ageratum conyzoides L*) lebih tinggi terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* pada konsentrasi 6,25 µg/ml, 12,5 µg/ml, 25 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml, dan 200 µg/ml dibandingkan ekstrak etanol daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) yang tidak memiliki zona hambat pada masing-masing konsentrasi.

Lapisan dinding sel bakteri gram negatif lebih lengkap daripada bakteri gram positif karena mempunyai tiga lapisan, yaitu lapisan luar (lipopolisakarida) yang bersifat non polar karena terdiri dari lemak, lapisan tengah (peptidoglikan) dan lapisan dalam (membran sitoplasma). Dengan adanya lapisan luar tersebut mencegah penetrasi senyawa antibakteri polar ke dalam dinding sel bakteri gram negatif (Yasmin, 2023) sehingga hanya konsentrasi tinggi yang memiliki zona hambat, karena senyawa metabolit lebih banyak pada konsentrasi tinggi.

Jumlah senyawa dan konsentrasi yang digunakan, sebaran bakteri, ketebalan media, komposisi media, suhu inkubasi, waktu dan suhu saat difusi sebelum inkubasi merupakan faktor yang dapat mempengaruhi kerja dari antibakteri (Eloff, 2019).

Selain faktor-faktor di atas, pengeringan daun juga dapat menjadi faktor yang mempengaruhinya, karena berdasarkan hasil penelitian Mahrita dkk (2022), semakin lama waktu untuk mengeringkan teh semakin rendah aktivitas antioksidan, kadar air dan rendemennya, sedangkan kadar abu tinggi, artinya kerja antioksidan, kadar air dan abu, rendemen, sifat organoleptik aroma dan warna dapat berpengaruh karena lamanya pengeringan.

Proses pengeringan dalam penelitian ini dilakukan bersamaan dengan daun lain yaitu daun sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) yang memiliki proses

pengeringan yang lebih lama dibanding daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) sehingga waktu dalam proses pengeringan lebih dari 150 menit.

Beberapa faktor virulen yang berkontribusi terhadap patofisiologi *Klebsiella pneumoniae* meliputi produksi polisakarida kapsul (CPS), lipopolisakarida (LPS), fimbria, protein membran luar (OMP), dan siderofor pengikat. Bakteri *Klebsiella pneumoniae* memiliki kapsul polisakarida sebagai peran utama dari patogenisitasnya yang terdiri dari polisakarida asam kompleks. Lapisannya yang kuat dapat mencegah kematian bakteri akibat faktor serum bakterisida dan melindungi bakteri dari fagositosis oleh granulosit polimorfonuklear. Hal ini dilakukan terutama dengan menghambat aktivasi atau penyerapan komponen komplemen, terutama C3b. Bakteri ini juga menghasilkan banyak adhesin. Adhesin ini dapat berupa fimbria atau nonfimbria, masing-masing dengan spesifisitas reseptor yang berbeda. Adhesin ini membantu mikroorganisme menempel pada sel inang, hal tersebut sangat penting bagi proses infeksi (Qureshi, 2022).

Adapun zona hambat yang terbentuk karena daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder seperti *flavonoid*, *saponin* dan *tanin* yang berfungsi sebagai antibakteri. *Flavonoid* dapat menghambat fungsi kerja membran sel bakteri dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut yang dapat menyebabkan rusaknya membran sel yang diikuti keluarnya senyawa intraseluler. *Saponin* akan membentuk ikatan polimer yang kuat dan menyebabkan rusaknya porin yang menjadi tempat keluar masuknya senyawa sehingga permeabilitas membran sel akan berkurang dan menyebabkan terhambatnya pertumbuhan bakteri. *Tanin* akan membentuk senyawa kompleks hidrofobik dengan protein dan menginaktivasi enzim serta protein transport pada dinding sel sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Rahmawati dkk, 2020).

Kandungan dari daun yang berperan dalam pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* tidak diketahui secara pasti karena peneliti tidak melakukan uji terhadap senyawa *flavonoid*, *saponin* dan *tanin*. Adapun zona hambat yang



terbentuk belum mendekati kemampuan daya hambat daun lain terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* (tabel 2.1).

Beberapa faktor lain yang menjadi pemicu kurang efektifnya kerja antibakteri kemungkinan disebabkan karena pemilihan daun tua bandotan (*Ageratum conyzoides L*) tidak berdasarkan kriteria khusus, suhu inkubator yang tidak stabil, sebaran bakteri uji yang tidak merata pada media, metode yang digunakan dan lama waktu pengeringan.