

## **BAB V**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Gambaran Umum Lokasi Penelitian**

Penelitian Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) Terhadap pertumbuhan Bakteri *Salmonella typhi* dilakukan pada tanggal 20 Mei s/d 14 Juni 2024.

1. Pengambilan sampel daun bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) dilakukan di Jl. Motaha, belakang kantor pengairan PU, Desa wonua sangia, Kecamatan Lando, Kabupaten Konawe Selatan.
2. Pengeringan daun bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) menggunakan oven *dry vacuum* dilakukan di Poltekkes Kemenkes Kendari pada tanggal 20 Mei s/d 27 Mei 2024
3. Proses maserasi dilakukan di Laboratorium Farmasi Politeknik Bina Husada Kendari pada tanggal 7 Juni s/d 9 Juni 2024
4. Pembuatan ekstrak kental, pembuatan media *Mueller Hinton Agar* (MHA), pewarnaan gram bakteri, peremajaan bakteri, pembuatan konsentrasi ekstrak, pembuatan lubang sumuran, inkubasi media, pengamatan dan pengukuran hasil dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Terpadu Politeknik Bina Husada Kendari.

#### **B. Hasil Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* menggunakan 5 konsentrasi ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) menggunakan metode sumuran di peroleh hasil pengukuran zona hambat yang terbentuk disekitar lubang sumuran dan diukur menggunakan jangka sorong, disajikan dalam bentuk tabel, sebagai berikut:

**Tabel 4.** Hasil Pengukuran Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) Terhadap Bakteri Pertumbuhan *Salmonella typhi*

No	Perlakuan	Waktu Pengamatan	Diameter Zona Hambat (mm)		Rata-Rata	Interpretasi
			P1	P2		
1.	Konsentrasi 20%	2x24 jam	-	-	-	Tidak ada daya hambat
2.	Konsentrasi 40%	2x24 jam	-	-	-	Tidak ada daya hambat
3.	Konsentrasi 60%	2x24 jam	-	-	-	Tidak ada daya hambat
4.	Konsentrasi 80%	2x24 jam	4,075	4,375	4,225	Resisten
5	Konsentrasi 100%	2x24 jam	6,05	7,2	6,625	Resisten
Kontrol Positif		2x24 jam	31	36	33,5	Sensitif
Kontrol Negatif		2x24 jam	-	-	-	Tidak ada daya hambat

**Sumber: (Data Primer, 2024)**

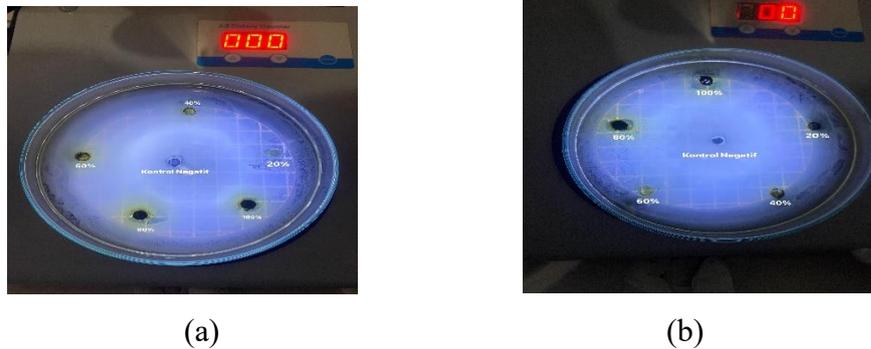
Keterangan:

Resisten :  $\leq 20$  mm                      P1: Pengulangan 1  
 Intermediet : 20-30 mm                  P2: Pengulangan 2  
 Sensitif :  $\geq 31$  mm

Berdasarkan tabel 3, hasil penelitian Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) Terhadap pertumbuhan Bakteri *Salmonella typhi* yang dilakukan dengan 2 kali pengulangan dengan menggunakan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100% hasil interpretasi memiliki respon daya hambat yang lemah (Resisten). Kontrol positif (+) yaitu antibiotik *Ciprofloxacin* yang digunakan sebagai pembanding terhadap daya hambat ekstrak etanol daun bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) memiliki respon daya hambat yang kuat (Sensitif) terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*. Kontrol negatif (-) yaitu DMSO digunakan sebagai pembanding daya hambat ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) yang memiliki respon tidak mempengaruhi pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*.

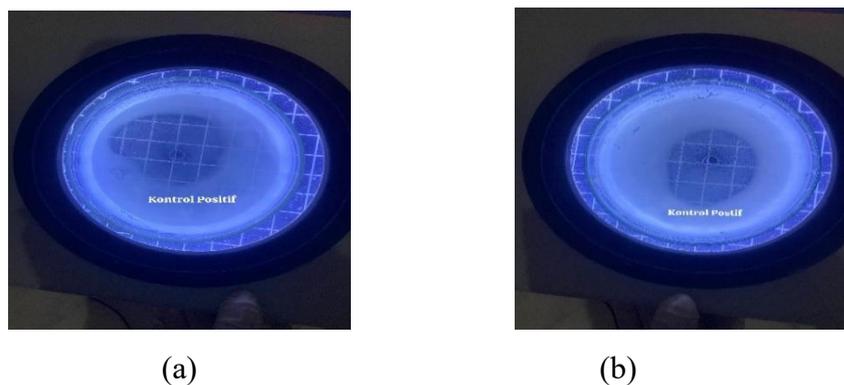
Pengamatan hasil penelitian dilakukan dengan memperhatikan zona bening yang terbentuk disekitar lubang sumuran sehingga menunjukkan adanya daya

hambat terhadap bakteri *Salmonella typhi* yang diukur menggunakan jangka sorong dan dapat dilihat pada gambar berikut:



**Gambar 5.1:** Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) Pada Konsentrasi 5 Konsentrasi dan Kontrol Negatif Pengulangan Pertama (a) dan Kedua (b)

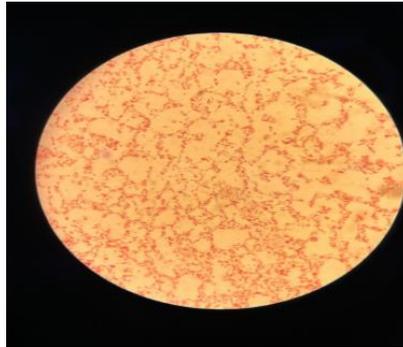
(Sumber: *Data Primer*, 2024).



**Gambar 5.2:** Hasil Uji Daya Hambat Kontrol Positif Pengulangan Pertama (a) dan Kedua (b)  
Sumber: (*Data Primer*, 2024).

Sebelum dilakukan uji daya hambat ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*. Terlebih dahulu dilakukan pemurnian bakteri untuk memastikan bahwa bakteri yang telah dibiakkan adalah bakteri *salmonella typhi* tanpa ada kontaminasi dari mikroba lain dan dilanjutkan dengan pewarnaan gram dengan tujuan untuk melihat morfologi dari bakteri *salmonella typhi*. Berdasarkan Pengamatan pewarnaan gram bakteri yang telah dilakukan menunjukkan bahwa morfologi bakteri bersifat gram negative berbentuk batang (basil), mempunyai flagella, berkapsul,

tidak berspora dan berwarna merah setelah dilakukan pengecetan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Kasim (2020) bahwa bakteri *salmonella typhi* adalah gram negative berbentuk batang (basil), berukuran  $\pm 2\mu m - 3\mu m$ , mempunyai flagella, bakteri dengan pertumbuhan anaerob fakultatif, berkapsul, tidak berspora dan berwarna merah setelah dilakukan pengecetan.



**Gambar 5.3:** Hasil Identifikasi Pewarnaan Gram Bakteri *Salmonella typhi* dibawah mikroskop perbesaran 100x  
**Sumber:** (Data Primer, 2024)

### C. Pembahasan

Pengujian daya hambat ini dilakukan dengan metode sumuran yang di inkubasi selama 2x24 jam didalam incubator. Pengujian ini dilakukan dengan 2 kali pengulangan dengan menggunakan antibiotic *Ciprofloxacin* sebagai control positifnya, sedangkan control negatifnya menggunakan DMSO. *Ciprofloxacin* adalah antibiotic golongan beta lactam, yang bekerja menghambat sintesis dinding sel bakteri terutama bakteri gram negative. *Salmonella thypi* adalah bakteri gram negative, sehingga *Ciprofloxacin* cocok digunakan untuk pengobatan penyakit demam tifoid (Susanti dkk, 2022).

*Dimethyl Sulfoxide* (DMSO) adalah salah satu pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa baik polar maupun non polar. DMSO merupakan senyawa yang memiliki toksisitas rendah, memiliki efek antiinflamasi, dan analgetic. Selain itu *Dimethyl Sulfoxide* merupakan pelarut ekstrak yang baik tanpa memberikan pengaruh dalam aktivitas penghambatan terhadap bakteri uji, sehingga baik digunakan untuk melarutkan ekstrak dan fraksi-fraksi daun bandotan. Fungsi control positif yaitu sebagai pembanding jika terjadi daya hambat pada larutan uji dimana ditandai dengan terbentuknya

zona bening disekitar lubang sumuran sebagai indicator zona hambat pada berbagai jenis konsentrasi dari perlakuan, sedangkan control negative berfungsi untuk memastikan prosedur yang dilakukan benar dimana ditandai dengan tidak terbentuknya zona bening disekitar lubang sumuran.

Rata-rata zona hambat yang terbentuk pada control positif dengan menggunakan antibiotik *Ciprofloxacin* dan didapatkan zona hambat sebesar 33,5 mm yang termasuk dalam kategori sensitive atau kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*, hal ini sesuai dengan cara kerja dari antibiotic *Ciprofloxacin* yaitu dengan menghambat enzim DNA gyrase, dimana enzim DNA gyrase ini sangat penting dalam pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*. Pada control negative yang berupa *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO) yang digunakan menunjukkan tidak adanya zona hambat yang terbentuk, hal ini membuktikan bahwa *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO) sebagai control negative tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* sehingga dapat digunakan sebagai pelarut (Susanti dkk, 2022).

Hasil pengamatan yang telah dilakukan, didapatkan hasil bahwa ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) pada konsentrasi yang lebih tinggi memiliki daya hambat yang jauh lebih kecil jika dibandingkan dengan antibiotic *Ciprofloxacin* sehingga dikategorikan resisten atau tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*. Tidak terbentuknya zona hambat bakteri pada konsentrasi yang rendah disebabkan juga dapat dipengaruhi oleh sifat bakteri *Salmonella typhi* itu sendiri, bakteri *Salmonella typhi* merupakan bakteri gram negative yang mempunyai dinding sel yang kompleks jika dibandingkan dengan bakteri-bakteri gram positif lainnya, dinding sel yang kompleks menyebabkan zat senyawa antimikroba sulit masuk ke dalam sel bakteri sehingga zona hambat yang terbentuk lebih kecil atau bahkan tidak membentuk zona hambat (Kasim, 2020). Hal ini disebabkan karena, semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan maka akan semakin banyak jumlah zat senyawa antibakteri yang terlarut sehingga memungkinkan adanya penetrasi senyawa antibakteri yang masuk ke dalam sel bakteri pada konsentrasi yang lebih tinggi (Widiastuti dkk, 2023). Menurut Lingga (2016), dalam Alouw (2022)

dengan meningkatnya konsentrasi senyawa antibakteri hal tersebut dapat mempercepat penetrasi senyawa zat antimikroba masuk kedalam sel antibakteri sehingga menyebabkan kematian sel.

Adanya zona hambat yang terbentuk disekitar lubang sumuran dipengaruhi oleh kandungan dari daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) yang memiliki kandungan senyawa aktif diantaranya yaitu, *flavonoid*, *saponin* dan juga *tanin* yang dapat dimanfaatkan sebagai senyawa antibakteri dengan mekanisme kerjanya yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*. Zat senyawa *flavonoid* berperan dalam mengganggu proses replikasi DNA dari bakteri *Salmonella typhi*. *Saponin* berperan dalam menurunkan tegangan permukaan dinding sel antibakteri, akibatnya bakteri akan mengalami kebocoran sehingga mengakibatkan kematian sel. Sedangkan *tanin* akan berperan dalam menghambat enzim *reverse transkriptase* dan DNA *topoisomerase* sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk. *Tanin* memiliki aktivitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktifkan adhesin sel mikroba, menginaktifkan enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel (Nurhayati dkk, 2019).

Hasil tabulasi data pengamatan pada tabel 3 menunjukkan pada konsentrasi 20%, 40% dan 60% setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 2x24 jam baik pada percobaan 1 (P1) maupun pada percobaan 2 (P2) tidak ditemukan zona bening disekitar lubang sumuran. Namun pada konsentrasi 80% dan 100% ditemukan adanya zona bening disekitar lubang sumuran dengan diameter zona hambat pada konsentrasi 80% yaitu rata-rata zona hambat sebesar 4,22 mm dan pada konsentrasi 100% memiliki rata-rata zona hambat sebesar 6,62 mm. Jika dilihat dari ketentuan (CLSI, 2021), bahwa zona hambat  $\leq 20$  mm dikategorikan zona hambat yang lemah (resisten), sedangkan zona hambat  $\geq 31$  mm dikatakan bahwa zona hambat tersebut termasuk zona hambat yang kuat (sensitive). Maka dapat dikatakan bahwa respon daya hambat pada konsentrasi 100% dari ekstrak daun bandotan termasuk dalam respon daya hambat yang resisten atau tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Anggriani (2021) menunjukkan Ekstrak Metanol Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) Terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode cakram pada masing-masing konsentrasi 10%, 20%, dan 30% memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak pada konsentrasi 10% sebesar (7,3 mm), pada konsentrasi 20% memiliki zona hambat sebesar (8,1 mm) dan pada konsentrasi 30% memiliki zona hambat sebesar (8,9 mm). sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol daun bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) pada konsentrasi terendah 10% dan pada konsentrasi tertinggi 30% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, tetapi masih dalam kategori yang lemah (resisten).

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh safrida (2021) yang menunjukkan bahwa Ekstrak Etanol Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan menggunakan metode cakram pada masing-masing konsentrasi 25%, 50% dan 75% dari ketiga konsentrasi yang digunakan tidak terbentuk zona hambat, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) tidak efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Hasil penelitian ini juga sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Almira (2021) tentang Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Bandotan (*Ageratum Conyzoides L.*) Terhadap Bakteri *Streptococcus Pyogenes* yang menunjukkan bahwa Ekstrak Etanol daun bandotan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *streptococcus pyogenes* dengan konsentrasi terendah 12,5% dengan zona hambat 11,75 mm dan konsentrasi tertinggi 100% dengan zona hambat 14, 52 mm. Hal tersebut menunjukkan bahwa Ekstrak Etanol daun bandotan tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *streptococcus pyogenes*.

Peneliti membandingkan penelitian ini dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Almira (2021) menggunakan daun yang sama yaitu daun bandotan (*Ageratum Conyzoides L.*) dan dengan menggunakan konsentrasi

berbeda serta menggunakan bakteri yang berbeda untuk ekstrak daun bandotan yang telah dilakukan didapatkan hasil yang tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *salmonella typhi*. Pada penelitian ini didapatkan ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) pada konsentrasi 20%, 40%, dan 60% tidak terbentuk zona hambat. Sedangkan pada konsentrasi 80% didapatkan rata-rata zona hambat sebesar 4,22 mm dan pada konsentrasi tertinggi yaitu 100% didapatkan rata rata sebesar 6,62 mm yang masih jauh berbeda jika dibandingkan dengan rata-rata zona hambat yang didapatkan oleh Almira (2021) yaitu sebesar 14,52 mm. Hal tersebut dapat dikarenakan oleh sifat bakteri yang berbeda, bakteri *Sreptococcus pygones* merupakan bakteri gram positif sedangkan penelitian yang dilakukan oleh peneliti menggunakan bakteri *Salmonella typhi* yang merupakan bakteri gram negative. Terdapat Perbedaan pada dinding sel antara bakteri gram positif dan negative. Bakteri gram positif mempunyai dinding sel yang lebih mudah dirusak karena dinding sel pada bakteri gram positif memiliki membrane sel yang hanya terdiri atas satu lapisan saja yaitu fosfolipid, sehingga diameter zona hambat yang dihasilkan lebih besar, sedangkan bakteri gram negative mempunyai dinding sel yang kompleks yang tersusun atas 80% fosfolipid sehingga lebih sulit dirusak oleh zat antimikroba, sehingga diameter zona hambat yang dihasilkan lebih kecil (Nurhayati, 2019). Bakteri *Salmonella typhi* ini merupakan bakteri gram Negatif dengan dinding selnya yang tersusun atas polisakarida yang berikatan dengan protein (peptidoglikan) yang berfungsi mempertahankan struktur tubuh bakteri dan melindungi sel bakteri. Pada bagian luar dinding sel bakteri *Salmonella typhi* terdapat kapsul yang tersusun atas senyawa glikoprotein yang berfungsi untuk sebagai zat pelindung dan sebagai system pertahanan diri bagi bakteri *Salmonella typhi* serta melindungi sel bakteri dari zat asing atau zat antimikroba (Kasim, 2020). Hal tersebut yang menyebabkan bakteri *Salmonella typhi* lebih sulit dirusak oleh zat asing atau zat antimikroba.

Bakteri *Salmonella typhi* merupakan bakteri yang menyebabkan penyakit demam tifoid, bakteri ini ditularkan melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi oleh kotoran atau tinja dari seseorang pengidap atau

penderita demam tifoid. Bakteri *Salmonella typhi* akan masuk melalui mulut dan hanyut ke dalam saluran pencernaan. Apabila bakteri masuk ke dalam tubuh manusia, tubuh akan berusaha untuk mengeluarkannya. Akan tetapi, jika terdapat bakteri *Salmonella typhi* dalam jumlah yang banyak ditubuh manusia, maka bakteri *Salmonella typhi* akan berhasil mencapai usus halus dan berusaha untuk masuk ke dalam tubuh yang akhirnya dapat merangsang sel darah putih untuk menghasilkan interleukin dan merangsang terjadinya gejala demam, perasaan lemah, sakit kepala, nafsu makan berkurang, sakit perut, gangguan buang air besar serta gejala lainnya.

Menurut Padang (2019) Terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi diameter zona hambat bakteri yaitu, temperature inkubasi, kekeruhan suspense bakteri, persebaran media dan adanya pergeseran atau perpindahan media. kekeruhan suspensi juga dapat mempengaruhi zona hambat yang terbentuk, oleh karena itu, pengukuran kekeruhan suspensi sebaiknya dilakukan menggunakan alat nephelometer (zeniusa dkk, 2019) agar lebih akurat ketika dibandingkan dengan *mc farland* 0.5%. Namun dengan adanya keterbatasan alat dilaboratorium sehingga pengukuran kekeruhan suspensi bakteri hanya dilakukan secara visual.

Persebaran media agar yang tidak merata juga dapat menjadi faktor yang mempengaruhi diameter zona hambat pertumbuhan bakteri, jika media pertumbuhan bakteri tidak tersebar dengan baik dalam cawan petri, hal ini menyebabkan kurangnya nutrient yang didapatkan oleh bakteri, sehingga dengan kurangnya nutrient bakteri tidak dapat tumbuh secara optimal, untuk ketebalan media agar yang efektif yaitu sekitar 4 mm (zeniusa, 2019). Pada penelitian ini, media *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang digunakan setelah dilakukan pengukuran pada media tersebut dan didapatkan ketebalan media sebesar 4 mm. sebaran media yang tidak merata disebabkan oleh metode yang digunakan pada saat proses inokulasi bakteri yaitu dengan menggunakan metode sebar (*spread plate*) dengan menggunakan batang pengaduk segitiga, sehingga dapat menyebabkan adanya penyebaran media yang tidak merata dan dapat menyebabkan adanya kontaminasi silang pada media (Mahrita dkk, 2022).

Selain itu, proses pengeringan pada penelitian ini dilakukan bersamaan dengan daun lain yaitu daun sintrong (*crassocephalum crepidioides*) yang memiliki proses pengeringan dengan waktu yang lebih lama jika dibandingkan dengan daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*), daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*), hanya membutuhkan pengeringan waktu selama 150 menit menjadi 180 menit dalam waktu pengeringannya, semakin lama waktu pengeringan, maka kadar air dalam daun juga akan semakin berkurang secara signifikan. Dengan kurangnya kadar air akibat lama waktu pengeringan, menurut Darmajana (2007) dalam Lestari dkk (2019), juga menyebutkan bahwa dengan bertambahnya waktu pengeringan maka kadar abu yang dihasilkan akan cenderung meningkat. Dimana dengan meningkatnya kadar abu maka akan menjadi tempat hidup bagi mikroba patogen, hal tersebut akan mempengaruhi kebersihan dari sampel daun yang dihasilkan karena menyebabkan adanya kontaminasi yang akan mempengaruhi kualitas dari ekstrak daun (Etika dkk, 2020).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan daya hambat dari ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) diketahui bahwa daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*. Akan tetapi kemampuan daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* masih berada dalam kategori lemah dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*, hal tersebut dikarenakan oleh sifat bakteri *Salmonella typhi* yang bersifat gram negative dan pada luar dinding sel bakteri *Salmonella typhi* terdapat kapsul yang tersusun atas senyawa glikoprotein yang berfungsi untuk sebagai zat pelindung dan sebagai system pertahanan diri bagi bakteri *Salmonella typhi* serta melindungi sel bakteri dari zat asing atau zat antimikroba. Hal tersebut yang menyebabkan bakteri *Salmonella typhi* lebih sulit dirusak oleh zat asing atau zat antimikroba. Selain itu, kecilnya zona hambat yang terbentuk dari ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya yaitu temperature inkubasi, kekeruhan suspense bakteri, persebaran media, adanya pergeseran atau perpindahan media, tebalnya media agar, persebaran media agar dan pada penelitian ini tidak dilakukan uji kandungan zat senyawa

metabolit sekunder seperti, *flavonoid, saponin, tanin, alkaloid, dan steroid* sehingga tidak diketahui secara spesifik kandungan metabolit sekunder dari daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) yang menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*.