

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Gambaran Umum Lokasi Penelitian

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

1. Pengambilan sampel daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) dilakukan di Jl. Cempaka, Kelurahan Lepo-Lepo, Kecamatan Baruga, Kota Kendari.
2. Pengeringan daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) menggunakan *oven dry vakum* dilakukan di Poltekkes Kemenkes Kendari pada tanggal 20 mei s/d 27 mei 2024.
3. Proses maserasi daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) dilakukan di Laboratorium Farmasi Politeknik Bina Husada Kendari pada tanggal 7 juni s/d 9 juni 2024.
4. Pembuatan ekstrak kental daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*), pembuatan media *Mueller Hinton Agar* (MHA), pewarnaan gram bakteri, peremajaan bakteri, pembuatan suspensi, pembuatan konsentrasi ekstrak, penanaman bakteri pada media MHA, pembuatan lubang sumurapada media MHA, pembuatan konsentrasi ekstrak, inkubasi media, pengamatan dan pengukuran hasil dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Terpadu Politeknik Bina Husada Kendari Jurusan Teknologi Laboratorium Medis pada tanggal 10 juni s/d 14 juni 2024.

Hasil Penelitian

Hasil penelitian ekstrak etanol daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki daya hambat pada masing-masing konsentrasi. Pengukuran diameter zona hambat yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel sebagai berikut:

Tabel 4. Hasil Pengukuran Daya Hambat Ekstrak Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides L*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*.

No	Perlakuan	Waktu Pengamatan	Diameter Zona Hambat (mm)		Rata-Rata	Inter-Pretasi
			P1	P2		
1.	Konsentrasi 20%	2x24 jam	0,95	1,725	1,33	Resisten
2.	Konsentrasi 40%	2x24 jam	1,2	2,2	1,7	Resisten
3.	Konsentrasi 60%	2x24 jam	2,075	4,625	3,35	Resisten
4.	Konsentrasi 80%	2x24 jam	5,275	5,85	5,56	Resisten
5	Konsentrasi 100%	2x24 jam	9	8,175	8,58	Resisten
Kontrol Positif		2x24 jam	21,15	22,4	21,77	Sensitif
Kontrol Negatif		2x24 jam	-	-	-	-

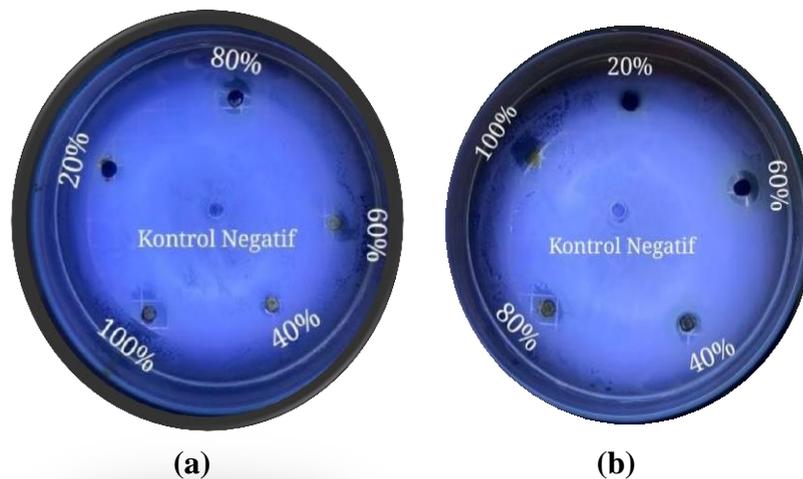
Sumber: (Data Primer, 2024)

Keterangan: Resisten : ≤ 12 mm, Intermediet : 13-17 mm, Sensitif : ≥ 18 mm, P1: Pengulangan 1, P2: Pengulangan 2.

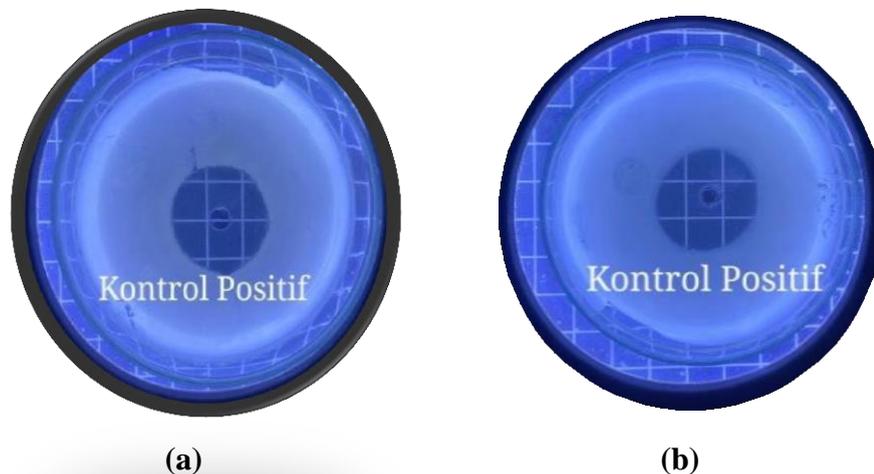
Berdasarkan Tabel 4 diatas, di peroleh rata rata Daya Hambat berturut-turut sebesar (1,33 mm), (1,7 mm), (3,35 mm), (5,56 mm), (8,58 mm) dan (21,77) diamati dalam 2x24 jam pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% hasil interpretasi memiliki respon daya hambat yang lemah (Resisten). Adapun kontrol positif (+) yang digunakan dalam penelitian ini adalah antibiotik *Chloramphenicol* merupakan pembanding terhadap daya hambat ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) dimana memiliki hasil daya hambat yang kuat (sensitif) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Sedangkan kontrol negatif (-) yang digunakan adalah *Dimetil Sulfoxide* (DMSO) sebagai

pembandingan daya hambat ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) tidak mempengaruhi pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

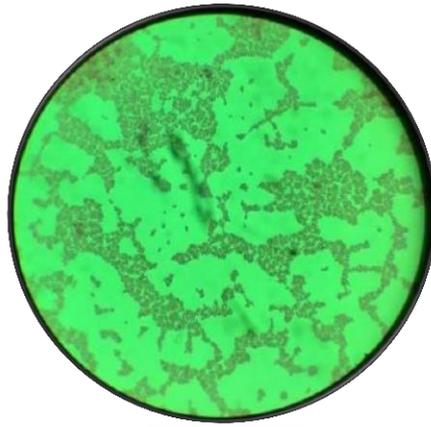
Pengamatan hasil penelitian dilakukan dengan memperhatikan zona bening yang terbentuk disekitar lubang sumuran sehingga menunjukkan adanya daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang dapat dilihat pada gambar berikut:



Gambar 8. Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides L*) pada konsentrasi berbeda dan Kontrol Negatif Pengulangan Pertama (a) dan Kedua (b) dengan menggunakan metode sumuran (Sumber: Data Primer, 2024).



Gambar 9. Hasil Uji Daya Hambat Kontrol Positif Pengulangan Pertama (a) dan Kedua (b) menggunakan metode sumuran (Sumber: Data Primer, 2024)



Gambar 10. Hasil pengamatan mikroskop bakteri *Staphylococcus aureus* dengan perbesaran 100x (Sumber: Data Primer).

C. Pembahasan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dengan menggunakan metode sumuran didapatkan hasil bahwa ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) memiliki daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, namun zona hambat ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) yang terbentuk sangat kecil dalam kategori resisten.

Penelitian ini menggunakan konsentrasi ekstrak yang berbeda, sehingga terdapat perbedaan diameter zona hambat yang terbentuk di tiap konsentrasi. Hasil penelitian zona hambat yang terbentuk (Tabel 3), menunjukkan konsentrasi 20%, 40% rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk sebesar (1,3375 mm) dan (1,7 mm). Hal ini dapat dipengaruhi oleh konsentrasi kandungan ekstrak yang terkandung sehingga daya hambat yang terbentuk sangat kecil. Kemampuan suatu bahan antibakteri dalam menghilangkan kelangsungan hidup suatu mikroorganisme tergantung pada konsentrasi bahan antibakteri tersebut (Rizki dkk, 2023). Pada konsentrasi 60%, 80%, 100% rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk sebesar (3,35 mm), (5,5625 mm) dan (8,5875 mm) disekitar lubang sumuran setelah di inkubasi pada suhu 37°C selama 2x24 jam. Hal ini disebabkan karena semakin tinggi

konsentrasi yang digunakan semakin tinggi senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides L.*). Menurut Widiastuti dkk (2023), bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* maka diameter zona hambat yang terbentuk semakin besar. Besarnya diameter zona hambat yang terbentuk disebabkan adanya kandungan senyawa antibakteri yang lebih banyak pada konsentrasi tinggi. Terbentuknya diameter zona hambat pertumbuhan bakteri menunjukkan ekstrak memiliki senyawa aktif antibakteri (Magvirah dkk, 2019). Tingginya konsentrasi senyawa antibakteri dapat mempercepat masuknya senyawa antibakteri ke dalam sel bakteri sehingga akan merusak metabolisme sel serta mengakibatkan kematian sel. Sebagian besar pertumbuhan bakteri akan semakin menurun akibat meningkatnya konsentrasi antibakteri yang ditambahkan (Alouw dkk, 2022).

Adanya zona hambat yang terbentuk dipengaruhi oleh kandungan senyawa metabolit sekunder pada daun bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) seperti *flavonoid*, *alkaloid*, *saponin*, *tanin* dan *steroid* yang dapat berfungsi sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Flavonoid* dapat membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan protein terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Fajri dkk, 2023). *Alkaloid* akan menyebabkan lapisan dinding sel tidak terbentuk dengan baik dengan mengganggu komponen penyusun *peptidoglikan* sel bakteri yang akan menyebabkan kematian sel bakteri (Widiani dkk, 2020). *Saponin* memiliki zat aktif permukaannya yang mirip detergen sehingga mampu menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran (Rosa dkk, 2023). *Tanin* mampu menghambat enzim *reverse transcriptase* dan DNA *topoisomerase* sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk. *Steroid* dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid, karena sifatnya yang permeabel terhadap senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun dan morfologi membran sel terganggu yang mengakibatkan sel mengalami lisis dan rapuh (Kumalasari dkk, 2020).

Zona hambat yang terbentuk juga dapat dipengaruhi oleh sifat bakteri tersebut. Bakteri gram positif lebih sensitif terhadap antibakteri karena struktur dinding selnya lebih sederhana dibandingkan struktur dinding sel bakteri gram negatif sehingga senyawa antibakteri lebih mudah menembus dinding sel bakteri gram positif (Ulfah, 2020). Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif, mempunyai struktur dinding sel peptidoglikan yang lebih tebal dibandingkan gram negatif (Hayati dkk, 2019). Struktur dinding sel terdiri dari sitoplasma, peptidoglikan yang mengandung lipid dan polisakarida, serta bagian terluar dari peptidoglikan mengandung asam teikhoat (Nabilla, 2022). Dinding sel bakteri yang tersusun oleh polisakarida lebih mudah rusak dibanding dinding sel yang tersusun oleh fosfolipid. Bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki dinding sel yang terdiri dari 50% lapisan peptidoglikan sehingga membuat bakteri *Staphylococcus aureus* bersifat sangat sensitif terhadap antibiotik (Hamidah, 2019).

Penelitian ini digunakan kontrol positif dan kontrol negatif yang bertujuan sebagai pembandingan dalam menentukan kemampuan ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Rata-rata hasil pengukuran zona hambat kontrol positif yaitu *Chloramphenicol* dengan dua kali pengulangan adalah 21,7 mm yang dikategorikan sensitif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini dikarenakan *Chloramphenicol* adalah antibiotik bakteriostatik berspektrum luas yang sensitif terhadap organisme aerobik dan anaerobik gram positif dan gram negatif (Pattipeilohy dkk, 2022). Mekanisme kerja *Chloramphenicol* dengan cara menghambat sintesis protein bakteri atau *enzim peptidil transferase* yang berperan sebagai katalisator untuk membentuk ikatan-ikatan peptide pada proses sintesis protein bakteri (Wulandari dkk, 2022). Kemudian hasil pengukuran zona hambat pada kontrol negatif adalah 0 mm yang menunjukkan bahwa kontrol negatif tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal tersebut disebabkan karena pelarut DMSO tidak memiliki kemampuan dalam menghambat bakteri dan mampu melarutkan semua senyawa yang bersifat polar, nonpolar dan semipolar

sehingga pelarut ini merupakan pelarut ekstrak yang baik karena tidak memberikan pengaruh dalam aktivitas penghambatan bakteri (Rizki dkk, 2022).

Berdasarkan standar ketentuan CLSI (2021), bahwa zona hambat ≤ 12 mm dikategorikan respon daya hambat lemah (Resisten), zona hambat 13-17 mm dikategorikan respon daya hambat sedang (Intermediet) dan zona hambat ≥ 18 mm dikategorikan respon daya hambat sangat kuat (Sensitif). Jika dilihat pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) memiliki daya hambat yang lemah (Resisten) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Berdasarkan (Tabel 3) hasil penelitian Ariani dkk (2020), ekstrak daun kemangi terhadap *Staphylococcus aureus* menggunakan metode sumuran rata-rata zona hambat pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100%, adalah, (2,26 mm), (4,29 mm), (6,49 mm), (8,10 mm), (10,08 mm). Hal ini menunjukkan bahwa semua konsentrasi ekstrak daun senduduk dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dalam kategori lemah (Resisten). Dalam penelitian Ariani dkk (2020), dilakukan uji fitokimia terhadap kandungan senyawa metabolik sekunder yang terdiri senyawa *Flavonoid, Alkaloid, Saponin* dan *Tanin*.

Hasil penelitian ini tidak sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Hasyim (2022), mengenai ekstrak daun bandotan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki aktivitas antibakteri. Pada konsentrasi tertinggi 35% menghasilkan zona hambat terbesar dengan hasil (26, 94 mm). Sedangkan pada penelitian ini konsentrasi 40% terbentuk zona hambat yang lemah sebesar (1,7 mm). Hal ini dapat dipengaruhi oleh perbedaan konsentrasi pelarut yang digunakan. Menurut Riwanti dkk (2020), Perbedaan konsentrasi pelarut etanol dapat mempengaruhi kelarutan senyawa *flavonoid* dalam pelarut. Semakin tinggi konsentrasi etanol maka semakin rendah tingkat kepolaran suatu pelarut. Pada penelitian Hasyim (2022) pelarut yang digunakan berupa etanol 70% sedangkan pada penelitian ini etanol yang digunakan etanol 96%. Etanol 70% merupakan pelarut yang lebih polar dibandingkan etanol 96% dan

lebih non polar dari etanol 60% sehingga senyawa *flavonoid* yang sifatnya polar akan cenderung terlarut lebih banyak dalam etanol 70% (Dinurrosifa, 2020). Hal tersebut sejalan dengan penelitian Riwanti dkk (2020), tentang pengaruh konsentrasi ekstrak etanol 50%, 70% dan 96% terhadap kadar *flavonoid* total *Sargassum polycystum* yang menyatakan bahwa pelarut efektif untuk ekstraksi senyawa *flavonoid* total adalah pelarut etanol dengan konsentrasi 70%.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Jungjunan dkk (2023), ekstrak etanol daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan difusi cakram rata rata zona hambat pada konsentrasi 50%, 70% dan 100% sebesar 6,79 mm, 8,75 mm, dan 9,45 mm. Hal ini menunjukkan semua konsentrasi ekstrak daun bandotan memiliki daya hambat yang lemah dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*.

Penelitian yang dilakukan oleh Nurbidayah dkk, (2024) ekstrak daun bandotan terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan konsentrasi 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100%, memiliki aktivitas antibakteri yang lemah pada konsentrasi 10% tidak ada zona hambat yang terbentuk namun pada konsentrasi 100% zona hambat yang terbentuk 10,52 mm.

Penelitian yang dilakukan oleh Safrida (2021), ekstrak etanol daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) terhadap bakteri *Escherichia coli* tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 25%, 50%, 75 tidak memiliki zona hambat, sedangkan pada konsentrasi 100% rata rata diameter zona hambat 5 mm yang dikategorikan sangat lemah.

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan mikroorganisme patogen yang tersebar luas dan paling terkenal terutama pada manusia. Kebanyakan orang sering terinfeksi bakteri *Staphylococcus aureus* dalam hidupnya dengan tingkat keparahan yang bervariasi di tiap individu seperti penyakit kulit mulai dari ringan, sedang hingga berat, penyakit pneumonia dan infeksi saluran pernapasan lainnya (Cheung dkk, 2021). Terjadinya infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* di sebabkan oleh kemampuan organisme tersebut

menghasilkan enzim koagulase, kemampuan dalam berkembang biak dan menyebar luas dalam jaringan tubuh melalui pembentukan banyak zat ekstraseluler. Infeksi *Staphylococcus aureus* pada kulit biasanya muncul dalam bentuk abses atau pembengkakan dan bisul luka bernanah. Dari luka tersebut menyebar ke dalam darah menyebabkan infeksi yang lebih serius (Kurniasih, 2021).

Pada penelitian ini tidak melakukan uji kandungan senyawa metabolit sekunder seperti *flavonoid*, *alkaloid*, *saponin*, *tanin* dan *Steroid* sehingga tidak diketahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang spesifik terhadap daun bandotan yang bisa menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Ada beberapa faktor yang mempengaruhi zona hambat dalam penelitian ini diantaranya kekeruhan suspensi bakteri. Apabila suspensi bakteri kurang keruh maka diameter zona hambat yang terbentuk lebih besar sebaliknya jika suspensi bakteri lebih keruh maka zona hambat yang terbentuk semakin kecil. Pengukuran suspensi bakteri sebaiknya menggunakan alat nephelometer agar kekeruhan suspensi bakteri lebih akurat pada saat dibandingkan dengan kekeruhan *mc farland* 0,5% (Zeniusa dkk, 2019). Namun pada penelitian ini, pengukuran kekeruhan suspensi hanya dilakukan secara visual.

Temperatur suhu inkubasi. Suhu inkubasi yang ideal untuk memperoleh pertumbuhan bakteri yang optimal adalah 37°C (Zeniusa, 2019). Inkubasi pada suhu yang tidak tepat dapat menyebabkan difusi kurang baik. Pada penelitian ini, suhu pada saat inkubasi tidak stabil hal ini dikarenakan inkubator sering dibuka oleh peneliti lain dan adanya plate media yang ditumpuk secara berlebihan menyebabkan perbedaan suhu pada masing-masing media saat diinkubasi. Hal ini menyebabkan difusi ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) kurang baik.

Sebaran bakteri pada media tidak merata. Hal tersebut dikarenakan pada saat proses inokulasi metode yang digunakan metode sebar (*Spread plate*) dengan menggunakan batang pengaduk segitiga. Menurut Damayanti dkk (2020), metode sebar memiliki kelebihan dan kekurangan yaitu dapat memperkirakan jumlah bakteri dalam satu sel namun sulit untuk

menumbuhkan koloni dengan merata dikarenakan rentannya kontaminasi terhadap batang perata segitiga.

Lama waktu pengeringan daun juga merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi. Hal tersebut sejalan dengan penelitian Mahrita dkk (2022), bahwa semakin lama pengeringan berpengaruh nyata terhadap aktivitas antioksidan, kadar abu, kadar air, rendemen dan sifat organoleptik meliputi aroma dan warna namun rasa yang ada pada teh tidak berpengaruh nyata. Semakin lama pengeringan maka aktivitas antioksidan, kadar abu, kadar air, rendemen mengalami penurunan sedangkan pada kadar abu akan mengalami peningkatan. Penelitian ini pengeringan daun dilakukan bersamaan dengan jenis daun lain yang membutuhkan waktu pengeringan lebih lama dibanding daun bandotan, sehingga waktu pengeringan yang seharusnya 150 menit menjadi lebih lama dan menyebabkan sifat kimia pada daun mulai menurun. Menurut Siregar (2022), semakin tinggi tekanan vakum dan suhu pengeringan maka kandungan *tanin* pada daun semakin menurun.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa daun bandotan dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* namun adanya beberapa faktor yang mempengaruhi seperti kekeruhan suspensi bakteri, temperatur suhu inkubasi, sebaran bakteri pada media yang tidak merata serta lama waktu pengeringan pada daun menyebabkan ekstrak daun bandotan kurang efektif.