

BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Gambaran Umum Lokasi Penelitian

Penelitian Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides* L) Terhadap Bakteri *Bacillus sp* dilakukan pada tanggal 25 Mei s/d 30 Juni 2024 di Laboratorium Mikrobiologi Terpadu Politeknik Bina Husada Kendari Jurusan Teknologi Laboratorium Medis. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun bandotan (*Ageratum conyzoides* l) yang diambil disekitar perumahan BTN Margahayu Regency Kambu di Jl. Perjuangan, Mokoau, Kecamatan Kambu, Kota Kendari, Provinsi Sulawesi Tenggara.



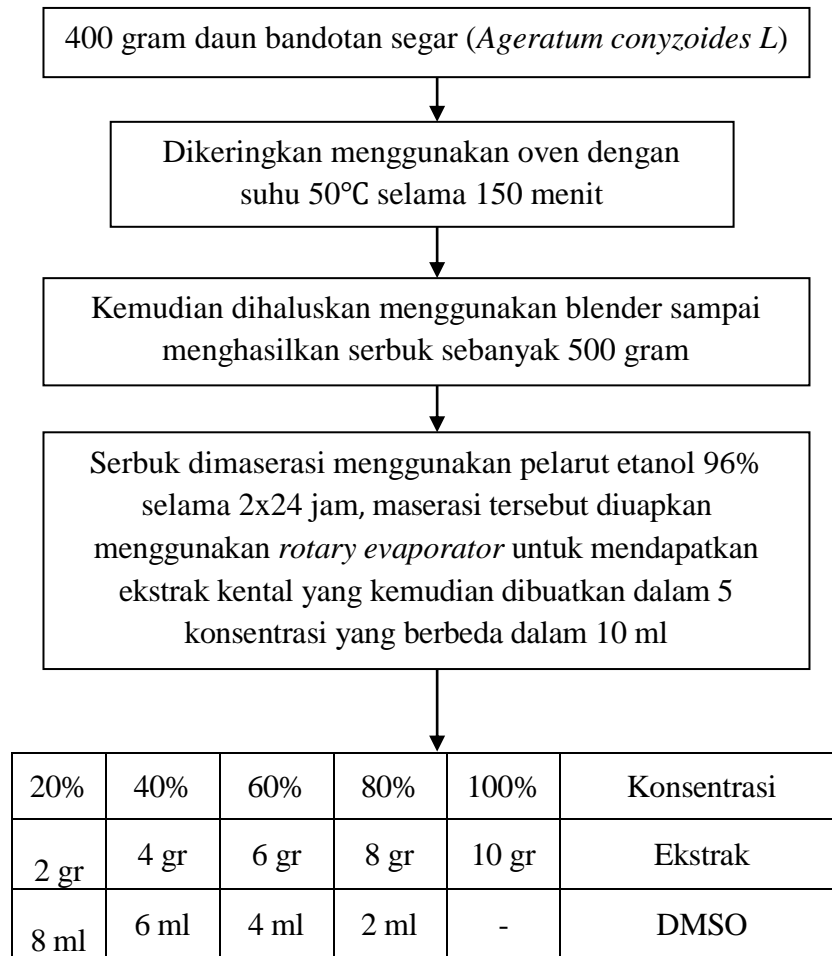
Gambar 4. Peta Lokasi pengambilan sampel daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L)
(Sumber : Google Maps)

B. Hasil Penelitian

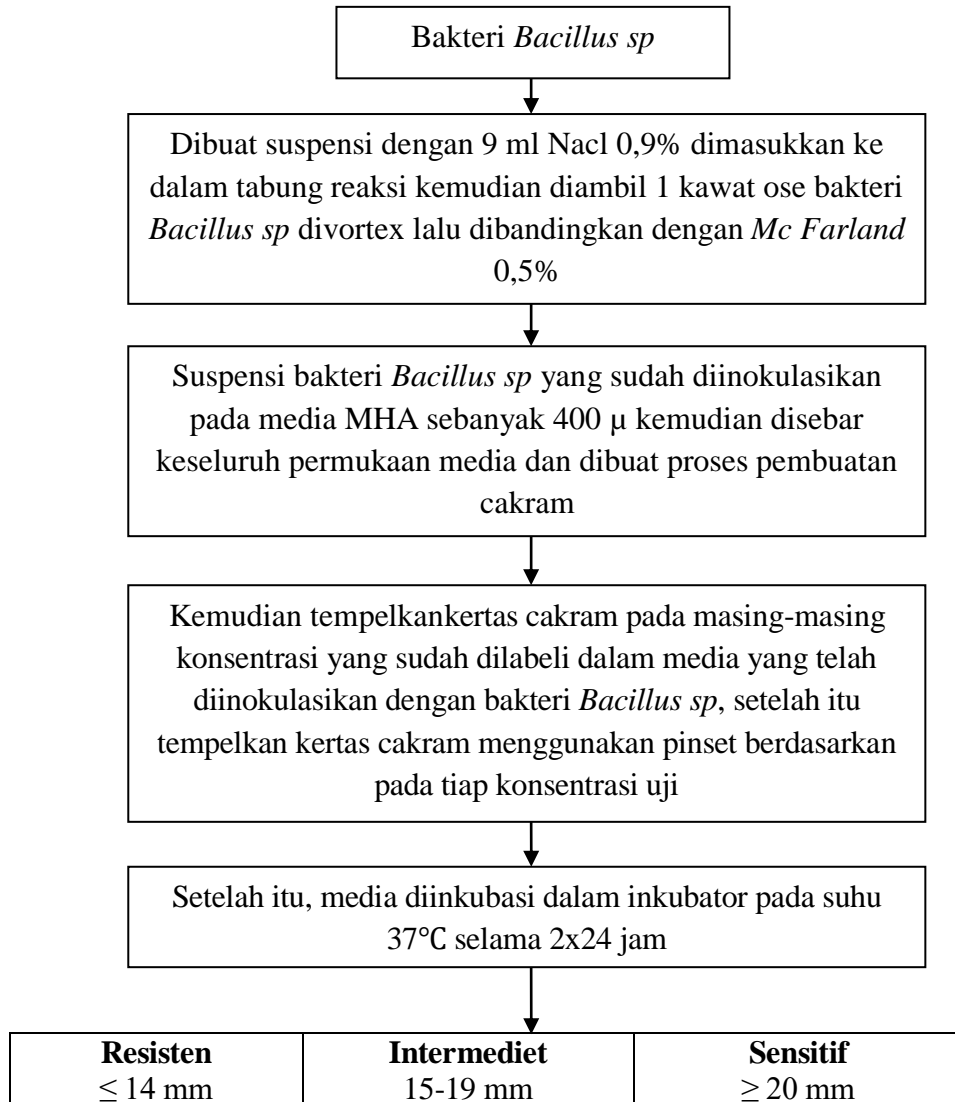
Berdasarkan hasil penelitian Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides* L) Terhadap Bakteri *Bacillus sp* yang telah dilakukan pada tanggal 27-30 Juni 2024 di Laboratorium Mikrobiologi Terpadu Politeknik Bina Husada Kendari dengan menggunakan metode *Kirby bauer* yang dibuat menjadi 5 konsentrasi, yaitu konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% dimana masing-masing konsentrasi dilakukan secara duplo yang diamati dalam waktu 2x24 jam dan menggunakan 2

kontrol yaitu kontrol positif menggunakan *Chloromphenicol* dan kontrol negatif menggunakan *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO).diperoleh zona hambat yang disajikan dalam bentuk tahap, sebagai berikut:

1. Pembuatan sampel ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*)



2. Penanaman bakteri *Bacillus sp* pada media MHA



Hasil penelitian ini diperoleh dari pengukuran diameter zona hambat yang disajikan dalam bentuk tabel sebagai berikut:

Tabel 3. Hasil pengukuran zona hambat ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) terhadap bakteri *Bacillus sp*

No	Perlakuan	Waktu Pengamatan	Diameter zona Hambat (mm)		Rata-rata (mm)	Interpretasi
			P1	P2		
1	Konsentrasi 20%	2x24 jam	0	0	0	0
2	Konsentrasi 40%	2x24 jam	0	3,55	1,776	<i>Resisten</i>
3	Konsentrasi 60%	2x24 jam	0	4,55	2,275	<i>Resisten</i>
4	Konsentrasi 80%	2x24 jam	6,275	5,55	5,9125	<i>Resisten</i>
5	Konsentrasi 100%	2x24 jam	9,05	7,55	8,3	<i>Resisten</i>
6	Kontrol Positif (<i>Chloramphenicol</i>)	2x24 jam	33,55	31,05	32,275	<i>Sensitif</i>
7	Kontrol Negatif (DMSO)	1x24 jam	0	0	0	Negatif

(Sumber : Data Primer)

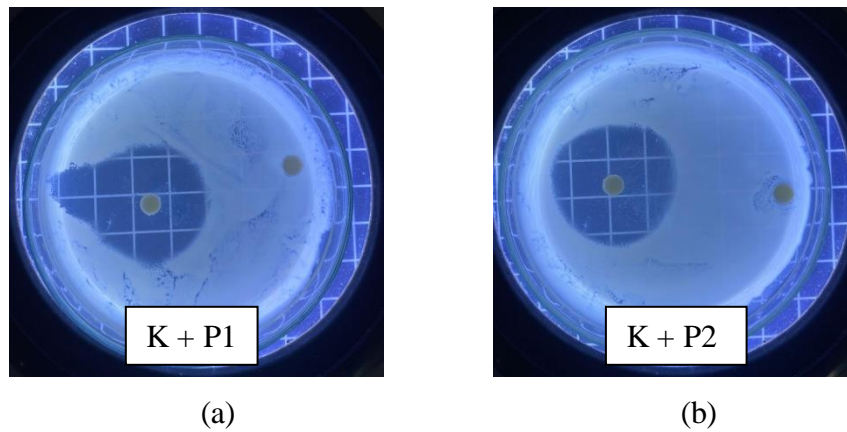
Keterangan :

Resisten : ≤ 14 mm
Intermediet : 15-19 mm
Sensitif : ≥ 20 mm

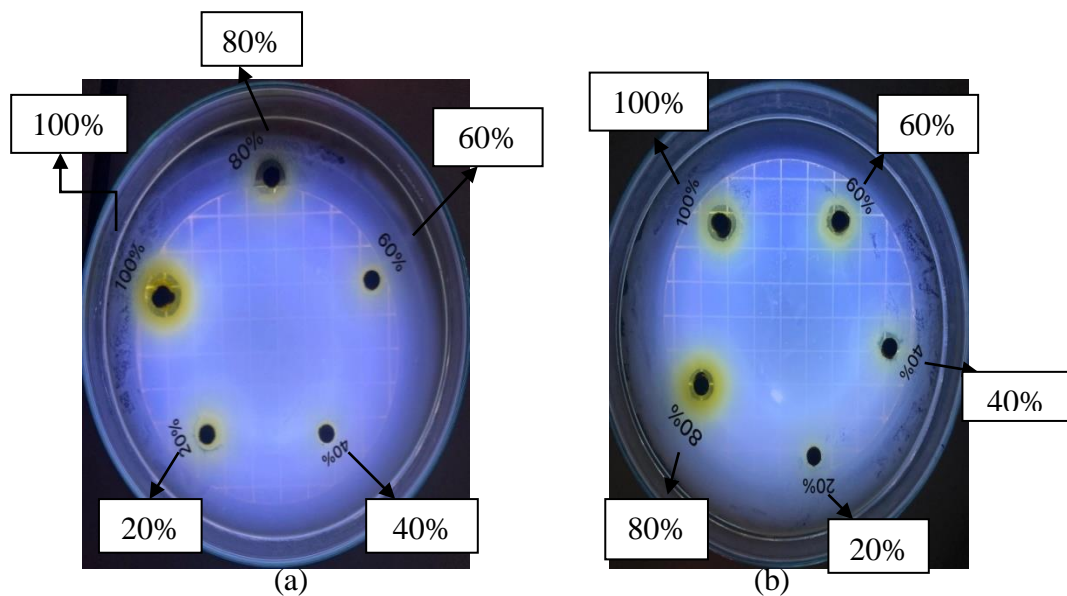
Berdasarkan (**Tabel 3**), hasil penelitian uji daya hambat ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) yang dilakukan dengan dua kali pengulangan, dimana pada konsentrasi 40%, 60%, 80%, 100% rata-rata dikategorikan resisten dengan sebesar ≤ 14 mm (CLSI, 2021). Sedangkan sebagai pembanding yaitu *Chloromphenicol* terbentuk zona hambat sehingga didapatkan rata-rata sebesar 32,275 mm. Pada kontrol negatif (-) tidak terbentuk zona hambat. Sehingga hasil zona hambat yang terbentuk dikategorikan sebagai hasil sensitif terhadap bakteri *Bacillus sp* berdasarkan hasil tabulasi data pengamatan konsentrasi 40%, 60%, 80% dan 100%.

Namun pada kontrol positif (+) sebagai pembanding yaitu *Chloromphenicol* menunjukkan zona hambat, dimana ditandai dengan

terbentuknya zona bening pada paper disk pada kontrol (+) dengan rata-rata sebesar 32,75 mm hasil tersebut bisa dilihat pada gambar 5.



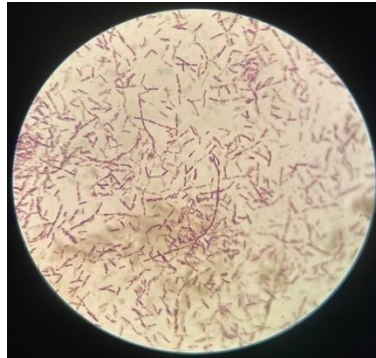
Gambar 5. Hasil Uji Daya Hambat Kontrol Positif (+) *Chlomphenicol* Percobaan Pertama (a) dan Kedua (b)



Gambar 6. Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Bandotan (*Ageratumconyzoides L*) Terhadap Bakteri *Bacillus sp* Dengan Konsentrasi Berbeda Percobaan Pertama (a) dan Kedua (b)
(Sumber: Dokumentasi Pribadi)

Pewarnaan gram pada bakteri *Bacillus sp* hasil identifikasi menunjukkan bakteri tersebut adalah bakteri gram positif berbentuk coccus berwarna ungu berdiameter 1,2-1,5 mm, susunannya berbentuk seperti sel-sel silindris sampai oval atau berbentuk pear, dan motil endospora. *Bacillus*

sp dapat diisolasi dari berbagai sumber diantaranya yaitu udara, air, usus manusia dan hewan, sayuran, makanan, dan materi tumbuhan yang terdekomposisi serta berwarna putih, kekuningan hingga krem, memiliki struktur permukaan yang kasar dan tidak berlendir (Jannah, 2022). Hasil identifikasi bisa dilihat pada gambar 7.



Gambar 7. Hasil Identifikasi Pewarnaan Gram Bakteri *Bacillus sp*
(Sumber: Dokumentasi Pribadi)

C. Pembahasan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dengan beberapa tahapan, meliputi proses pengeringan daun bandotan, proses pembuatan ekstrak, proses pembuatan media, proses pembuatan konsentrasi ekstrak, proses suspensi bakteri dan proses pengujian daya hambat bakteri, hingga pengukuran zona hambat. Dalam penelitian ini, dilakukan pengeringan daun bandotan menggunakan oven *dry vakum* dengan suhu 50°C selama 150 menit. Dengan menggunakan metode *kirby bauer* dengan bahan uji ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) yang dibuat dengan 5 varian konsentrasi yang berbeda yaitu, konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Bina Husada Kendari.

Pengujian uji daya hambat ini dilakukan dengan metode *Kirby bauer* yang di inkubasi 2x24 jam didalam inkubator dengan suhu 37°C. Pengujian ini dilakukan secara duplo dengan menggunakan *Chloromphenicol* sebagai kontrol positif dan *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO) sebagai kontrol negatif.

Penggunaan *Chloromphenicol* sebagai antibiotik karena didasarkan pada sifatnya yang berspektum luas (*broad spectrum*), sehingga dapat melawan bakteri gram positif maupun gram negatif (Asni & Sianita, 2020). Sedangkan *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 analgetik (Rahmi & Putri, 2020). Fungsi dari kontrol positif yaitu sebagai pembanding jika terjadi daya hambat pada larutan uji dimana ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar paper disk sebagai indikator zona hambat pada berbagai konsentrasi perlakuan, sedangkan kontrol negatif berfungsi untuk memastikan prosedur yang dilakukan benar dimana ditandai dengan tidak terbentuknya zona bening disekitar paper disk.

Dari hasil pengamatan yang dilakukan, hasil tabulasi data pengamatan menunjukkan bahwa pengujian kontrol positif (+), daya hambat yang terbentuk sebesar 32,275 mm yang dapat dinyatakan sensitif jika merujuk pada CLSI (*The Clinical & Laboratory Standards Institute*) tahun 2021, yaitu ≥ 20 mm. Pada kontrol negatif (-) tidak terbentuk zona hambat yang menunjukkan kontrol negatif yang digunakan tidak memiliki pengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus sp.* Kemudian pada ke 5 konsentrasi yaitu 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% bahwa pada konsentrasi 20% tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus sp* dengan diameter zona hambat sebesar 0 mm, sedangkan pada konsentrasi 40% dan 60% dipengulangan 1 tidak terbentuk zona hambat sedangkan dipengulangan 2 terbentuk zona hambat sebesar 1,776 mm dan 2,275 mm, konsentrasi 80% dipengulangan 1 dan 2 terbentuk zona hambat sehingga apabila dirata-ratakan didapatkan hasil sebesar 5,9125 mm dan pada konsentrasi 100% dipengulangan 1 dan 2 terbentuk zona hambat sehingga apabila dirata-ratakan didapatkan hasil sebesar 8,3 mm.

Pada penelitian uji daya hambat ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) terhadap bakteri *Bacillus sp* dengan 5 varian konsentrasi yang

berbeda yaitu konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Nilai rata-rata yang dihasilkan pada konsentrasi yakni konsentrasi 20% tidak terbentuk zona hambat pada area paper disk, pada konsentrasi 40%, 60%, 80%, dan 100% daya hambat yang terbentuk sebesar rata-rata 1,776 mm, 2,275 mm, 5,9125 mm, dan 8,3 mm. Dari hasil pengujian menunjukkan bahwa konsentrasi 40%, 60%, 80%, dan 100% menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus sp* namun masih kategori resisten atau lemah sesuai dengan ketentuan CLSI (2021), dimana nilai diameter daya hambat dianalisis berdasarkan 3 kategori yaitu zona hambat ≥ 20 mm dikategorikan respon daya hambat sangat kuat (*Sensitive*), zona hambat 15-19 mm dikategorikan respon daya hambat sedang (*Intermediet*) dan zona hambat ≤ 14 mm dikategorikan respon daya hambat lemah (*Resisten*) atau dapat dikatakan bahwa kelima konsentrasi tersebut tidak efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus sp*.

Berdasarkan pada penelitian yang telah dilakukan, didapatkan hasil bahwa ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) pada konsentrasi yang paling tinggi memiliki daya hambat yang jauh lebih kecil apabila dibandingkan dengan antibiotik *Chloromphenicol* sehingga dikategorikan resisten atau tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus sp*.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya, oleh Safrida dkk, (2021) tentang uji daya hambat ekstrak etanol daun bandotan terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan menggunakan konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) pada konsentrasi 25%, 50%, 75% tidak memiliki daya hambat (zona bening) yaitu dengan ukuran 0 mm sedangkan pada konsentrasi 100% memiliki zona hambat (zona bening) yaitu dengan ukuran 5 mm yang dikategorikan sangat lemah. Dapat disimpulkan bahwa penelitian ini zona hambat yang membentuk hanya pada konsentrasi 100% yang masih dikategorikan sangat lemah dan belum efektif dalam menghambat bakteri *Escherichia coli*.

Penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya, oleh Herrialfian dkk, (2020) tentang aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun bandotan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter rata-rata zona hambat dengan konsentrasi 20% (0,7 mm), 40% (1,4 mm), 60% (2,2 mm) dan 80% (3,0 mm), dari rata-rata zona hambat yang terbentuk, ekstrak etanol daun bandotan memiliki kekuatan daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dalam kategori lemah.

Penelitian ini tidak sejalan dengan penelitian sebelumnya oleh Laoli, (2018) tentang uji aktivitas ekstrak etanol daun bandotan terhadap bakteri *Proteus vulgaris* dengan menggunakan konsentrasi 60%, 80% dan 100% yang menunjukkan bahwa daun bandotan memberikan aktivitas sebagai antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri yaitu pada ekstrak etanol hasil diameter sebesar 14,28 mm pada konsentrasi 60%, hasil diameter sebesar 14,38 mm pada konsentrasi 80%, dan hasil diameter sebesar 14,41 mm pada konsentrasi 100%. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) pada konsentrasi tertinggi 60%, 80% dan 100% memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Proteus vulgaris*.

Dari hasil penelitian ini dengan judul uji daya hambat ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) terhadap bakteri *Bacillus sp* apabila dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Laoli (2018) menggunakan daun yang sama yaitu daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) dan menggunakan bakteri yang berbeda untuk ekstrak daun bandotan yang telah dilakukan didapatkan hasil yang tidak efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus sp*. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) pada konsentrasi 40% (1,776 mm), dan 60% (2,275 mm), 80% (5,9125 mm) dan pada konsentrasi tertinggi yaitu 100% didapatkan rata-rata sebesar 8,3 mm yang masih jauh berbeda jika dibandingkan dengan rata-rata zona hambat yang didapatkan oleh Laoli (2018) yaitu sebesar 14,41 mm. Hal tersebut dikarenakan sifat bakteri yang berbeda, bakteri *Proteus vulgaris*

merupakan bakteri gram negatif sedangkan pada penelitian ini bakteri *Bacillus sp* yang merupakan bakteri gram positif. Sehingga terdapat perbedaan pada dinding sel yang lebih mudah dirusak karena dinding sel pada bakteri gram positif memiliki membran sel yang hanya terdiri atas satu lapisan saja yaitu fosfolipid, sehingga diameter zona hambat yang dihasilkan lebih besar, sedangkan bakteri gram negative yang mempunyai sel yang kompleks yang tersusun atas 80% fosfolipid sehingga lebih sulit dirusak oleh zat antimikroba, sehingga diameter zona hambat yang dihasilkan lebih kecil (Nurhayati, 2018). Bakteri *Bacillus sp* ini merupakan bakteri gram positif yang memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tebal tanpa adanya membran luar. Adanya aktivitas senyawa fenolik akan dengan mudah menyebabkan kerusakan pada dinding dan membran sel sehingga akan mengganggu sistem transport aktif. Selanjutnya senyawa tersebut akan mendenaturasi dan menginaktifkan protein seperti enzim sehingga mempengaruhi metabolisme sel (Mengkido dkk, 2019).

Ada beberapa faktor yang mempengaruhi diameter zona hambat bakteri, salah satunya adalah temperatur inkubasi. Suhu inkubasi untuk memperoleh pertumbuhan bakteri yang optimal adalah pada suhu 37°C (Febriana, 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 tertumpuk lebih dari 2 plate pada saat inkubasi. Hal ini menyebabkan difusi ekstrak daun bandotan menjadi kurang baik.

Adapun faktor lain yang dapat mempengaruhi terhadap besar zona hambat yang dihasilkan pada metode difusi ini, antara lain waktu, suhu, sifat media agar yang digunakan, konsentrasi bahan kimia (pelarut ekstraksi yang digunakan), serta kondisi saat proses inokulasi sehingga diperlukan standarisasi yang tepat (Safrida YD, dkk 2021).

Proses pengeringan daun juga perlu diperhatikan, karena jika pada proses pengeringan daun dilakukan bersamaan dengan daun lain yang memiliki waktu pengeringan yang lebih lama, karena hal tersebut sangat

berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan, kadar air, kadar abu, rendeman serta organoleptic aroma dan warna dari daun (Mahira dkk, 2022) Dimana semakin lama waktu pengeringan daun maka, aktivitas antioksidan, kadar air dan rendeman akan semakin rendah dan menyebabkan kadar abu yang semakin tinggi.

Tanaman bandotan mengandung senyawa- senyawa metabolit sekunder seperti asam amino, minyak atsiri, kumarin, β -sitosterol, tanin, dan alkaloid (Munira, dkk. 2020: Safrida & Rahmah, 2021). Tumbuhan bandotan merupakan salah satu tumbuhan yang diketahui secara empiris mempunyai khasiat sebagai bahan obat dan telah digunakan di beberapa daerah. Tumbuhan bandotan sejak dahulu telah digunakan secara luas dalam pengobatan tradisional oleh masyarakat, anantara lain untuk pengoabatan luka, gangguan pencernaan dan diare. Namun, selain itu juga digunakan sebagai pengobatan radang usus, radang ginjal atau radang saluran kemih dan penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri (Yasir & Asnah, 2017).

Kebaharuan dari penelitian ini adalah daun bandotan (*Ageratum conyzoides L*) menggunakan pengeringan *Driying Vacum* untuk menjaga senyawa bioaktif, karena metode ini digunakan suhu rendah dengan tekanan vakum untuk menghilangkan air. Ekstrak dari bahan yang dikeringkan dengan metode ini menunjukkan aktivitas antibakteri yang cukup tinggi dan senyawa bioaktif dapat terjaga dengan baik. Namun penelitian ini berbanding terbalik sehingga aktivitas ekstrak dari bahan yang dikeringkan tidak sesuai. Hal ini dikarenakan kemungkinan metode cakram yang digunakan tidak sensitif untuk konsentrasi senyawa aktif yang digunakan lebih sedikit, sehingga perlu digunakan uji lanjutan dengan menggunakan metode spektrofotometri.