

ARTIKEL

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN BANDOTAN (*Ageratum conyzoides*) TERHADAP *Bacillus cereus* DAN *Salmonella typhi*

[*Antibacterial Activity of Bandotan Leaf Extract (Ageratum conyzoides) Against Bacillus cereus and Salmonella typhi*]

Vania Marsela Hartoyo¹, Boy Rahardjo Sidharta*², Stefani Santi Widiastuti¹

¹Program Studi Biologi, Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta, Jalan Babarsari 44, Yogyakarta-55281

²Kelompok Peneliti Bioprospeksi, Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta, Jalan Babarsari 44, Yogyakarta-55281

ABSTRAK

Diare merupakan penyakit dengan frekuensi buang air besar yang sering dan feses menjadi cair. Salah satu bahan alam yang dapat digunakan untuk mengatasi diare yaitu bandotan (*Ageratum conyzoides*). Penelitian ini bertujuan untuk melihat kemampuan ekstrak etanol daun bandotan dalam menghambat *Bacillus cereus* dan *Salmonella typhi*. Metode ekstraksi yang digunakan yaitu maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Hasil analisis fitokimia kualitatif ekstrak etanol daun bandotan mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, steroid, dan saponin, sedangkan analisis kuantitatif flavonoid ekstrak etanol daun bandotan didapatkan nilai TFC 36,07mgQE/g ekstrak. Aktivitas antibakteri dilakukan dengan variasi konsentrasi ekstrak yaitu 10, 35, dan 60%. Hasil pengukuran luas zona hambat (LZH) dianalisis dengan ANOVA dan dilanjutkan dengan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT). Konsentrasi ekstrak 60% menunjukkan LZH paling besar dibandingkan konsentrasi ekstrak lainnya yang menghambat pertumbuhan *B. cereus* dan *S. typhi* yaitu dengan rata-rata LZH masing-masing yaitu 8,79 cm² dan 7,61 cm². Konsentrasi ekstrak 10% menghambat pertumbuhan *B. cereus* dan *S. typhi* dengan LZH masing-masing 0,32 cm² dan 0,30 cm², sedangkan kontrol negatif 0 cm² dan 0 cm². Hasil uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol daun bandotan terhadap *B. cereus* dan *S. typhi* didapatkan pada konsentrasi 15%.

Kata Kunci: antibakteri, diare, *Ageratum conyzoides*, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhi*

ABSTRACT

*Diarrhea is a disease with frequent bowel movements and the stool becomes liquid. One of the natural ingredients that can be used to treat diarrhea is bandotan (*Ageratum conyzoides*). This study aims to see the ability of the ethanol extract of bandotan leaves to inhibit *Bacillus cereus* and *Salmonella typhi*. The extraction method used is maceration using 96% ethanol. The qualitative phytochemical analysis results of the ethanol extract of bandotan leaves contained alkaloids, flavonoids, tannins, steroids, and saponins while the quantitative phytochemical analysis of the flavonoids of the ethanolic extract of bandotan leaves obtained a value of TFC as 36.07mg QE/g extract. Antibacterial activity assay was done utilizing various concentrations of leaf extract such as 10, 35, and 60%. The results of measuring the area of inhibition zones were analyzed by ANOVA and followed by the Duncan Multiple Range Test (DMRT). The extract concentration of 60% showed the largest inhibition zone compared to other extract concentration variations which were able to inhibit the growth of *B. cereus* and *S. typhi* with an average area of inhibition zone respectively 8.79 cm² and 7.61 cm². The concentration of 10% extract inhibited the growth of *B. cereus* and *S. typhi* with respective values of 0.32 cm² and 0.30 cm², while the negative control was 0 cm² and 0 cm². The results of the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) assay for the ethanol extract of bandotan leaves against *B. cereus* and *S. typhi* were obtained at the concentration of 15%.*

Keywords: antibacterial, diarrhea *Ageratum conyzoides*, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhi*

PENDAHULUAN

Diare merupakan suatu penyakit dengan frekuensi buang air besar dalam waktu 24 jam lebih dari tiga kali dan bentuk feses yang mengalami perubahan menjadi cair (Winanti, 2016). Infeksi bakteri di dunia khususnya di wilayah Indonesia makin banyak terjadi yang biasanya disebabkan oleh faktor kebersihan makanan dan minuman, kondisi lingkungan, serta penyakit (Nasronudin, 2011). Kasus diare di Indonesia tiap tahunnya terdapat 60 juta kasus dan sebagian besarnya 70-80% penderitanya adalah balita, serta 50-60% meninggal dunia akibat tidak mendapat tindakan medis (Shu, 2013). Penyakit diare dapat disertai dengan rasa mual, sakit perut, sakit kepala, dan demam (Pujiastuti dan Ardini, 2015).

Bacillus cereus merupakan bakteri Gram positif yang mempunyai enterotoksin penyebab diare akibat kontaminasi makanan dengan persentase kasus sebesar 19,4% (Arisanti dkk., 2018). *Salmonella typhi* termasuk bakteri Gram negatif penyebab diare dengan persentase kasus 13,8%. Kedua jenis bakteri akan masuk ke saluran pencernaan dan menimbulkan infeksi yang dapat mengakibatkan diare dan demam (Mangarengi dkk., 2016).

Indonesia memiliki kawasan hutan hujan tropis yang terdiri dari 30.000 tumbuhan yang berperan sebagai tanaman obat. Kekayaan alam di Indonesia sangat melimpah dan beragam terutama di bidang kesehatan berupa tanaman obat yang belum dimanfaatkan potensinya (Safrida dan Rahmah, 2021). Pengobatan umum yang digunakan masyarakat untuk mengatasi diare yaitu dengan daun jambu biji sebanyak 41,67% dari 135 responden, biji pala sebanyak 1,8% dari 4 responden, rimpang kunyit dan rimpang lengkuas sebanyak 11,4% dari 25 responden (Fauziah dkk., 2021). Penggunaan obat herbal sangat diminati karena lebih aman apabila digunakan dalam waktu lama dan harganya lebih terjangkau (Hamid, 2009).

Bahan alam lain yang potensial sebagai antibakteri yaitu daun bandotan (*Ageratum conyzoides*). Menurut Odeleye dkk. (2014), ekstrak etanol daun bandotan terdapat senyawa yang berperan sebagai antibakteri yaitu flavonoid, tanin, fenol, steroid, terpenoid, dan saponin. Daun bandotan telah digunakan untuk mengobati radang usus, radang ginjal, radang saluran kemih, gangguan pencernaan, serta diare (Safrida dan Rahmah, 2021). Menurut Mengkido dkk. (2019), bagian bunga dan daun bandotan terdapat senyawa antibakteri seperti saponin, flavonoid, polifenol, dan minyak atsiri. Penelitian antibakteri ekstrak etanol daun bandotan terhadap *Bacillus cereus* dan *Salmonella typhi* sebagai penyebab bakteri belum pernah dilakukan. Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang potensi ekstrak daun bandotan untuk menghambat bakteri penyebab diare yaitu *B. cereus* dan *S. typhi*. Tujuan penelitian ini yaitu untuk melihat aktivitas antibakteri dari daun bandotan dan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) terhadap *B. cereus* dan *S. typhi*.

BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Alat utama yang digunakan dalam penelitian ini antara lain oven, timbangan analitik, timbangan digital, mikropipet, microtip, shaker incubator, microwave, spektrofotometer, inkubator, *Laminar Air Flow* (LAF), *rotary evaporator*, blender, mikroskop, *autoclave*, dan vortex. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun bandotan segar sebanyak 5 kg yang diperoleh dari kawasan persawahan di daerah Babadan, Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta. Biakan *Bacillus cereus* dari Laboratorium Kesehatan Yogyakarta, biakan *Salmonella typhi* dari Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada, etanol 96%, reagen Dragendorf, reagen Mayer, reagen Wagner, HCl pekat, amil alkohol, serbuk Mg, serbuk nutrient agar, serbuk nutrient broth, , antibiotik gentamisin, serbuk kuersetin, kalium asetat 1M, dan larutan hidrogen peroksida (H₂O₂) 2M.

Identifikasi Tanaman Bandotan

Identifikasi tanaman bandotan dilakukan di Laboratorium Sistemika Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Identifikasi meliputi morfologi bagian bunga, batang, akar, dan daun tanaman bandotan. Tujuan identifikasi untuk memastikan bahwa sampel yang digunakan dalam penelitian merupakan tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides*).

Ekstraksi Daun Bandotan

Serbuk daun bandotan diambil sebanyak 100 g dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer untuk dimaserasi dan dilarutkan dengan 500 mL etanol 96% dengan perbandingan 1:5. Erlenmeyer ditutup aluminium foil dan dibungkus dengan plastik *wrap*, kemudian dimasukkan ke dalam *shaker incubator* dengan suhu 37 °C selama 24 jam dan kecepatan 160 rpm. Sampel disaring setelah 24 jam dan didapatkan filtrat dan ampas pertama, kemudian ampas pertama dimaserasi dengan etanol 96% selama 24 jam. Sampel disaring dengan kertas saring dan dihasilkan filtrat dan ampas kedua (Wijanarko dkk., 2020).

Filtrat yang didapatkan dari maserasi dimasukkan ke dalam *rotary evaporator* pada suhu 60 °C dan kecepatan 65 rpm. Ekstrak kental dimasukkan ke dalam cawan porselen dan ditutup dengan aluminium foil, kemudian di-oven dengan suhu 50 °C dan diamati selama 24 jam hingga didapatkan hasil berupa pasta (Wijanarko dkk., 2020). Rendemen simplisia dihitung dengan rumus (Wijanarko dkk., 2020):

$$\text{Berat ekstrak} = (\text{berat cawan} + \text{ekstrak}) - \text{berat cawan kosong}$$

Analisis Fitokimia Kualitatif

Preparasi sampel untuk analisis fitokimia kualitatif meliputi flavonoid, tanin, steroid atau triterpenoid, saponin, dan alkaloid dilakukan dengan cara menimbang ekstrak daun bandotan sebanyak 50 mg kemudian dilarutkan dengan 5 mL etanol 96% sehingga didapatkan konsentrasi 10.000 ppm.

Analisis flavonoid dilakukan dengan cara sampel diencerkan menjadi konsentrasi 4000 ppm, kemudian diambil sebanyak 2 mL dan ditambah dengan 3 mL akuades. Lalu dididihkan dan ditambah dengan 15 mg serbuk Mg, 2 tetes HCl 5N, dan 10 tetes amil alkohol. Hasil positif flavonoid yaitu terbentuk warna kuning, merah, atau jingga pada lapisan amil alkohol (Syafitri dkk., 2014).

Analisis alkaloid dengan cara diambil 2 mL larutan ekstrak konsentrasi 10.000 ppm dan ditambah dengan 3 mL akuades. Larutan ditambah dengan 1 mL kloroform, 2 mL amonia lalu dikocok dan ditambah dengan 5 mL HCl 2 N. Larutan dimasukkan ke dalam 3 tabung reaksi yang berbeda dan tiap tabung reaksi diberi 2-3 tetes reagen Dragendorf, Mayer, dan Wagner. Hasil positif reaksi Dragendorf yaitu endapan jingga, reaksi Mayer terbentuk endapan putih, dan reaksi Wagner terbentuk endapan berwarna coklat hingga kuning (Januarti dkk., 2017).

Analisis triterpenoid dan steroid dilakukan dengan cara ekstrak diencerkan hingga 4000 ppm. Pengujian dilakukan dengan mengambil larutan uji dengan pipet tetes dan ditetaskan dalam dua *drop plate* yang berbeda. Lubang pertama untuk kontrol dan lubang kedua untuk larutan uji. Ditambahkan

3 tetes asetat anhidrat dan 1 tetes H₂SO₄ pada sampel. Hasil positif analisis steroid ditunjukkan dengan warna hijau, sedangkan uji triterpenoid berwarna merah atau ungu (Ikalinus dkk., 2015).

Analisis tanin dilakukan dengan ekstrak diencerkan menjadi 4000 ppm. Larutan diambil sebanyak 1 mL kemudian ditambah dengan 5 mL akuades, lalu dididihkan dan ditambah dengan FeCl₃ 1 % sebanyak 5 tetes. Hasil positif terbentuk warna coklat kehijauan atau biru kehitaman (Januarti dkk., 2017).

Analisis saponin dilakukan dengan cara ekstrak konsentrasi 4000 ppm diambil sebanyak 2 mL, ditambah 10 mL akuades dan dikocok selama 30 detik. Hasil positif terbentuk busa dengan tinggi sekitar ±1 cm yang bertahan kurang lebih selama 30 detik (Januarti dkk., 2017).

Analisis Kuantitatif Flavonoid

Pembuatan Deret Standar Kuersetin

Serbuk kuersetin ditimbang sebanyak 3 mg dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dilarutkan dengan 10 mL etanol 96%, lalu di-vortex dan didapatkan konsentrasi 300 ppm (0,3 mg/mL). Larutan kuersetin dari konsentrasi 300 ppm diencerkan menjadi 150, 120, 90, 60, dan 30 ppm. Tiap konsentrasi diambil sebanyak 0,5 mL, lalu ditambah 0,1 mL AlCl₃ 10%, 0,1 mL K-asetat, 4,3 mL akuades dan didapatkan volume total 5 mL sehingga konsentrasi masing-masing deret kuersetin menjadi 15, 12, 9, 6, dan 3 ppm (Syarifuddin dkk., 2022).

Larutan dalam tiap tabung reaksi diberi label dan di-vortex hingga homogen, kemudian tabung reaksi dibungkus dengan alumunium foil dan diinkubasi di ruang gelap selama 30 menit. Larutan dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 436 nm (Syarifuddin dkk., 2022).

Pembuatan Larutan Sampel

Ekstrak daun bandotan sebanyak 20 mg ditimbang dan dilarutkan dengan 2 mL etanol 96% lalu di-vortex dan konsentrasinya menjadi 10.000 ppm. Konsentrasi 10.000 ppm diencerkan menjadi 1000 ppm lalu ditambah 4,5 mL etanol 96% sehingga volume total menjadi 5 mL. Sampel larutan konsentrasi 1000 ppm diambil sebanyak 0,5 mL dan dimasukkan ke dalam lima tabung reaksi yang berbeda, kemudian masing-masing tabung reaksi ditambah dengan 0,1 mL AlCl₃ 10%, 0,1 mL K-asetat 1M, dan 4,3 mL akuades sehingga volume total yang dihasilkan pada tiap tabung yaitu 5 mL (Syarifuddin dkk., 2022). Larutan tiap tabung reaksi di-vortex dan dibungkus dengan aluminium foil, kemudian diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit dan diukur absorbansinya dengan panjang gelombang 436 nm. Hasil absorbansi dicatat untuk menentukan *total flavonoid content* (Syarifuddin dkk., 2022). *Total Flavonoid Content* (TFC) dihitung dengan rumus (Wirasti, 2019):

$$TFC = \frac{C \times V \times Fp}{massa}$$

Keterangan:

C: merupakan konsentrasi (mg/L)

V: merupakan volume ekstrak (L)

Fp: merupakan faktor pengenceran

M: merupakan massa sampel yang akan digunakan (gram)

Satuan TFC: mg QE/gram ekstrak

Pembuatan Kultur Cair Bakteri

Pembuatan kultur cair *B. cereus* dan *S. typhi* dilakukan dengan cara masing-masing bakteri yang sudah ditumbuhkan pada medium NA miring diambil sebanyak 1 ose. Masing-masing isolat kemudian dimasukkan ke dalam medium NB, selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C (Mubarak dkk., 2018).

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Bandotan dengan Metode Sumuran

Kultur *B. cereus* dan *S. typhi* diambil sebanyak 100 µL dengan jumlah sel sebesar 1×10^6 /mL dan diletakkan ke dalam medium NA dengan cara *spread plate*, kemudian diratakan dengan drigalski. Cawan petri sebanyak 5 buah diberi label sebagai penanda, kemudian medium dibuat sumuran dengan cara dilubangi dengan perforator nomor 3 (diameter 0,6 cm). Tiap lubang yang berbeda diisi dengan ekstrak daun bandotan pada konsentrasi 10, 35, 60%, kontrol negatif etanol 96%, dan kontrol positif antibiotik gentamicin 10% masing-masing sebanyak 20 µL. Cawan petri dibungkus dengan kertas payung dan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C, kemudian zona hambat yang terbentuk diukur dengan jangka sorong (Korompis dkk., 2010).

Luas zona hambat (LZH) dapat dihitung dengan rumus (Mahmudah dan Atun, 2017):

$$\text{Luas Zona Hambat} = \pi \times \left[\left(\frac{d_1}{2} \right)^2 - \left(\frac{d_2}{2} \right)^2 \right]$$

Keterangan:

d1= diameter zona bening (cm)

d2= diameter sumuran (cm)

Pengukuran Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Persiapan Medium dan Larutan Stok Ekstrak

Pembuatan starter bakteri dilakukan dengan cara dua buah erlenmeyer berisi medium NB sebanyak 0,39 g dilarutkan dalam 30 mL akuades disiapkan untuk 2 jenis bakteri, kemudian masing-masing erlenmeyer diinokulasi dengan *B. cereus* dan *S. typhi* sebanyak 1 ose. Medium diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam (Krochmal dan Wicher, 2021).

Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Larutan stok ekstrak konsentrasi 50% diencerkan ke dalam medium uji sehingga didapatkan seri konsentrasi 15% dan 30%. Larutan uji dimasukkan ke dalam cawan petri berisi medium NA sebanyak 100 µL, kemudian diratakan dengan drigalski. Masing-masing bakteri sebanyak 1×10^6 sel/mL dilakukan pengulangan pada tiap perlakuan sebanyak 5 kali ulangan. Semua cawan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C, kemudian diamati pertumbuhan bakteri untuk masing-masing perlakuan (Krochmal dan Wicher 2021).

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan ANOVA pada tingkat kepercayaan 95%. Analisis data dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan 5 kali pengulangan untuk mengetahui beda nyata. Analisis ANOVA dan DMRT dilakukan dengan program SPSS 15.0 (Korompis dkk., 2010).

HASIL

Rendemen

Serbuk daun bandotan sebanyak 300 g diperoleh berat ekstrak sebanyak 30,743 g, dan rendemen sebesar 10,247%.

Analisis Fitokimia Kualitatif

Hasil skrining fitokimia kualitatif ekstrak etanol daun bandotan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Bandotan (*Qualitative phytochemical analyses of bandotan leaf extracts*).

Uji Senyawa (Compound Test)	Hasil Uji (Test Result)	Reaksi (Reaction)
Alkaloid	Meyer	+
	Wagner	+
	Dragendroff	+
Tanin (Tannin)	Warna biru kehitaman (Blackish-blue color)	+
Saponin	Terbentuk busa 1 cm (Foam formed 1 cm)	+
Triterpenoid atau steroid	Terbentuk warna hijau kebiruan (Formed a bluish-green color)	(+) steroid (-) triterpenoid
Flavonoid	Terbentuk warna kuning pada lapisan amil alkohol (Yellow color forms on the amyl alcohol layer)	+

Keterangan: (+): positif, (−): negatif (*Description: (+): positive, (−): negative*).

Analisis Alkaloid

Analisis alkaloid menunjukkan hasil positif yaitu pada reagen Meyer terdapat endapan putih dan pada reagen Dragendroff menunjukkan endapan berwarna jingga, sedangkan pada reagen Wagner ditemukan endapan berwarna coklat.

Analisis Tanin

Hasil analisis menunjukkan hasil positif tanin dengan penambahan FeCl_3 , ion Fe^{3+} dengan atom O- membentuk ikatan kovalen karena pada gugus fungsi OH- melepaskan atom H dan terjadi perubahan warna (Safrida dan Rahmah, 2021).

Analisis Saponin

Hasil analisis saponin positif ditandai dengan terbentuknya busa setinggi ± 1 cm. Reaksi yang terjadi yaitu saponin akan berikatan dengan air membentuk gugus hidrofilik dan gugus hidrofobik akan saling berikatan dengan udara sehingga dapat membentuk busa (Bintoro dkk., 2017).

Analisis Triterpenoid dan Steroid

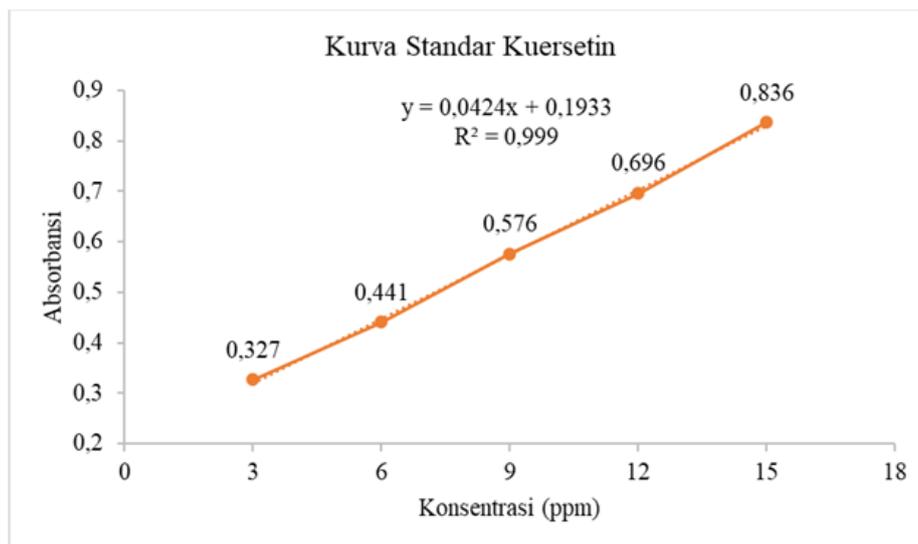
Hasil analisis positif ekstrak etanol daun bandotan yaitu dengan terbentuknya warna hijau kebiruan. Perubahan warna ekstrak menjadi hijau dikarenakan adanya pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi pada steroid atau warna coklat serta jingga atau ungu pada triterpenoid (Safrida dan Rahmah, 2021).

Analisis Flavonoid

Hasil analisis menunjukkan bahwa ekstrak bandotan positif pada uji flavonoid yang ditandai dengan terbentuknya warna kuning pada lapisan amil alkohol (Safrida dan Rahmah, 2021).

Analisis Kuantitatif Flavonoid

Hasil kurva standar kuersetin dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kurva Standar Kuersetin (*Standard curve for quercetin*).

Hasil ekstrapolasi kurva standar didapatkan persamaan regresi linear $y = 0,0424x + 0,1933$ dengan nilai R^2 sebesar 0,999 (Gambar 1). Rata-rata nilai absorbansi (y) sebesar 0,805, x sebesar 14,427, massa ekstrak sebesar 0.02 g, volume ekstrak sebesar 0,005 L, maka dari rumus diperoleh TFC sebesar 360,675 mg QE/g ekstrak.

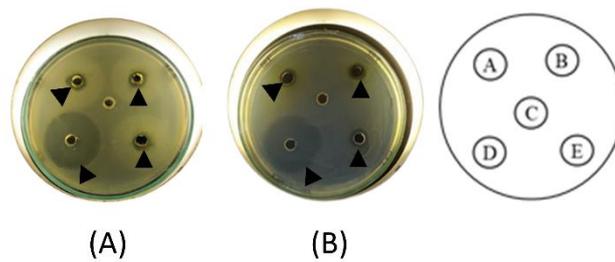
Uji Aktivitas Antibakteri

Hasil zona hambat ekstrak etanol daun bandotan dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 2. Tabel 2 memperlihatkan rata-rata perlakuan terhadap *B. cereus* lebih besar dibandingkan *S. typhi*, sedang nilai rata-rata perlakuan menunjukkan semakin tinggi konsentrasi luas zona hambat (LZH) juga semakin tinggi. Angka rata-rata tertinggi diperoleh pada perlakuan kontrol positif yaitu antibiotik gentamisin 10%.

Tabel 2. Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Bandotan Terhadap *B. cereus* dan *S. Typhi* (*Zone of inhibition of bandotan leaves extracts against B. cereus and S. typhi*).

Perlakuan (Treatment)	Luas Zona Hambat Bakteri (Bacterial Inhibition Zone Area) (cm ²) ± SD		Rata-Rata (Average)
	<i>B. cereus</i>	<i>S. typhi</i>	
Konsentrasi 10% (Concentration 10%)	0,323 ± 0,07	0,30 ± 0,12	0,31 ^a
Konsentrasi 35% (Concentration 35%)	0,70 ± 0,14	0,47 ± 0,06	0,59 ^b
Konsentrasi 60% (Concentration 60%)	0,83 ± 0,14	0,58 ± 0,10	0,71 ^b
Kontrol Positif (Positive Control) (Gentamisin)	8,80 ± 1,51	7,61 ± 0,33	8,20 ^c
Kontrol Negatif (Negative Control) (Ethanol 96%)	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ^a
Rata-Rata (Average)	2,13 ^a	1,79 ^b	

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan hasil tidak beda nyata dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$), $n = 5$ (Remarks: The numbers followed by the same letter show no real difference in results with a 95% confidence level ($\alpha = 0.05$), $n = 5$).



Gambar 2. Hasil Zona Hambat pada Bakteri *B. cereus* (A), dan *S. typhi* (B) (Zone of inhibition of bandotan leaves extracts against *B. cereus* (A) and *S. typhi* (B)).

Keterangan: (A) Konsentrasi Ekstrak Daun Bandotan 10%, (B) Konsentrasi Ekstrak Daun Bandotan 35%, (C) Kontrol Negatif Etanol 96%, (D) Kontrol Positif gentamisin, dan (E) Konsentrasi Ekstrak Daun Bandotan 60%. Anak panah menunjukkan zona hambat (Description: (a) Bandotan Leaf Extract Concentration 10%, (b) Bandotan Leaf Extract Concentration 35%, (C) Ethanol Negative Control 96%, (D) Gentamicin Positive Control, and (E) Bandotan Leaf Extract Concentration 60%. The arrow indicates the inhibition zone).

Analisis DMRT menunjukkan ada pengaruh beda nyata aktivitas antibakteri pada perlakuan konsentrasi ekstrak 10% dibandingkan dengan perlakuan konsentrasi 35% dan 60%. Perlakuan kontrol negatif etanol 96% tidak berbeda nyata dengan perlakuan konsentrasi 10%, sedangkan perlakuan kontrol positif gentamisin menunjukkan hasil beda nyata untuk semua perlakuan.

Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Hasil uji KHM pada *B. cereus* dan *S. typhi* dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Etanol Daun Bandotan pada *B. cereus* dan *S. Typhi* (Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of bandotan leave extracts against *B. cereus* and *S. typhi*).

Perlakuan (Treatment)	Hasil Uji* (Test Result)	
	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Salmonella typhi</i>
Ekstrak 15%	0	0
Ekstrak 30%	0	0
K (-) Suspensi <i>Bacillus cereus</i> dan <i>Salmonella typhi</i>	Spreader	Spreader
K (+) Gentamisin 10%	0	0

Ket. *: 0 = tidak ada pertumbuhan bakteri (absence of bacterial growth)

Hasil uji KHM menunjukkan ekstrak etanol daun bandotan pada konsentrasi 15% dan 30% mampu menghambat kedua bakteri tersebut. Hal ini ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri pada medium. Hasil KHM pada *B. cereus* dan *S. typhi* pada perlakuan kontrol positif tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri, sedangkan pada kontrol negatif ada pertumbuhan (spreader).

PEMBAHASAN

Rendemen

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun bandotan didapatkan hasil rendemen 4 kali lebih besar dibandingkan dengan penelitian Prajapati dkk. (2014). Rendemen maserasi bandotan dengan pelarut heksana sebesar 2,40%. Hal ini disebabkan adanya perbedaan kelarutan zat yang terdapat pada suatu pelarut yaitu etanol yang bersifat lebih polar dibandingkan heksana. Menurut Hasnaeni dkk. (2019), etanol memiliki tingkat polaritas yang tinggi, sedangkan heksana memiliki polaritas rendah. Semakin polar pelarut maka rendemen yang akan dihasilkan semakin banyak. Nilai rendemen ekstrak yang dihasilkan lebih besar apabila disesuaikan dengan tingkat polaritas pelarut dengan senyawa yang akan diekstraksi (Hasnaeni dkk., 2019).

Waktu ekstraksi juga berpengaruh karena semakin lama maserasi, maka rendemen yang dihasilkan semakin tinggi. Semakin lama reaksi antara sampel dan pelarut yang digunakan maka penetrasi pelarut yang masuk ke dalam sampel semakin baik sehingga senyawa yang berdifusi keluar sel akan makin banyak pula (Wijaya dkk., 2018).

Analisis Fitokimia Kualitatif

Hasil positif pada reagen Wagner disebabkan adanya senyawa yang mengendap (protein, kumarin, hidroksi flavon, dan α -piron) saat penambahan reagen (Sangi dkk., 2008). Menurut Tarakanita dkk. (2019), reagen pada alkaloid didasarkan pada kesanggupan alkaloid untuk bergabung dengan logam berat seperti merkuri (Hg), tungsten (Tu) atau iod (I), dan bismuth (Bi).

Hasil positif tanin dengan penambahan FeCl_3 , sesuai dengan hasil penelitian Matheos dkk. (2014), bahwa ion Fe^{3+} dengan atom O⁻ membentuk ikatan kovalen karena pada gugus fungsi OH- melepaskan atom H dan terjadi perubahan warna.

Hasil analisis saponin positif ditandai dengan terbentuknya busa setinggi ± 1 cm. Reaksi yang terjadi yaitu saponin akan berikatan dengan air membentuk gugus hidrofilik dan gugus hidrofobik akan saling berikatan dengan udara sehingga dapat membentuk busa (Bintoro dkk., 2017).

Hasil analisis steroid didapatkan perubahan warna ekstrak menjadi hijau dikarenakan adanya pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi pada steroid atau warna coklat serta jingga atau ungu pada triterpenoid (Setyawaty dkk., 2020).

Hasil analisis flavonoid dengan penambahan HCl dan Mg akan mereduksi senyawa flavonoid pada sampel dengan terjadinya perubahan warna kuning, merah, dan oranye (Maslahat dkk., 2013). Fungsi penambahan amil alkohol agar dapat menarik flavonoid yang bebas sehingga amil alkohol yang semula tidak berwarna menjadi berwarna (Setyawaty dkk., 2020).

Analisis Kuantitatif Flavonoid

Nilai R^2 yang mendekati satu menunjukkan kurva kalibrasi linear (Gambar 1), hal ini menandakan adanya keterkaitan konsentrasi kuersetin dengan nilai serapan atau absorbansi (Trinovita dkk., 2019). Kadar flavonoid total daun bandotan didapatkan sebesar 360,675 mg QE/g ekstrak. Semakin lama waktu maserasi menyebabkan senyawa aktif yang tersari semakin optimal karena adanya penggantian pelarut baru, sedangkan jika maserasi terlalu lama dan pelarut tidak diganti baru mengakibatkan pelarut menjadi jenuh dan senyawa yang diambil tidak optimal. Penggantian pelarut akan mengakibatkan penarikan senyawa dalam sel daun lebih mudah dan yang tertarik lebih banyak (Riwanti dkk., 2020).

Aktivitas Antibakteri

Ekstrak daun bandotan konsentrasi 60% menunjukkan aktivitas antibakteri yang paling besar dengan luas zona hambat $0,83 \pm 0,14$ cm² terhadap *B. cereus* dan terhadap *S. typhi* $0,58 \pm 0,10$ cm². Aktivitas antibakteri paling kecil ditunjukkan pada konsentrasi 10% dengan luas zona hambat $0,33 \pm 0,07$ cm² terhadap *B. cereus* dan $0,304 \pm 0,118$ cm² terhadap *S. typhi*. Hasil ini sesuai dengan penelitian Dhanam dkk. (2021), yang menyatakan makin tinggi konsentrasi senyawa antibakteri, maka zona hambat yang dihasilkan akan semakin besar. Hasil penelitian menunjukkan zona bening

di sekitar sumuran, hal ini dikarenakan daun bandotan mengandung senyawa antibakteri flavonoid dan alkaloid (Amandi dkk., 2012).

Mekanisme kerja flavonoid yaitu terjadi pembentukan senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler yang kemudian terlarut sehingga akan merusak membran sel bakteri dan senyawa intraseluler ikut keluar (Amalia dkk., 2017). Mekanisme kerja alkaloid yaitu mengganggu komponen sel bakteri yang menyusun peptidoglikan sehingga menyebabkan lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan sel menjadi mati. Alkaloid juga berperan dalam menghambat enzim topoisomerase sel bakteri serta interkelator DNA bakteri (Nurhasanah dan Gultom, 2020).

Perlakuan kontrol negatif etanol 96% tidak berbeda nyata dengan perlakuan konsentrasi 10%, sedangkan perlakuan kontrol positif gentamisin menunjukkan hasil beda nyata untuk semua perlakuan. Perbedaan hasil ini disebabkan struktur dinding sel Gram positif lebih sederhana yaitu tersusun atas lapisan peptidoglikan yang tebal sehingga senyawa pada ekstrak akan mudah merusak dinding sel bakteri, sedangkan pada Gram negatif memiliki struktur dinding sel lebih kompleks yang terdiri dari lipoprotein, lipopolisakarida, dan peptidoglikan yang digunakan untuk melindungi sel dan mencegah kebocoran dari protein periplasma sehingga senyawa pada ekstrak yang akan diuji tidak mampu merusak dinding sel Gram negatif (Egra dkk., 2019).

Hasil uji KHM menunjukkan ekstrak etanol daun bandotan pada konsentrasi 15% dan 30% mampu menghambat kedua bakteri tersebut. Hal ini ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri pada medium. Hasil uji pada *B. cereus* dan *S. typhi* pada perlakuan kontrol positif tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri, sedangkan pada kontrol negatif ada pertumbuhan (*spreader*). Uji KHM pada *B. cereus* dan *S. typhi* ditunjukkan pada konsentrasi ekstrak sebesar 15%. Hasil KHM ekstrak etanol daun bandotan menunjukkan 4 kali lebih besar dibandingkan dengan penelitian Maulidya dkk. (2020), yang menyatakan uji KHM daun bandotan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 4%. Penelitian yang dilakukan oleh Budiman dan Aulifa (2020) terhadap *S. aureus* menunjukkan hasil terbaik pada konsentrasi 2%. Menurut Datta dkk. (2019), perbedaan hasil disebabkan *S. typhi* merupakan bakteri Gram negatif yang lebih sensitif terhadap senyawa antibakteri dibandingkan dengan Gram positif *S. aureus*. Bakteri Gram positif mempunyai dinding sel yang tebal sehingga senyawa antibakteri akan lebih sulit untuk menembus ke dinding sel. Perbedaan ini yang menyebabkan nilai KHM lebih tinggi pada *S. typhi* dibandingkan *S. aureus*. Nilai KHM terhadap *B. cereus* lebih tinggi daripada KHM untuk *S. aureus*, diduga karena *B. cereus* merupakan bakteri yang mampu menghasilkan endospora (Bottone, 2010), yang lebih sulit ditembus oleh senyawa antibakteri dalam ekstrak daun bandotan.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun bandotan (*Ageratum conyzoides*) memiliki aktivitas antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan *B. cereus* dan *S. typhi*. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol daun bandotan untuk bakteri *B. cereus* dan *S. typhi* yaitu 15%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Tim Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Dekan Fakultas Teknobiologi UAJY dan Kepala Laboratorium Teknobiologi-Industri yang telah memberikan dukungan dan izin penggunaan sarana laboratorium.

KONTRIBUSI PENULIS

VMH: melakukan penelitian dan mengumpulkan data penelitian, membuat draf artikel, merevisi naskah akhir; BRS: menyusun konsep penelitian, memverifikasi data penelitian, merevisi naskah akhir; SSW: membantu menyusun konsep penelitian, memberikan masukan draf artikel, merevisi naskah akhir.

REFERENSI

- Amalia, A., Sari, I. dan Nursanty, R. 2017. Aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun sembung (*Blumea balsamifera* (L.) dc.) terhadap pertumbuhan bakteri methicillin mesistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Prosiding Seminar Nasional Biotik*, 5(1), pp.387-391.
- Amandi, B. A., Duru, M. K. C. dan Agomuo, E. N. 2012. Chemical profiles of leaf, stem, root, and flower of *Ageratum conyzoides*. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 2(4), pp.428-432.
- Arisanti, R. R., Indriani, C. dan Wilopo, S. A. 2018. Kontribusi agen dan faktor penyebab kejadian luar biasa keracunan pangan di Indonesia: kajian sistematis. *Berita Kedokteran Masyarakat*, 34(3), pp.99-106.
- Bintoro, A., Ibrahim, A. M. dan Situmerang, B. 2017. Analisis dan identifikasi senyawa saponin dari daun bidara (*Zhizipus mauritania* L.). *Jurnal Itekima*, 2(1), pp.84 – 94.
- Bottone, E. J. 2010. *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen. *Clinical Microbiology reviews*, 23(2), pp.382-398.
- Budiman, A. dan Aulifa, D. A. 2020. A study comparing antibacterial activity of *Ageratum conyzoides* L, extract and *Piper betle* L. extract in gel dosage forms against *Staphylococcus aureus*. *Pharmacogn Journal*, 12(3), pp.473-477.
- Datta, F. U., Daki, A. N., Benu, I., Detha, A. I. R. Foeh, N. D. dan Ndaong, N. A. 2019. Uji aktivitas antimikroba bakteri asam laktat cairan rumen terhadap pertumbuhan *Salmonella enteritidis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi sumur agar. *Jurnal Kajian Veteriner*, 1(1), pp.66-85.
- Dhanam, I. D. A. G. M., Fatmawati, N. N. D. dan Budayanti, N. N. S. 2021. Efek aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Jurnal Medika Udayana*, 10(2), pp.97- 105.
- Egra, S., Mardhiana., Patriawan, R., Kartika., Sirait, S. dan Kuspradini, H. 2019. Aktivitas antimikroba tanaman paku (*Stenochlaena palustris* dan *Pteridium caudatum*) terhadap bakteri (*Ralstonia solanacearum* dan *Streptococcus sobrinus*). *Jurnal Jamu Indonesia*, 4(1), pp.28-36.
- Fauziah., Maghfirah. dan Hardiana. 2021. Gambaran penggunaan obat tradisional pada masyarakat Desa Pulo secara swamedika. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 1(1), pp.37-50.
- Hamid, A. F. 2009. Pengembangan Farmasi Berbasis Tanaman Obat untuk Pemberdayaan dan Peningkatan Kesejahteraan. *International Seminar and Workshop Research and Development of Herbal Medicine for Community, Empowerment and controlling Tropical Diseases*. 23 Desember 2009. Syiah Kuala University, Banda Aceh, Indonesia.
- Hasnaeni, Wisdawati. dan Upaan, S. 2019. Pengaruh metode ekstraksi terhadap rendemen dan kadar fenolik ekstrak tanaman kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco). *Jurnal Farmasi Galenika*, 5(2), pp.175-192.
- Ikalinus, R., Widyastuti, S. K. dan Setiasih, N. L. E. 2015. Skrining fitokimia ekstrak etanol kulit batang kelor (*Moringa oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*, 4(1), pp.71-79.
- Januarti, I. B., Santoso, A. dan Razak, A. S. 2017. Ekstraksi senyawa flavonoid daun jati (*Tectona grandis* L.) dengan metode ultrasonik. *Media Farmasi Indonesia*, 12(2), pp.1181-1266.
- Korompis, G. E. C., Danes, V. R. dan Sumampouw, O. J. 2010. Uji *in vitro* aktivitas antibakteri dari *Lansium domesticum* Correa (langsar). *Chem.Prog*, 3(1), pp.13-19.
- Krochmal, K. B. dan Wicher, R. D. 2021. The minimum inhibitory concentration of antibiotics: methods, interpretation, clinical relevance. *Pathogens*, 10(2), pp.1-21.
- Mahmudah, F. L. dan Atun, S. 2017. Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol temukunci (*Boesenbergia pandurata*) terhadap bakteri *S. mutans*. *Jurnal Penelitian Saintek*, 22(1), pp.59-66.
- Mangarengi, Y., Harun, A., Noor, A. A. dan Batari, A. N. F. 2016. Identifikasi dan isolasi bakteri penyebab penderita dengan gejala suspek demam typhoid di rumah sakit Ibnu Sina Makassar Tahun 2016. *UMI Medical Journal*, 1(1), pp.51-65.

- Maslahat, M., Syaawalz, A. dan Restianingsih, R. 2013. Identifikasi senyawa kimia pada simplisia daun sirsak (*Annona muricata* Linn.). *Jurnal Sains Natural Universitas Nusa Bangsa*, 3(1), pp.63-73.
- Matheos, H., Runtuwene, M. R. J. dan Sudewi, S. 2014. Aktivitas antioksidan dari ekstrak daun kayu bulan (*Pisonia alba*). *Pharmacon*, 3(3), pp.235-246.
- Maulidya, S. A. I., Nuari, D. A., Suryana, S. dan Almarifah, S. 2020. Antibacterial activity of bandotan (*Ageratum conyzoides* L) leaves extracts against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Borneo Journal of Pharmacy*, 3(4), pp. 243-248.
- Mengkido, M., Lambui, O. dan Harso, W. 2019. Uji daya hambat ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. *Biocelebes*, 13(2), pp.121-130.
- Moritania, R., Effendi, I. dan Feliatra, F. 2019. Isolation and antagonism of bacteria test of biota in the mangrove ecosystem kayu ara river Siak regency. *Asian Journal of Aquatic Sciences*, 2(3), pp.190-196.
- Mubarak, F., Sartini, S. dan Purnawanti, D. 2018. Effect of ethanol concentration on antibacterial activity of bligo fruit extract (*Benincasa hispida* Thunb) to *Salmonella typhi*. *Indonesian Journal Of Pharmaceutical Science and Technology*, 5(3), pp.76-81.
- Nasronudin. 2011. *Penyakit infeksi di Indonesia Solusi Kini dan Mendatang* Edisi ke-2. Pusat Penerbitan dan Percetakan Unair, Surabaya. Halaman 1.
- Nurhasanah. dan Gultom, E. S. 2020. Uji aktivitas antibakteri ekstrak methanol daun krinyuh (*Chromolaena odorata*) terhadap bakteri MDR (*multi drug resistant*) dengan metode KLT bioautografi. *Jurnal Biosains*, 6(2), pp.45-52.
- Odeleye, O. P., Oluyeye, J. O., Aregbesola, O. A. dan Odeleye, P. O. 2014. Evaluation of preliminary phytochemical and antibacterial activity of *Ageratum conyzoides* (L) on some clinical bacterial isolates. *The International Journal of Engineering and Science*, 3(6), pp.1-5.
- Prajapati, R., Roy, S., Mishra, S., Raza, S. K. dan Thakur, L. K. 2014. Formulation development, standardization and antimicrobial activity of *Ageratum conyzoides* extracts and their formulation. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(2), pp.369-374.
- Pujiastuti, E. dan Ardini, A. R. A. W. 2015. Studi deksriptif kerasionalan penggunaan metronidazole tablet pada pasien diare di instalansi rawat inap RSUD dr. Loekmono Hadi Kudus. *Jurnal Keperawatan dan Kesehatan Masyarakat*, 1(5), pp.75-82.
- Riwanti, P., Izazih, F. dan Amaliyah. 2020. Pengaruh perbedaan konsentrasi etanol pada kadar flavonoid total ekstrak etanol 50, 70, dan 96% *Sargassum polycystum* dari Madura. *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*, 2(2), pp.82-95.
- Safrida, Y. D. dan Rahmah, R. 2021. Uji daya hambat ekstrak etanol daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Sains dan Kesehatan Darussalam*, 1(1), pp.17-23.
- Sangi, M., Runtuwene, M. R. J., Simbala, H. E. I. dan Makang, V. M. A. 2008. Analisis fitokimia tumbuhan obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chemistry Progress*, 1(1), pp.47-53.
- Setyawaty, R., Aptuning, R. B. dan Dewanto. 2020. Preliminary studies on the context of phytochemical compounds on skin of salak fruit (*Salacca zalacca*). *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 6(1), pp.1-6.
- Shu, M. 2013. Formulasi sediaan gel *hand sanitizer* dengan bahan aktif triklosan 0,5% dan 1%. *Calyptra*, 2(1), pp.1-14.
- Syafitri, N. E., Bintang, M. dan Falah, S. 2014. Kandungan fitokimia, total fenol, dan total flavonoid ekstrak buah harendong (*Melastoma affine* D. Don). *Current Biochemistry*, 1(3), pp.105-115.
- Syarifuddin, K. A., Yusriyani, Y. dan Dewi, A. 2022. Analisis kadar flavonoid total ekstrak etanol tempuyung (*Sonchus arvensis*) dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. *Fito Medicine*, 13(2), pp.69-76.

- Tarakanita, D. N. S., Satriadi, T. dan Jauhari, A. 2019. Potensi keberadaan fitokimia kamalaka (*Phyllanthus emblica*) berdasarkan perbedaan ketinggian tempat tumbuh. *Sylva Scientiae*, 2(4), pp.645-653.
- Trinovita, Y., Mundriyastutik, Y., Fanani, Z. dan Fitriyani, A. N. 2019. Evaluasi kadar flavonoid total pada ekstrak etanol daun sangketan (*Achyranthes aspera*) dengan spektrofotometri. *Indonesia Jurnal Farmasi*, 4(1), pp.13-18.
- Wijanarko, A., Perawati, S. dan Andriani, L. 2020. Standardisasi simplisia daun ciplukan. *Jurnal Farmasetis*, 9(1), pp.31-40.
- Wijaya, H., Novitasari. dan Jubaidah, S. 2018. Perbandingan metode ekstraksi terhadap rendemen ekstrak daun rambai laut (*Sonneratia caseolaris* L. Engl). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 4(1), pp.79-83.
- Winanti, I. L. 2016. Faktor yang berhubungan dengan kejadian pada anak SDN Brujul di Kecamatan Jaten Kabupaten Karanganyar tahun 2015. Skripsi S-1. Fakultas Ilmu Keolahragaan Universitas Negeri Semarang, Semarang.
- Wirasti. 2019. Penetapan kadar fenolik total, flavonoid total, dan uji aktivitas antioksidan ekstrak daun benalu petai (*Scurrula atropurpurea* Dans.) beserta penapisan fitokimia. *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 4(1), pp.1-5.