

**PENGARUH METODE EKSTRAKSI MASERASI DAN
SOXHLETASI DAUN BANDOTAN (*Ageratum conyzoides* L)
TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI
*Staphylococcus aureus***

SKRIPSI



**Oleh:
Sa'idah Ainun Nafi'ah
NIM. 17040085**

**PROGRAM STUDI FARMASI PROGRAM SARJANA
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
2021**

**PENGARUH METODE EKSTRAKSI MASERASI DAN
SOXHLETASI DAUN BANDOTAN (*Ageratum conyzoides* L)
TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI
*Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)



Oleh:
Sa'idah Ainun Nafi'ah
NIM. 17040085

**PROGRAM STUDI FARMASI PROGRAM SARJANA
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
2021**

LEMBAR PERSEMBAHAN

Puji syukur kehadiran Allah yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis diberi kemudahan dalam menyelesaikan skripsi. Skripsi ini dipersembahkan kepada:

1. Orang tua penulis, yaitu bapak Amin Rosidi dan ibu Nurul Qomariyah beserta seluruh keluarga besar yang telah memberikan kasih sayang dan do'a yang terbaik sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
2. Bapak apt. Nuri, S.Si., M.Si selaku dosen pembimbing 1 dan ibu Aliyah Purwanti, S.T., M.Si selaku dosen pembimbing II yang telah meluangkan waktu, pikiran, perhatian dan kesabaran dalam memberikan bimbingan skripsi ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
3. Ibu Susilawati, M.Kes sebagai penguji yang telah banyak memberikan bantuan, saran dan waktunya dalam skripsi ini.
4. Seluruh pihak lembaga Universitas dr.Soebandi yang telah memberikan fasilitas selama berjalannya penelitian sampai selesai.
5. Kakak Novi Rifqiatul Aifah dan adik Hilda Bariroh yang selalu memberikan dukungan dan semangat.
6. Ananda Prasetya Ulil Albab yang telah bersedia menjadi tempat keluh kesah selama penulisan skripsi ini.
7. Teman-teman kuliah seangkatan, adik kelas, kakak kelas di Universitas dr.Soebandi, maupun teman-teman fakultas dan Universitas lain yang telah

banyak memberikan masukan, semangat dan arahan sehingga dapat terselesainya skripsi ini.

LEMBAR PERSETUJUAN

Skripsi ini telah diperiksa oleh pembimbing dan telah disetujui untuk mengikuti seminar hasil pada Program Studi Farmasi Program Sarjana Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi

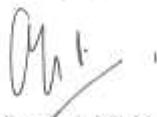
Jember, 15 Oktober 2021

Pembimbing I



apt. Nuri, S.Si., M.Si
NIDN. 0012046905

Pembimbing II



Aliyah Purwanti, S.T, M.Si
NIDN. 0709129002

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul *Pengaruh Metode Ekstraksi Maserasi dan Soxhletasi Daun Bandotan (Ageratum conyzoides L) terhadap Aktivitas Antibakteri Staphylococcus aureus* telah diuji dan disahkan oleh Program Studi Program Sarjana Farmasi pada:

Hari : Jum'at

Tanggal : 29 Oktober 2021

Tempat : Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi

Tim Penguji
Ketua,



Susilawati, M.Kes
NIDN. 4003127401

Penguji II,



apt. Nuri, S.Si., M.Si
NIDN. 0012046905

Penguji III,



Aliyah Purwanti, S.T., M.Si
NIDN.0709129002



Mengesahkan,
Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas dr. Soebandi,
Hella Meldy Fursina, S.Kep.,Ns.,M.Kep
NIDN. 0706109104

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Sa'idah Ainun Nafi'ah

NIM : 17040085

Program Studi : S1 Farmasi

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul “*Pengaruh Metode Ekstraksi Maserasi dan Soxhletasi Daun Bandotan (Ageratum conyzoides L) terhadap Aktivitas Antibakteri Staphylococcus aureus*” benar- benar merupakan hasil karya saya sendiri. Selain itu, sumber yang dikutip penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam daftar pustaka.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan penuh kesadaran dan tanpa adanya paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi jika dikemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidak benaran dalam pernyataan ini.

Jember, 20 September 2021
Yang membuat pernyataan,



Sa'idah Ainun Nafi'ah
NIM : 17040085

SKRIPSI

PENGARUH METODE EKSTRAKSI MASERASI DAN SOXHLETASI DAUN BANDOTAN (*Ageratum conyzoides L*) TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI *Staphylococcus aureus*

Oleh:

**Sa'idah Ainun Nafi'ah
NIM.17040085**

Pembimbing

Dosen pembimbing utama : apt. Nuri, S.Si., M.Si

Dosen pembimbing anggota : Aliyah Purwanti, S.T, M.Si

ABSTRAK

Nafi'ah, Sa'idah, Ainun.*,Nuri. **, Purwanti, Aliyah. ***.2021. *pengaruh metode maserasi dan soxhletasi daun bandotan (Ageratum conizoydes L) terhadap aktivitas antibakteri Staphylococcus aureus*. Skripsi, Program studi farmasi program sarjana Universitas dr.Soebandi.

Daun bandotan (*Ageratum conizoydes L*) merupakan tumbuhan yang mudah didapatkan dan tumbuh liar dipekarangan, perkebunan dan tanah lapang. Daun bandotan dapat digunakan sebagai obat tradisional untuk penyembuhan infeksi pada luka yang disebabkan oleh bakteri. Klasifikasi bakteri dibagi menjadi dua yaitu bakteri gram positif contohnya *Staphylococcus aureus* dan bakteri gram negatif contohnya *Pseudomonas aeruginosa*. Kandungan senyawa kimia daun bandotan yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan steroid yang berpotensi sebagai zat antibakteri. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh metode maserasi dan *soxhletasi* terhadap kandungan senyawa kimia dan aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini dilakukan secara eksperimental. Ekstraksi daun bandotan dengan metode maserasi dan *soxhletasi* menggunakan pelarut etanol 96%, selanjutnya dilakukan uji skrining fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa kimia daun bandotan dan dilakukan uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram. Hasil metode maserasi dan *soxhletasi* diketahui sama-sama memiliki kandungan senyawa kimia berupa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid. Hasil uji antibakteri ekstrak dengan metode *soxhletasi* memiliki daya hambat yang lebih besar yaitu $7,524 \text{ mm} \pm 1,457$, sedangkan ekstrak dengan metode maserasi memiliki daya hambat sebesar $4,749 \text{ mm} \pm 2,142$. Uji aktivitas antibakteri dianalisis menggunakan *one way ANOVA* yang menunjukkan ekstrak etanol daun bandotan dengan metode maserasi dan *soxhletasi* terdapat adanya perbedaan signifikan terhadap aktivitas antibakteri dengan nilai sig $0,000 < 0,05$. Kesimpulan penelitian ini yaitu tidak ada pengaruh metode ekstraksi maserasi dan *soxhletasi* terhadap kandungan tetapi metode ekstraksi mempengaruhi aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* yang ditandai dengan adanya zona hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus*.

Kata Kunci : Daun bandotan, maserasi, *soxhletasi*, *Staphylococcus aureus*.

- * Peneliti
- ** Pembimbing 1
- *** Pembimbing 2

ABSTRACT

Nafi'ah, Sa'idah, Ainun.*Nuri. **, Purwanti, Aliyah. ***.2021. *The effect of maceration and soxhletation extraction methods bandotan leaf (Ageratum conyzoides L) on antibacterial activity Staphylococcus aureus.* Thesis, Pharmacy Study Programme University of dr. Soebandi.

Bandotan leaf (Ageratum conyzoides L) are easy to obtain and grow wild in countryside, plantations, and fields. Bandotan leaf can be used as traditional medicine for infection on injury caused bacteria. Classification of bacteria has divided two are gram positive bacteria example Staphylococcus aureus and gram negative bacteria example Pseudomonas aureginosa. The Chemical compound is affected by extraction methode are alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, and steroid which potentially of antibacterial. The aim of this research is to find effect of maceration and soxhletation extraction methods againts chemical compound and antibacterial activity of Staphylococcus aureus. This research was an experiment, Bandotan leaf extraction with maceration and soxhletation methods using ethanol 96%, then a phytochemical screening test known the cemical coumpound of bandotan leaf, and antibacterial activity test used disk fussion method. The result of maceration and soxhletation methods known has equally chemical compound are alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, and steroid. The result of antibacterial test extract with soxhletation has a greater inhibitor zone than extract with sequent average clear zone $7,524\text{mm} \pm 1,457$, while extraction with maceration method a inhibitor zone $4,749\text{mm} \pm 2,142$. Antibacterial activity test were analyzed with one way ANOVA which indicate etanol extract of bandotan leaf with maceration and soxhletation methods avaibility of significant differences againts antibacterial activity with significant value $0,000 < 0,05$. Based on result of research conclude this research known no effect extraction method against of chemical compound but extraction methods is effecting Staphylococcus aureus antibacterial activity indicated the avaibility of an inhibitory zone of Staphylococcus aureus bacteri.

Keyword : Bandotan leaf, maceration, soxhletation, Staphylococcus aureus.

* Researcher
** Advisor 1
*** Advisor 2

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah Yang Maha Esa atas segala berkat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Metode Ekstraksi Maserasi dan *Soxhletasi* Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides* L) terhadap Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus aureus*”

Selama proses penyusunan skripsi ini penulis dibimbing dan dibantu oleh berbagai pihak, oleh karena itu penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Hella Meldy Tursina, S.Kep., Ns., M.Kep selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi
2. apt. Dhina Ayu Susanti, M.Kes selaku Ketua Program Studi Farmasi Program Sarjana Universitas dr. Soebandi
3. apt. Nuri, S.Si., M.Si selaku dosen pembimbing 1
4. Aliyah Purwanti, S.T, M.Si selaku dosen pembimbing 2
5. Susilawati, M.Kes selaku dosen penguji

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, sehingga penulis mengharapkan kritik serta saran yang bersifat membangun. Akhir kata, semoga tulisan ini bermanfaat bagi pembaca dan memberikan ilmu pengetahuan khususnya dalam bidang ilmu farmasi.

Jember, 19 Oktober 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERSEMBAHAN	ii
LEMBAR PERSETUJUAN	Error! Bookmark not defined.
HALAMAN PENGESAHAN	Error! Bookmark not defined.
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
KATA PENGANTAR	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2 Tujuan Khusus.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.5 Keaslian Penelitian	6

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Uraian Tumbuhan Bandotan.....	8
2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan Bandotan	8
2.1.4 Kandungan Senyawa Kimia Tumbuhan Bandotan.....	10
2.2 Ekstraksi	11
2.3 Bakteri	17
2.3.1 Klasifikasi Bakteri	17
2.3.2 Faktor Yang Mempengaruhi Pertumbuhan Bakteri.....	21
2.3.3 Fase Pertumbuhan Bakteri	23
2.4 <i>Staphylococcus aureus</i>	24
2.5 Antibakteri.....	27
BAB 3. KERANGKA KONSEP	31
3.1 Kerangka Konsep Penelitian	31
3.2 Hipotesis	32
BAB 4. METODE PENELITIAN	33
4.1 Desain Penelitian	33
4.2 Populasi dan Sampel	33
4.2.1 Populasi.....	33
4.2.2 Sampel	34
4.3 Tempat Penelitian.....	34
4.4 Waktu Penelitian	34
4.5 Variabel dan Definisi Operasional	34
4.6 Pengumpulan Data	37

4.7 Pengolahan dan Analisis Data.....	42
4.7.1 Pengolahan Data	42
4.7.2 Analisa Data.....	42
BAB 5. HASIL PENELITIAN	43
5.1 Identifikasi Tanaman	43
5.2 Ekstraksi	43
5.3 Skrining Fitokimia.....	43
5.4 Uji Antibakteri.....	46
5.5 Analisis Data	47
BAB 6. PEMBAHASAN.....	49
6.1 Identifikasi Tanaman Daun Bandotan	49
6.2 Ekstraksi Maserasi dan <i>Soxhletasi</i>	49
6.3 Skrining Fitokimia.....	51
6.4 Uji Antibakteri.....	53
BAB 7. PENUTUP.....	57
7.1 Kesimpulan.....	57
7.2 Saran	57
DAFTAR PUSTAKA	58
LAMPIRAN.....	63

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian.....	7
Tabel 4.1 Definisi Operasional	36
Tabel 5.1 Hasil Uji Skrining Fitokimia Metode Maserasi	44
Tabel 5.2 Hasil Uji Skrining Fitokimia Metode <i>Soxhletasi</i>	45
Tabel 5.3 Hasil Pengukuran Zona Hambat Bakteri (dalam mm).....	47
Tabel 5.4 Hasil Uji Asumsi ANOVA	47
Tabel 5.5 Hasil <i>Uji Kruskall Wallis</i>	48
Tabel 5.6 Hasil Uji Duncan.....	48

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tumbuhan Bandotan	9
Gambar 2.2 Pewarnaan Gram	18
Gambar 2.3 Bakteri Berbentuk Bulat.....	20
Gambar 2.4 Bakteri Berbentuk Batang	20
Gambar 2.5 Bakteri Berbentuk Spiral.....	21
Gambar 2.6 Fase Pertumbuhan Bakteri	24
Gambar 2.7 <i>Staphylococcus aureus</i> Perbesaran 10000×	25
Gambar 3.1 Kerangka Konsep	31
Gambar 5.1 Hasil Uji Antibakteri	46

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil Determinasi.....	63
Lampiran 2 Hasil <i>Mc Farland</i>	64
Lampiran 3 Hasil Uji Statistik.....	66
Lampiran 4 Dokumentasi.....	68
Lampiran 5 Perhitungan.....	72
Lampiran 6 Halaman Riwayat Hidup.....	74

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Masyarakat di Indonesia memanfaatkan tumbuhan secara tradisional karena memiliki efek samping lebih kecil dari obat yang dibuat secara sintetis (Laoli, 2018). Sebagian masyarakat Indonesia sudah biasa menggunakan obat-obatan tradisional yang umumnya berasal dari tumbuhan untuk mencegah atau untuk mengobati penyakit. Masyarakat menggunakan obat-obatan biasanya dengan cara meminum ekstrak air dari tanaman tersebut atau meletakkan tumbuhan obat yang sudah ditumbuk halus pada daerah tubuh yang sakit atau yang terkena infeksi.

Namun, dari berbagai jenis tumbuhan berkhasiat yang tumbuh di Indonesia, sebagian besar dari tumbuhan tersebut tidak diketahui manfaatnya oleh manusia dan sering dianggap sebagai tumbuhan liar contohnya seperti daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L). Tumbuhan tersebut juga banyak dianggap sebagai gulma yang mengganggu keindahan dan kehidupan tumbuhan lainnya (Laoli, 2018).

Tumbuhan bandotan ini mudah didapatkan di Indonesia dan tumbuhan ini telah banyak tumbuh liar di pekarangan, tepi jalan, perkebunan dan tanah lapang. Tumbuhan bandotan dapat digunakan dalam pengobatan tradisional, antara lain untuk pengobatan luka (Sugara dkk., 2016). Namun, sebagian orang masih banyak yang belum percaya bahwa tanaman bandotan dapat mengobati atau mencegah terjadinya infeksi pada luka.

Luka yang terjadi dapat menyebabkan terjadinya infeksi. Infeksi disebabkan oleh bakteri atau mikroorganisme yang patogen, mikroba masuk ke dalam jaringan tubuh dan berkembang biak di dalam jaringan. Bakteri yang menyebabkan infeksi umumnya bersifat patogen diantaranya adalah *Staphylococcus aureus* yang dapat ditemukan banyak pada kulit manusia, selaput lendir pada mulut, hidung, saluran pernapasan, saluran pencernaan dan sering ditemukan juga pada air, tanah, susu, makanan dan udara (Lasro, 2018).

Penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri patogen dapat disembuhkan oleh beberapa obat antibakteri. Namun dalam perkembangannya penanganan terhadap penyakit yang disebabkan bakteri ini menemui kesulitan. Perkembangan penggunaan obat tradisional khususnya tumbuh-tumbuhan dapat membantu meningkatkan kesehatan masyarakat secara meluas. Penyakit infeksi biasanya diatasi dengan menggunakan antibiotik. Penggunaan antibiotik secara berlebihan dapat membuat mikroba patogen menjadi resisten. Oleh karena itu, diperlukan alternatif dalam mengatasi masalah ini dengan memanfaatkan bahan-bahan aktif antimikroba dari tanaman obat (Mengkido dkk., 2019).

Daun bandotan memiliki kandungan senyawa kimia yang berpotensi sebagai zat antibakteri. Aktivitas antibakteri dari daun bandotan berkaitan erat dengan kandungan senyawa kimia yang dimiliki oleh daun bandotan. Metode ekstraksi dapat mempengaruhi konsentrasi dan efek terapi pada simplisia, karena beberapa kandungan senyawa kimia pada simplisia bersifat stabil dan juga dapat terurai, tergantung dari metode ekstraksi yang digunakan (Djamil, 2010). Metode ekstraksi juga sangat mempengaruhi kualitas dan kuantitas kandungan senyawa

kimia yang diekstraksi dari daun bandotan. Pemilihan metode ekstraksi yang tepat dapat meningkatkan kandungan senyawa kimia yang berpotensi sebagai zat antibakteri (Verawati, 2020).

Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa ekstrak etanol daun bandotan memiliki aktivitas antibakteri. Menurut penelitian yang dilakukan Sugara dkk. (2016) hasil uji ekstraksi maserasi ekstrak daun bandotan menggunakan pelarut heksana dan etil asetat difraksinasi memiliki aktivitas antibakteri dan menunjukkan bahwa rata-rata zona hambat yang dihasilkan terhadap *Staphylococcus aureus* cenderung lebih besar dibandingkan *Escherichia coli*. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 14 mm dan *Escherichia coli* 11 mm.

Tumbuhan bandotan mengandung senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, steroid, saponin, flavonoid, dan tanin (Sugara dkk., 2016). Menurut Robinson (1995) di dalam penelitian Laoli (2018) senyawa flavonoid, saponin, dan tanin merupakan senyawa kimia yang memiliki potensi sebagai antibakteri. Penelitian yang telah dilakukan oleh Mahibalan *et al* (2016) menunjukkan bahwa formulasi obat yang mengandung senyawa alkaloid dapat mempercepat penyembuhan luka.

Dalam pembuatan suatu sediaan galenik, diperlukan peningkatan kualitas ekstrak. Apabila kualitas ekstrak meningkat, maka kualitas sediaan obat tradisional ikut meningkat. Peningkatan kualitas ekstrak dapat dimulai dari metode ekstraksi yang digunakan untuk dapat menghasilkan ekstrak dengan kandungan senyawa aktif yang maksimal. Pada penelitian ini dilakukan ekstraksi

etanol daun bandotan dengan menggunakan dua metode ekstraksi, yaitu metode ekstraksi secara maserasi dan *soxhletasi*, sehingga dari perbedaan tersebut dapat diketahui metode ekstraksi yang lebih baik dalam menghasilkan ekstrak yang memiliki daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (Sitepu, 2015). Metode maserasi dipilih karena pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan dapat digunakan untuk senyawa yang tidak tahan panas (AS Hidayati, 2017), Sedangkan metode ekstraksi *soxhletasi* dipilih karena metode tersebut merupakan metode ekstraksi yang dapat mengekstrak senyawa kimia yang terkandung dalam tanaman secara optimum dan pelarut yang digunakan lebih sedikit (Anam, 2014).

Dari uraian di atas mendorong peneliti untuk melakukan pengujian pengaruh perbedaan metode ekstraksi secara maserasi dan *soxhletasi* terhadap kandungan senyawa kimia ekstrak etanol daun bandotan dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun bandotan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian adalah:

1. Apakah metode ekstraksi secara maserasi dan *soxhletasi* mempengaruhi kandungan senyawa kimia ekstrak etanol daun bandotan?
2. Apakah metode ekstraksi secara maserasi dan *soxhletasi* mempengaruhi aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun bandotan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh metode ekstraksi secara maserasi dan *soxhletasi* pada ekstrak etanol daun bandotan terhadap aktivitas pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus yang diharapkan pada penelitian ini yaitu ditujukan untuk :

1. Mengetahui pengaruh metode ekstraksi maserasi terhadap kandungan senyawa kimia pada ekstrak etanol daun bandotan.
2. Mengetahui pengaruh metode ekstraksi *soxhletasi* terhadap kandungan senyawa kimia pada ekstrak etanol daun bandotan.
3. Mengetahui pengaruh metode ekstraksi maserasi terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*
4. Mengetahui pengaruh metode ekstraksi *soxhletasi* terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat pada penelitian ini yaitu:

1. Memberikan informasi kepada masyarakat luas tentang manfaat ekstrak etanol daun bandotan dan kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak etanol daun bandotan.
2. Pada bidang industri farmasi dapat digunakan sebagai acuan untuk pengembangan produk herbal

3. Pada bidang keilmuan biologi farmasi dapat digunakan sebagai pengembangan ilmu pengetahuan.
4. Bagi peneliti dapat menambah ilmu pengetahuan, wawasan, dan pengalaman tentang metode yang paling efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dari perbandingan metode ekstraksi secara maserasi dan *soxhletasi*.

1.5 Keaslian Penelitian

Perbedaan penelitian ini dengan penelitian sebelumnya adalah membandingkan perbedaan dari dua metode ekstraksi yaitu maserasi dan *soxhletasi*, sedangkan persamaan penelitian ini dengan penelitian sebelumnya yaitu menggunakan ekstrak etanol daun bandotan sebagai antibakteri yang diujikan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Tabel 1.1 Keaslian Penelitian

Nama penulis	Tahun terbit	Judul penelitian	Hasil penelitian
Erra Ericha Safani, Wanodya Ayu Chandradevi Kunharjito1, Alfiyan Lestari1, Erlin Rakhmad Purnama	2019	Potensi Ekstrak Daun Bandotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L) Sebagai <i>Spray</i> Untuk Pemulihan Luka Mencit Diabetik Yang Terinfeksi <i>Staphylococcus aureus</i>	Daun bandotan diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% berpotensi sebagai terapi ulkus diabetikum yang terinfeksi <i>Staphylococcus aureus</i>
Melsi Mengkido, Orryani Lambui, Wahyu Harso	2019	Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Bandotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L) Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	Daun bandotan diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% dapat menghambat pertumbuhan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>
AS Hidayati, Harjono	2017	Uji Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Daun Babadotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L) dalam Pelarut Etanol	Daun bandotan diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol dan n-heksan pada sediaan krim dapat menghambat pertumbuhan bakteri <i>Bacillus subtilis</i> dan <i>Escherichia coli</i>
Taufan H. Sugara , Tun Tedja Irawadi, Irma Herawati Suprpto, Muhammad Hanafi	2016	Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun Tanaman Bandotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L)	Ekstraksi maserasi daun bandotan menggunakan pelarut heksana dan etil asetat difraksinasi dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i> .

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Uraian Tumbuhan Bandotan

2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan Bandotan

Tumbuhan bandotan merupakan famili *Asteraceae* yang memiliki khasiat untuk mengobati berbagai penyakit. Tumbuhan bandotan dapat digunakan sebagai salah satu obat tradisional. Obat tradisional sering digunakan sebagai alternatif pengobatan oleh masyarakat karena harganya yang relatif murah, tanaman obat lebih efektif dan tingkat bahaya dan resikonya relatif lebih kecil dibandingkan dengan obat kimia (Wulandari, 2019).

Secara ilmiah tumbuhan bandotan (*Ageratum conyzoides* L) diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnolipsida
Ordo : Asterales
Famili : Asteraceae
Genus : *Ageratum*
Spesies : *Ageratum conyzoides* L.

(Laoli, 2018)

2.1.2 Morfologi Tumbuhan Bandotan

Tumbuhan bandotan merupakan tumbuhan herba semusim, tumbuh tegak atau bagian bawahnya berbaring, tingginya sekitar 30-50 cm dan bercabang banyak.

Batangya berbentuk bulat, lunak dan berbulu. Daunnya berbentuk agak bulat berwarna hijau dan ada yang berwarna hijau agak kekuningan berbintik, bunganya bergerombol kecil-kecil, warna bunganya ada yang berwarna ungu dan juga ada yang berwarna putih (Hidayat S *et al.*, 2015 di dalam Naibaho, 2018).



Gambar 2.1 Tumbuhan Bandotan (Koleksi Pribadi, 2020)

2.1.3 Khasiat dari Tumbuhan Bandotan

Secara empiris, khasiat dari *Ageratum conyzoides* digunakan secara eksternal untuk menyembuhkan luka, lepra dan bisul dan sebagai antihemorhagik, antiseptik dan haemostatik (Dash *et al.*, 2011 di dalam Atisha dkk., 2018). Selain itu, bagian daunnya digunakan sebagai pencuci mata serta mengobati sakit perut dan luka (AS Hidayat dkk., 2017).

Daun bandotan memiliki rasa yang pahit dan pedas, tanaman ini dapat digunakan untuk menyembuhkan berbagai jenis penyakit seperti menghilangkan rasa nyeri, mengobati radang telinga, sakit perut, diare, bisul, borok, bengkak, sakit tenggorokan, luka terbuka, demam, malaria, influenza, tumor rahim, radang paru-paru, korengan, sariawan dan pendarahan pada rahim (Djauhariya, 2004 di dalam penelitian Naibaho, 2018).

2.1.4 Kandungan Senyawa Kimia Tumbuhan Bandotan

Menurut penelitian yang dilakukan oleh AS Hidayati dkk. (2017) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun bandotan positif mengandung senyawa flavonoid, saponin dan alkaloid. Bagian daun bandotan biasanya ditempelkan pada luka sebagai antiseptik dan penyembuhan luka dengan cepat karena kandungan senyawa alkaloid dan saponin bekerja sebagai antioksidan dan antibakteri (Aruna M *et al.*, 2015 di dalam Atisha dkk., 2018)

Saponin memiliki kemampuan sebagai pembersih atau antiseptik yang berfungsi membunuh kuman atau mencegah pertumbuhan mikroorganisme yang biasa timbul pada luka sehingga luka mengalami infeksi yang berat. Senyawa flavonoid dapat berperan sebagai antibiotik dengan mengganggu fungsi dari suatu mikroorganisme dan dapat membantu mempercepat penyembuhan pada luka (Wulandari, 2019).

Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh Laoli (2018) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun bandotan mengandung senyawa kimia berupa alkaloid, flavonoid, saponin, steroid/triterpenoid, dan tanin. Alkaloid dan steroid/triterpenoid merupakan senyawa kimia yang dapat digunakan sebagai antibakteri, tanin juga merupakan senyawa antibakteri dan juga memiliki efek sebagai astringensia.

Tumbuhan daun bandotan memiliki kandungan senyawa kimia yang dapat digunakan sebagai antibakteri, terutama bagian daun dan bunganya yang mengandung saponin, Flavonoid, disamping itu daunnya juga memiliki kandungan minyak atsiri dan kumarin (Mengkido dkk., 2019).

Hasil uji skrining fitokimia yang dilakukan Atisha dkk. (2018) tanaman bandotan pada bagian daunnya mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, dan tanin dengan konsentrasi tinggi, *aurone*, saponin dan fenol dengan konsentrasi sedang, *chalcone*, flavonol, *flavone*, *leucanthocyain*, *cyanic acid*, glikosida, steroid, kumarin, *charomone*, terpenoid, resin, dan *cardenolides* dengan konsentrasi rendah. Pada bagian batang tumbuhan bandotan mengandung flavonoid dan tanin dengan konsentrasi sedang, alkaloid, saponin, fenol, *chalcone*, *leucanthocyain*, *cyanic acid*, glikosida, steroid, kumarin, *charomone*, terpenoid, resin, dan *cardenolides* dengan konsentrasi yang rendah. Pada bagian akar tanaman bandotan mengandung senyawa kimia berupa alkaloid, flavonoid, tanin, *aurone*, saponin, fenol, *chalcone*, *leucanthocyain*, *cyanic acid*, glikosida, resin, dan *cardenolides* dengan konsentrasi rendah. Pada bagian bunga daun bandotan mengandung alkaloid, flavonoid, dan tanin dengan konsentrasi sedang, *aurone*, saponin fenol, *chalcone*, flavonol, *leucanthocyain*, *cyanic acid*, glikosida, steroid, kumarin, *charomone*, terpenoid, dan *cardenolides* dengan konsentrasi rendah.

2.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses penyarian zat aktif dari bagian tanaman obat yang bertujuan untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam bagian tanaman obat tersebut. Ekstrak adalah suatu produk hasil pengambilan zat aktif melalui proses ekstraksi menggunakan pelarut (Marjoni, 2016).

Beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam melakukan ekstraksi menurut Marjoni (2016) :

- a. Jumlah simplisia yang akan diekstrak. Jumlah simplisia yang akan diekstrak sangat erat kaitannya dengan jumlah pelarut yang akan digunakan. Semakin banyak simplisia yang digunakan, maka jumlah pelarut yang digunakan juga semakin banyak.
- b. Derajat kehalusan simplisia. Semakin halus simplisia maka luas kontak permukaan dengan pelarut juga akan semakin besar sehingga proses ekstraksi akan dapat berjalan lebih optimal.
- c. Jenis pelarut yang digunakan dalam ekstraksi. Pemilihan pelarut yang digunakan dalam ekstraksi sangat dipengaruhi oleh kepolaran dari pelarut itu sendiri.
- d. Waktu ekstraksi. Waktu yang digunakan selama proses ekstraksi akan sangat menentukan banyaknya senyawa-senyawa yang terekstrak.
- e. Metode ekstraksi. Berbagai metode ekstraksi dapat digunakan untuk menarik senyawa kimia dari simplisia.
- f. Kondisi proses ekstraksi. Beberapa proses ekstraksi memerlukan keadaan kondisi tertentu.

Adapun jenis-jenis ekstraksi menurut Marjoni (2016) yaitu:

1. Ekstraksi secara dingin

Ekstraksi secara dingin dapat dilakukan dengan beberapa cara berikut ini, yaitu:

- a. Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi sederhana yang dilakukan hanya dengan cara merendam simplisia dalam satu atau campuran pelarut selama waktu tertentu

pada temperatur kamar dan terlindung dari cahaya. Beberapa modifikasi metode ekstraksi maserasi sebagai berikut:

1) Remaserasi

Simplisia dimaserasi dengan pelarut pertama, setelah diendapkan, tuangkan dan diperas, ampasnya dimaserasi kembali dengan pelarut kedua.

2) Maserasi dengan mesin pengaduk

Penggunaan mesin pengaduk yang berputar secara kontinu dapat mempersingkat waktu maserasi menjadi 6-24 jam. Melalui pengadukan proses ekstraksi secara intensif dapat memberikan hasil ekstraksi yang lebih baik.

3) Maserasi melingkar

Pada metode ini, pelarut secara berkesinambungan mengalir dan menyebar melalui serbuk simplisia dan melarutkan zat aktif yang terdapat dalam simplisia.

4) Maserasi melingkar bertingkat

Metode ini ditujukan untuk memperbaiki metode maserasi melingkar dimana pada maserasi melingkar, proses ekstraksi tidak berjalan dengan sempurna. Metode maserasi melingkar bertingkat memiliki kelebihan dibandingkan metode maserasi melingkar diantaranya yaitu serbuk simplisia mengalami proses penyarian beberapa kali dan dapat ditambah sesuai kebutuhan, serbuk simplisia sebelum dikeluarkan dari bejana penyarian, disari kembali dengan pelarut sehingga hasil penyarian lebih maksimal, hasil penyarian sebelum diuapkan dapat digunakan terlebih dahulu untuk menyari serbuk simplisia yang baru, sehingga dapat memberikan sari dengan kepekaan yang maksimal, ekstrak yang dihasilkan lebih baik dibanding penyarian yang dilakukan satu kali dengan jumlah pelarut

yang sama, karena pada metode ini penyarian yang dilakukan secara berulang ulang

5) Ekstraksi turbo

Metode ini menggunakan alat pencampuran yang berputar cepat dan dilengkapi dengan pengaduk. Simplisia dicampurkan dengan pelarut dengan alat pencampur yang berputar sangat cepat, dan dilengkapi pemukul.

6) *Ultrasound assisted solvent extraction*

Ultrasound assisted solvent extraction merupakan metode maserasi yang dimodifikasi dengan menambahkan *ultrasound* (sinyal dengan frekuensi tinggi 20 kHz). Wadah yang berisi serbuk sampel ditempatkan dalam wadah *ultrasonic* dan *ultrasound*. Untuk memberikan tekanan mekanik pada sel hingga menghasilkan rongga pada sampel. Kerusakan sel dapat menyebabkan peningkatan kelarutan senyawa dalam pelarut dan meningkatkan hasil ekstraksi.

b. Perkolasi

Perkolasi adalah proses penyarian zat aktif secara dingin dengan cara mengalirkan pelarut secara kontinu pada simplisia selama waktu tertentu. Prinsip dari perkolasi adalah penyarian zat aktif yang dilakukan dengan cara mengalirkan suatu pelarut melalui serbuk simplisia yang telah terlebih dahulu dibasahi selama waktu tertentu, kemudian ditempatkan dalam suatu wadah berbentuk silinder yang diberi sekat berpori pada bagian bawahnya. Pelarut dialirkan secara vertikal dari atas kebawah melalui serbuk simplisia dan pelarut akan melarutkan zat aktif dalam sel-sel simplisia yang dilalui sampai mencapai keadaan jenuh.

2. Ekstraksi secara panas

Ekstraksi secara panas dapat dilakukan dengan beberapa cara berikut ini, yaitu:

a. Seduhan

Merupakan metode ekstraksi paling sederhana hanya dengan merendam simplisia dengan air panas selama waktu tertentu (5-10 menit).

b. *Coque* (penggodokan)

Merupakan proses penyarian dengan cara menggodok simplisia menggunakan api langsung dan hasilnya dapat langsung digunakan sebagai obat baik secara keseluruhan termasuk ampasnya atau hanya hasil godokannya saja.

c. Infusa

Infusa merupakan sediaan cairan sediaan cair yang dibuat dengan cara menyari simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit.

d. Dekokta

Proses penyarian secara dekokta hampir sama dengan infusa, perbedaannya hanya terletak pada lamanya waktu pemanasan. Waktu pemanasan pada dekokta lebih lama dibanding metode infusa, yaitu 30 menit dihitung setelah setelah suhu mencapai 90°C.

e. Refluks

Refluks merupakan proses ekstraksi dengan pelarut pada titik didih pelarut selama waktu dan jumlah pelarut tertentu dengan adanya pendingin balik (kondensor). Proses ini umumnya dilakukan 3-5 kali pengulangan pada residu pertama, sehingga termasuk proses ekstraksi yang cukup sempurna.

f. *Soxhletasi*

Proses *soxhletasi* merupakan proses ekstraksi panas menggunakan alat khusus berupa ekstrakstor *soxhlet*. Suhu yang digunakan lebih rendah dibandingkan dengan metode refluks.

g. Digestasi

Digestasi adalah proses ekstraksi yang cara kerjanya hampir sama dengan maserasi, hanya saja digestasi menggunakan pemanasan rendah pada suhu 30-40°C. Metode ini biasanya digunakan untuk simplisia yang tersari baik pada suhu biasa.

3. Cara ekstraksi lainnya (Depkes RI, 2000)

a. Ekstraksi berkesinambungan

Proses ekstraksi yang dilakukan berulang kali dengan pelarut yang berbeda atau resirkulasi cairan pelarut dan prosesnya tersusun berturutan beberapa kali. Proses ini dilakukan untuk meningkatkan efisiensi (jumlah pelarut) dan dirancang untuk bahan dalam jumlah besar yang terbagi dalam beberapa bejana ekstraksi.

b. Superkritikal karbondioksida

Penggunaan prinsip superkritik untuk ekstraksi serbuk simplisia dan umumnya digunakan gas karbondioksida. Dengan variabel tekanan dan temperatur akan diperoleh spesifikasi kondisi polaritas tertentu yang sesuai untuk melarutkan golongan senyawa kandungan tertentu. Penghilangan cairan pelarut dengan mudah dilakukan karena karbondioksida menguap dengan mudah, sehingga hampir langsung diperoleh ekstrak.

c. Ekstraksi energi listrik

Energi listrik digunakan dalam bentuk medan listrik, medan magnet serta “*Electric-discharges*” yang dapat mempercepat proses dan meningkatkan hasil dengan prinsip menimbulkan gelombang tekanan berkecepatan ultrasonik.

2.3 Bakteri

2.3.1 Klasifikasi Bakteri

Bakteri merupakan organisme yang sangat kecil akibatnya pada mikroskop tidak tampak jelas dan sukar untuk melihat morfologinya, maka dari itu dilakukan pewarnaan bakteri. Bakteri umumnya berbentuk 1 sel tunggal atau uniseluler, tidak mempunyai klorofil, berkembang biak dengan membelah sel atau biner. Tempat hidupnya tersebar di mana-mana, yaitu di udara, di dalam tanah, di dalam air, pada tanaman ataupun pada tubuh manusia atau hewan. Cakupan mikroorganisme sangat luas terdiri dari beberapa kelompok dan jenis ukurannya bermacam-macam (Putri dkk., 2017).

Klasifikasi bakteri patogen dibagi berdasarkan ciri khas dinding selnya menurut Putri dkk. (2017) yaitu:

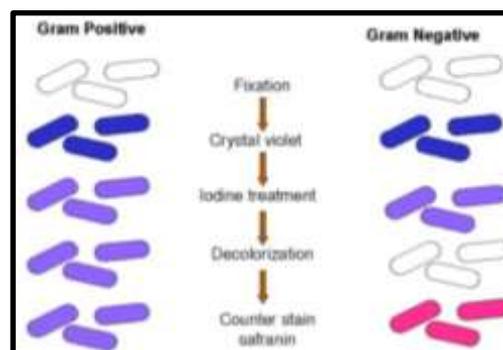
1. *Eubacteria*

a. *Gracilicutes* (Bakteri Gram Negatif)

Bakteri gram negatif mempunyai dinding sel dengan susunan kimiawi yang lebih kompleks jika dibandingkan dengan bakteri gram positif. Dinding sel pada bakteri gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan dan tiga lapisan polimer yaitu lipoprotein, selaput luar dan lipopolisakarida, sehingga dapat mempersulit

senyawa aktif obat menembus pada dinding sel bakteri gram negatif (Astuti, 2015). Pertumbuhan bakteri gram negatif dapat dihambat dengan memberikan antibiotik, contohnya seperti antibiotik jenis penisilin. Apabila terjadi resistensi terhadap antibiotik jenis penisilin dapat diberikan antibiotik jenis sefalosporin, dimana sefalosporin merupakan antibiotik yang lebih efektif terhadap bakteri gram negatif seperti *E. coli* dan *Pseudomonas* (Pratiwi, 2008). Bakteri gram negatif akan menghasilkan warna ungu pada pemberian zat pertama, setelah diberikan zat warna kedua (safranin) warna ungu akan berubah dan menghasilkan warna merah. Hal ini dapat dilihat pada gambar 2.2.

b. *Firmicutes* (Bakteri Gram Positif)



Gambar 2.2 Pewarnaan Gram (Putri dkk., 2017)

Bakteri gram positif mempunyai kandungan peptidoglikan yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan bakteri gram negatif, kandungan lipida dinding sel bakteri gram positif lebih rendah yaitu berkisar antara 1-4%, sedangkan kandungan lipida pada sel bakteri gram negatif berkisar antara 11-22% (Lay, 1994 di dalam Laoli, 2018). Pertumbuhan bakteri gram positif dapat dihambat menggunakan antibiotik seperti antibiotik basitrasin, dimana antibiotik jenis ini lebih efektif terhadap bakteri gram positif, misalnya *Staphylococcus* dan

Streptococcus (Pratiwi, 2008). Bakteri gram positif akan memberikan warna ungu pada saat pemberian zat warna pertama (kristal violet), setelah pemberian zat warna kedua (safranin) warna ungu pada bakteri tidak akan berubah sehingga akan tetap menghasilkan warna ungu. Hal ini dapat dilihat pada gambar 2.2

c. *Tenericutes*

Tenericutes adalah bakteri yang tidak memiliki dinding sel. Contohnya bakteri genus *Mycoplasma* yang merupakan bakteri terkecil dan dapat tumbuh dan bereproduksi diluar sel inang hidup (Pratiwi, 2008).

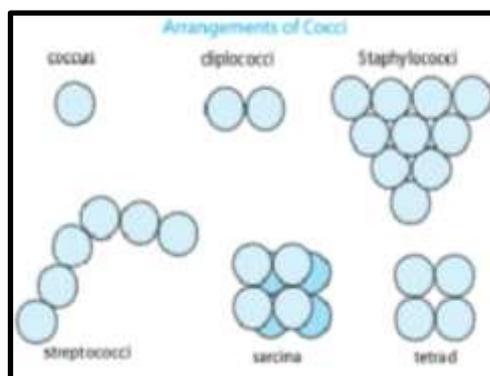
2. *Archaeobacteria*

Archaeobacteria dikenal dalam *eubacteri*. Dinding sel *archaea* tidak memiliki peptidoglikan. *Archaea* tidak peka terhadap antibiotik seperti penisilin dan sefalosporin. Ciri khas dari *archaeobacteria* berasal dari lingkungan yang ekstrim. *Archaeobacteria* dibagi menjadi 3 golongan, yaitu bakteri metanogenik (mutlak anaerob) seperti *Methanobacterium*, bakteri halofilik (tahan terhadap lingkungan kadar garam yang ekstrim) seperti *Halobacterium*, *Haloferax*, dan *Halococcus*. Bakteri termosidofilik (tahan terhadap lingkungan panas dan keasaman yang ekstrim) seperti bakteri *Thermoplasma acidophilus* dan *Thermoproteales* (Pratiwi, 2008).

Klasifikasi bakteri berdasarkan bentuk selnya menurut Putri dkk. (2017) yaitu:

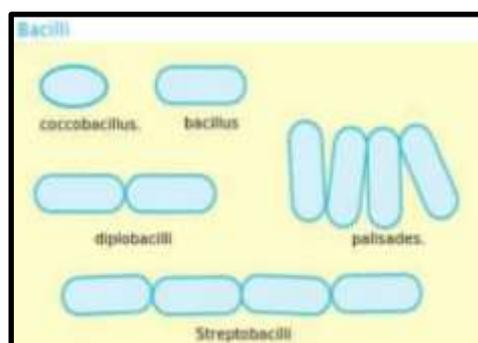
- a. Bentuk bulat, bakteri yang berbentuk bulat satu-satu (*coccus*), berbentuk bulat bergandengan dua-dua (*diplococcus*), berbentuk bulat seperti untaian buah anggur (*staphylococcus*), berbentuk bulat bergandengan seperti rantai

(*streptococcus*), berbentuk bulat terdiri dari 8 sel yang tersusun dalam bentuk kubus (*sarcina*), berbentuk bulat tersusun dari 4 sel berbentuk bujur sangkar (*tetracoccus/gaffkya*). Dapat dilihat pada gambar 2.3



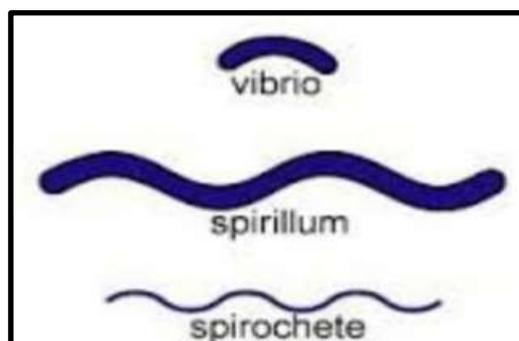
Gambar 2.3 Bakteri Berbentuk Bulat (Putri dkk., 2017)

- b. Bentuk batang, bakteri bentuk batang dapat membuat formasi yaitu sel tunggal (*monobasil*), bergandengan dua-dua (*diplobacil*), membentuk rantai (*streptobacil*), dan sebagai jaringan tiang (*palisade*). Hal tersebut dapat dilihat pada gambar 2.4



Gambar 2.4 Bakteri Berbentuk Batang (Putri dkk., 2017)

- c. Bentuk lengkung/spiral dibagi menjadi bentuk koma (*vibrio*), bentuk spiral lengkungnya lebih dari setengah lingkaran (*spirillum*), bentuk spiral yang halus dan lentur, lebih berkelok dengan ujung lebih runcing (*spirochaeta*). Hal ini dapat dilihat pada gambar 2.5



Gambar 2.5 Bakteri Berbentuk Spiral (Putri dkk., 2017)

2.3.2 Faktor Yang Mempengaruhi Pertumbuhan Bakteri

Bakteri membutuhkan beberapa hal untuk dapat bermetabolisme, melakukan pembelahan sel dan tumbuh secara optimal pada lingkungan yang menyediakan kebutuhan-kebutuhannya. Secara kimiawi bakteri terbentuk oleh unsur-unsur polisakarida, protein, lipid, asam nukleat dan peptidoglikan (Putri dkk., 2017). Agar mencapai pertumbuhan yang baik ada beberapa hal yang harus dipenuhi, yaitu:

1. Oksigen

Berdasarkan kebutuhan oksigen bakteri diklasifikasikan menjadi 4 kelompok menurut Putri dkk. (2017) yaitu :

- a. Obligat aerob: dapat tumbuh jika terdapat oksigen
- b. Fakultatif anaerob: jika ada oksigen menggunakan oksigen untuk membentuk energy, jika tidak tersedia cukup oksigen menggunakan jalur fermentasi 3.
- c. Obligat anaerob: dapat tumbuh jika tidak ada oksigen
- d. *Microaerophilic*: dapat tumbuh pada lingkungan dengan sedikit oksigen

2. Tingkat keasaman pH

pH optimal pada pertumbuhan bakteri yaitu berkisar antara pH 7,2 - 7,4. Suhu

optimal dibutuhkan untuk kerja enzim bakteri yang efektif, meskipun bakteri dapat tumbuh pada rentang suhu yang sangat lebar (Putri dkk., 2017).

Berdasarkan kebutuhan pH pada pertumbuhan bakteri dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Pratiwi, 2008) :

- a. Mikroorganisme asidofil tumbuh pada kisaran pH 1,0-5,5
- b. Mikroorganisme neutrofil tumbuh pada kisaran pH 5,5-8,0
- c. Mikroorganisme alkalofil tumbuh pada kisaran pH 8,5-11,5
- d. Mikroorganisme alkalofil ekstrim tumbuh pada kisaran pH ≥ 10

3. Suhu

Pada umumnya suhu bakteri dapat tumbuh optimal berdasarkan suhu tubuh manusia. Namun, ada beberapa bakteri yang dapat tumbuh pada suhu ekstrim misalnya pada suhu yang panas atau dingin (Yusmaniar dkk., 2017).

Berdasarkan kemampuan tumbuh pada suhu lingkungan, bakteri dapat diklasifikasikan sebagai berikut menurut Putri dkk. (2017):

- a. Bakteri mesofil, yaitu bakteri yang tumbuh pada suhu 20-45°C.
- b. Bakteri termofil, yaitu bakteri yang tumbuh pada suhu optimal 55-80°C.
- c. Bakteri psikofil, yaitu bakteri yang tumbuh pada suhu dibawah 20° C.

4. Nutrisi

Kebutuhan nutrisi bakteri yaitu hidrogen, karbon, ion-ion anorganik seperti nitrogen, sulfur, fosfat, magnesium, kalium, dan nutrien organik seperti asam amino, karbohidrat, purin, pirimidin dan media pertumbuhan .

Media adalah campuran nutrien atau zat makanan yang dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhan. Media selain untuk menumbuhkan mikroba

juga dibutuhkan untuk isolasi dan inokulasi mikroba serta untuk uji fisiologi dan biokimia mikroba (Yusmaniar dkk., 2017).

Berdasarkan bentuknya media menurut Yusmaniar dkk. (2017) dibedakan menjadi:

1. Media cair

Media cair digunakan untuk pembenihan perekayasa sebelum disebarkan ke media padat, tidak cocok untuk isolasi mikroba dan tidak dapat dipakai untuk mempelajari koloni kuman. Contoh *nutrient borth* (NB), *pepton dilution fluid* (PDF), *lactose borth* (LB), *mac concey borth* (MCB) dll.

2. Media semi padat

Media yang mengandung agar sebesar 0,5%.

3. Media padat

Mengandung komposisi agar sebesar 15%. Media padat digunakan untuk mempelajari koloni kuman, untuk isolasi dan untuk memperoleh biakan murni. Contoh media pada yaitu *nutrient agar* (NA), *potato detrose agar* (PDA), *plate count agar* (PCA) dll.

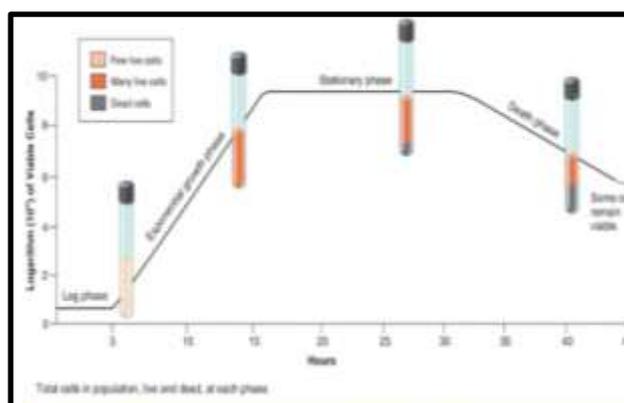
4. Media selektif

Media selektif merupakan media cair yang ditambahkan zat tertentu untuk menumbuhkan mikroorganisme tertentu dan diberikan penghambat untuk mikroba yang tidak diinginkan. Contoh media *Mannitol Salt Agar* (MSA)

2.3.3 Fase Pertumbuhan Bakteri

Siklus pertumbuhan bakteri mengalami 4 fase menurut Putri dkk. (2017) yaitu:

1. Fase lag: dapat berlangsung selama 5 menit sampai beberapa jam karena bakteri tidak akan membelah diri tetapi mengalami periode adaptasi.
2. Fase log (logaritme, eksponensial): pada fase ini terjadi pembelahan sel yang amat cepat, yang ditentukan oleh kondisi lingkungan.
3. Fase stasioner: fase ketika jumlah nutrisi menurun dengan cepat atau terbentuknya produk racun yang dapat menyebabkan pertumbuhan melambat hingga jumlah sel baru yang dihasilkan seimbang dengan jumlah sel yang mati.
4. Fase penurunan atau fase kematian: fase yang ditandai dengan menurunnya jumlah bakteri yang hidup.



Gambar 2.6 Fase Pertumbuhan Bakteri (Putri dkk., 2017)

2.4 *Staphylococcus aureus*

Menurut Madona (2013) di dalam penelitian (Lasro, 2018) klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai berikut :

Divisi : Protophyta
 Sub divisi : Schizomycetes
 Ordo : Eubacteriales

Famili : Micrococcaceae
Genus : Staphylococcus
Spesies : *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* termasuk dalam famili *Micrococcaceae*. Bakteri ini berbentuk bulat. Koloni mikroskopis cenderung menyerupai buah anggur. Menurut bahasa Yunani, *Staphylococcus aureus* berasal dari kata *staphyle* yang berarti kelompok buah anggur dan *coccus* yang berarti bulat. *Staphylococcus aureus* adalah gram positif berbentuk bulat. *Staphylococcus aureus* memiliki diameter 0,8 - 1,0 mikron, tidak bergerak dan tidak berspora. *Staphylococcus aureus* bersifat anaerob fakultatif dan menghasilkan enzim katalase (Lasro, 2018).



Gambar 2.7 *Staphylococcus aureus* Perbesaran 10000× (Wulandari, 2019)

Menurut uji identifikasi yang dilakukan oleh Khaerunnisa dkk. (2019) *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh pada suhu 4,6 - 46°C dengan suhu optimum 37°C, hasil uji identifikasi dari isolat uji *Staphylococcus aureus* memiliki hasil positif dari pewarnaan gram yaitu berwarna ungu.

Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat menyerang bagian tubuh manusia. Bakteri ini dapat ditemukan pada hidung, mulut, mata, jari, usus dan kulit. Bakteri ini mampu bertahan lama pada bagian tubuh manusia. Pada manusia yang

menderita penyakit kulit biasanya memiliki rentang yang lebih tinggi mengalami infeksi bakteri *Staphylococcus aureus*, hal ini disebabkan karena bakteri *Staphylococcus aureus* biasanya sering terjadi pada kulit yang terkena luka terbuka atau luka potong (Radji *et al.*, 2010 didalam penelitian Naibaho, 2018).

Infeksi *Staphylococcus aureus* dapat menimbulkan nanah atau abses. Infeksinya akan lebih berat apabila bakteri ini menyerang pada anak-anak, usia lanjut dan orang dengan daya tahan tubuhnya lemah atau menurun seperti pada penderita diabetes militus, luka bakar dan AIDS. *Staphylococcus aureus* juga dapat menyebabkan infeksi pada folikel rambut dan kelenjar keringat (Wulandari, 2019).

Pertumbuhan bakteri dapat dihambat dengan memberikan antibiotik. Antibiotik bekerja dengan merusak lapisan peptidoglikan yang menyusun dinding sel bakteri gram positif maupun gram negatif, misalnya penisilin. Apabila *Staphylococcus aureus* resisten terhadap penisilin dapat diberikan vankomisin atau synercid yang bekerja pada ribosom bakteri dengan merusak sintesis protein, namun antibiotik ini mahal dan efek sampingnya cukup besar (Pratiwi, 2008).

Saran pemberian antibiotik yang dapat direkomendasikan untuk bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu golongan fluoroquinolon seperti levofloxacin. Levofloxacin adalah obat yang digunakan untuk mengobati penyakit infeksi bakteri seperti infeksi pneumonia, infeksi saluran kemih dan infeksi kulit dengan mekanisme kerja menghambat sintesis asam nukleat (Sagita dkk., 2020).

2.5 Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang dapat digunakan sebagai penghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri. Pengendalian pertumbuhan mikroorganisme bertujuan untuk mencegah penyakit serta infeksi (Naibaho, 2018). Zat antibakteri dapat digunakan apabila dapat menghambat atau membunuh bakteri patogen tanpa merusak tubuh (Allo, 2016).

Mekanisme penghambat antibakteri dapat dikelompokkan menjadi lima menurut Pratiwi (2008) yaitu:

a. Menghambat sintesis dinding sel

Antibakteri dapat merusak lapisan peptidoglikan yang menyusun dinding sel bakteri gram positif maupun bakteri gram negatif.

b. Merusak membran plasma

Adanya gangguan atau kerusakan struktur pada membran plasma dapat menghambat atau merusak kemampuan membran plasma sebagai penghalang proses biosintesis yang diperlukan dalam membran.

c. Menghambat sintesis protein

Antibakteri berikatan dengan subunit 30S ribosom bakteri dan menghambat translokasi peptidil-tRNA dan mengakibatkan bakteri tidak mampu melakukan sintesis protein untuk pertumbuhannya.

d. Menghambat sintesis asam nukleat

Penghambatan sintesis asam nukleat berupa penghambatan transkripsi dan replikasi mikroorganisme.

Menurut Talaro (2005) di dalam penelitian Allo (2016) mekanisme kerja antibakteri sebagai berikut:

- a. Menghambat sintesis dinding sel bakteri dengan cara menghambat kinerja enzim yang berperan dalam sintesis dinding sel.
- b. Mengganggu fungsi membran plasma dengan cara berikatan dengan plasma kemudian membuka membran plasma sehingga membran plasma menjadi bocor.
- c. Mengganggu sintesis asam nukleat dengan cara menghentikan sintesis nukleotida, menghambat replikasi DNA, dan menghentikan transkripsi.
- d. Menghentikan proses translasi dengan cara mengganggu kerja ribosom-mRNA.

Pengujian antibakteri dapat dilakukan di laboratorium menggunakan beberapa metode pengujian, diantaranya yaitu:

1. Metode difusi

Metode ini adalah metode yang digunakan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba (Pratiwi, 2008). Pada pengujian difusi dapat dilakukan dengan 3 cara menurut Prayoga (2013) yaitu:

- a. Metode cakram (*disk*)

Metode cakram merupakan cara yang sering digunakan untuk menentukan kepekaan bakteri terhadap berbagai macam obat. pada metode ini digunakan suatu cakram kertas saring (*paper disk*) yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antibakteri. Hasil dari pengamatan pada metode ini diperoleh ada atau tidak adanya daerah bening yang terbentuk di sekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat/zona bening pada pertumbuhan bakteri. Metode

cakram *disk* mudah dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus dan relatif murah.

b. Metode parit (*ditch*)

Metode ini menggunakan lempeng agar yang telah diinokulasi dengan bakteri uji yang dibuat sebidang parit. Parit tersebut berisi zat antibakteri, dan diinkubasi pada waktu dan suhu tertentu sesuai dengan agen bakteri uji. Hasil pengamatan yang dilakukan dalam metode ini adalah ada atau tidaknya zona hambat yang akan terbentuk di sekitar parit.

c. Metode sumuran (*hole/cup*)

Metode ini serupa dengan metode cakram (*disk*). Pada metode sumuran ini menggunakan lempeng agar ditanami dengan agen bakteri yang dibuat dalam suatu lubang dan sisi dengan zat antibakteri yang akan diuji.

2. Metode dilusi cair (*broth dilution test*)

Metode ini dilakukan dengan cara membuat seri pengenceran agen antimikroba (dengan berbagai konsentrasi) pada media yang telah ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji agen antimikroba pada konsentrasi terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM (konsentrasi hambat minimum). Larutan yang ditetapkan sebagai KHM dikultur ulang pada media padat tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media yang tetap terlihat jernih pada konsentrasi terkecilnya setelah diinkubasi akan ditetapkan sebagai KBM (konsentrasi bunuh minimum) (Laoli, 2018). Metode ini terdiri dari dua cara menurut Pratiwi (2008), yaitu:

a. Pengenceran serial dalam tabung

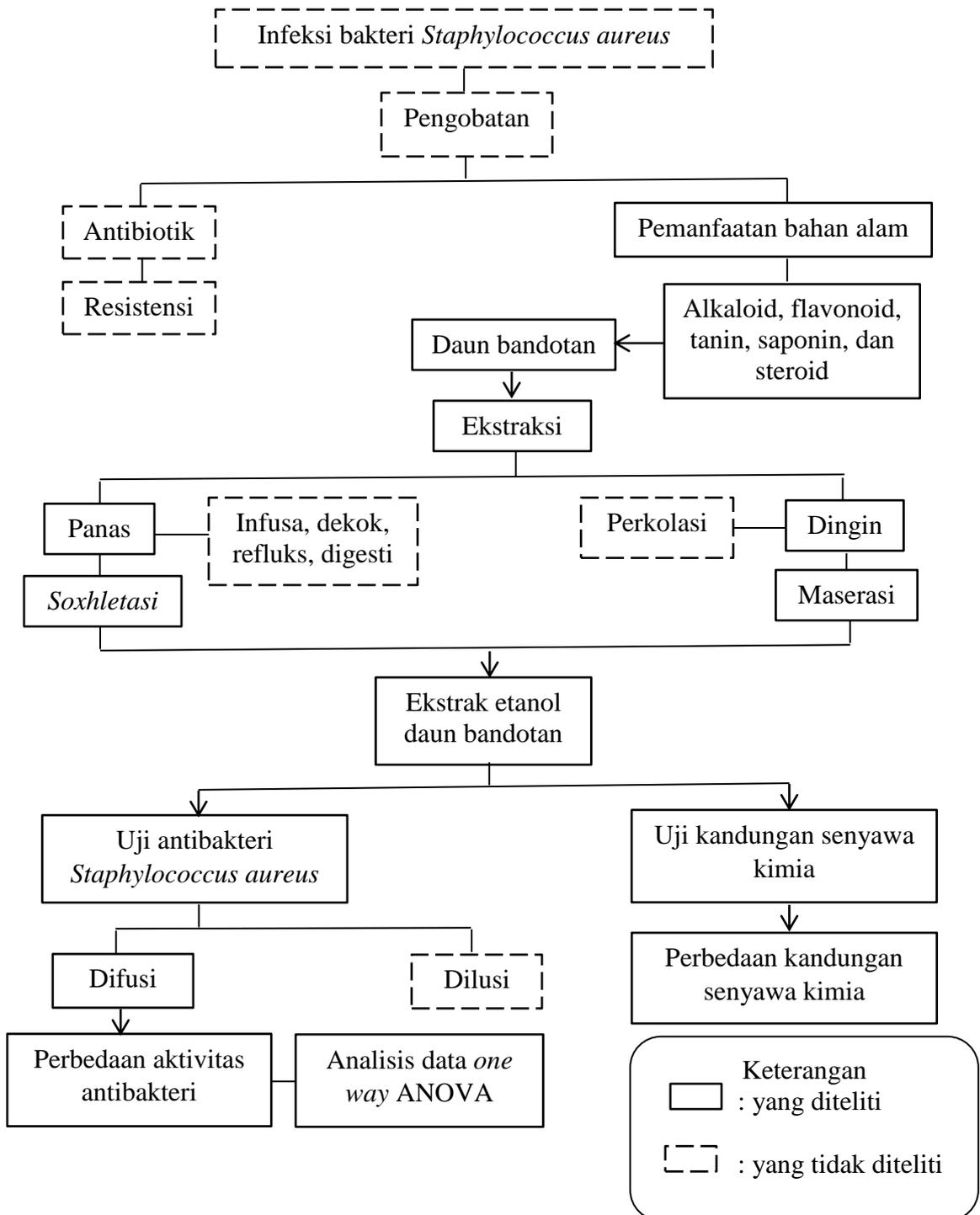
Pengujian dilakukan dengan menggunakan tabung reaksi yang diisi dengan bakteri uji dan zat antibakteri dalam berbagai konsentrasi. Zat yang akan diuji bakterinya diencerkan sesuai serial dalam media cair. Pengamatan pada metode ini yaitu dengan aktivitas zat yang ditentukan sebagai kadar hambat minimal (KHM).

b. Penipisan lempeng agar

Zat antibakteri diencerkan dalam media agar dan dituangkan kedalam cawan petri. Setelah membeku diinokulasi dengan bakteri uji dan diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan bakteri uji. Konsentrasi terendah dari larutan zat antibakteri yang masih memberikan hambatan terhadap pertumbuhan bakteri ditetapkan sebagai konsentrasi hambat minimal (KHM).

BAB 3. KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 3.1 Kerangka Konsep

3.2 Hipotesis

H₀: Tidak ada pengaruh dari metode maserasi dan *soxhletasi* ekstrak etanol daun bandotan terhadap kandungan senyawa kimia dan aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus*.

H_a: Ada pengaruh dari metode maserasi dan *soxhletasi* ekstrak etanol daun bandotan terhadap kandungan senyawa kimia dan aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus*.

BAB 4. METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Pada penelitian ini dilakukan penelitian secara eksperimental, dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh dari ekstrak etanol daun bandotan dengan metode ekstraksi secara maserasi dan *soxhletasi* terhadap kandungan senyawa kimia dan aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus*. Jenis penelitian ini yaitu *true experiment design* karena rancangan penelitian eksperimental ini meneliti kemungkinan sebab akibat antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol. Sunarti, (2009) mengatakan bahwa metode eksperimental merupakan metode penelitian yang menguji hipotesis berbentuk hubungan sebab akibat melalui variabel independen dengan variabel lainnya, selain itu metode eksperimen dilakukan dengan tujuan agar hipotesis yang telah dirumuskan dapat terbukti. Penelitian eksperimental pada umumnya digunakan dalam penelitian yang bersifat laboratoris.

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi

Populasi adalah sekumpulan obyek penelitian yang memiliki karakteristik yang sama. Populasi semua individu yang menjadi sumber pengambilan sampel. Populasi dalam penelitian ini adalah tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) yang diambil dari salah satu perkebunan di daerah Kecamatan Mayang Kabupaten Jember.

4.2.2 Sampel

Sampel merupakan bagian dari populasi. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) yang diambil dari tumbuhan bandotan.

4.3 Tempat Penelitian

Tempat penelitian dilakukan di Laboratorium Terpadu Universitas dr. Soebandi (Biologi Farmasi).

4.4 Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilakukan pada rentang waktu bulan Agustus-September 2021.

4.5 Variabel dan Definisi Operasional

Variabel penelitian adalah segala sesuatu yang berbentuk apa saja yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari sehingga diperoleh informasi tentang hal tersebut, kemudian ditarik kesimpulannya. Variabel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu variabel independen dan variabel dependen, adapun penjelasannya sebagai berikut:

1. Variabel independen/variabel bebas adalah variabel yang mempengaruhi atau menjadi sebab perubahannya atau timbulnya variabel dependen/terikat. Variabel bebas/independen pada penelitian ini yaitu metode maserasi dan *soxhletasi*.

2. Variabel terikat/variabel dependen adalah variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat, karena adanya variabel bebas/variabel independen. Variabel terikat pada penelitian ini adalah kandungan senyawa kimia dan aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus*.

Tabel 4.1 Definisi Operasional

No	Nama variabel	Definisi	Alat ukur	Cara ukur	Hasil ukur	Skala data
1	Ekstrak etanol daun bandotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L)	Hasil dari metode maserasi dan <i>soxhletasi</i> dengan cara mengeringkan daun bandotan dan dihaluskan. Kemudian diekstraksi menggunakan metode maserasi dan <i>soxhletasi</i> dengan pelarut etanol, lalu diuapkan.	Neraca analitik	Menimbang ekstrak yang diperoleh dari hasil metode ekstraksi maserasi dan <i>soxhletasi</i>	Ekstrak kental	Rasio
2	Skrining fitokimia	Uji kandungan senyawa kimia berupa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan steroid yang terdapat pada daun bandotan.	Tabung reaksi dan pipet tetes	Dengan menambahkan beberapa reagen yang sesuai	Terbentuknya warna atau endapan pada uji kandungan senyawa kimia ekstrak etanol daun bandotan	Nominal
3	Aktivitas antibakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	zat yang dapat digunakan sebagai penghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri yang bertujuan untuk mencegah penyakit serta infeksi	Jangka sorong	Mengukur diameter daya hambat pada area jernih disekitar piringan	Terbentuknya zona hambat di sekitar <i>paper disc</i>	Rasio

4.6 Pengumpulan Data

Pengumpulan data adalah suatu proses pendekatan pada subjek dan proses pengumpulan karakteristik subjek yang diperlukan dalam suatu penelitian. Teknik pengumpulan data pada penelitian ini adalah data primer yaitu data yang diperoleh secara langsung dari sumber penelitian.

1. Determinasi tanaman

Determinasi daun bandotan dilakukan untuk mengetahui jenis tumbuhan secara spesifik yang dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Terapan Universitas Ahmad Dahlan.

2. Pengolahan serbuk simplisia

Daun bandotan yang berwarna hijau dan masih segar dibersihkan dan dialiri dengan air mengalir lalu ditiriskan. Kemudian simplisia dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa terkena sinar matahari langsung selama 15 hari. Setelah simplisia kering kemudian dihaluskan menggunakan blender dan menghasilkan serbuk simplisia daun bandotan 487 gram.

3. Pembuatan ekstrak

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi dan *soxhletasi*, adapun langkah kerjanya sebagai berikut:

a. Maserasi

Metode maserasi dilakukan dengan menimbang serbuk simplisia sebanyak 200 gram dimasukkan ke dalam bejana maserasi dan ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 2000 mL. Bejana maserasi ditutup selama 6 jam sambil diaduk sesekali kemudian didiamkan selama 18 jam. Maserat dipisahkan dengan cara

filtrasi menggunakan kertas saring dan corong kaca. Metode maserasi yang dilakukan mengacu pada penelitian Naibaho (2018) dimana perendaman yang dilakukan dengan cara mencampurkan bahan dan pelarut dengan rasio 1:10 yaitu 300 gram bahan baku dan 3000 mL pelarut dengan modifikasi pelarut yang digunakan etanol 70%. Kemudian hasil maserasi (maserat) yang diperoleh diuapkan di atas *water bath*, dan ditimbang.

b. *Soxhletasi*

Ekstraksi *soxhletasi* dilakukan dengan menimbang 200 gram simplisia lalu di bungkus dengan kertas saring dan dimasukkan ke dalam tabung *soxhlet*. Labu dididh diisi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 600 mL, pemanas dinyalakan dan proses ekstraksi akan berjalan yang dilakukan sampai 10 siklus. Metode *soxhletasi* yang dilakukan mengacu pada penelitian Anam (2014) yaitu menggunakan bahan baku dan pelarut dengan rasio 1:3. Setelah proses *soxhletasi* selesai kemudian hasilnya diuapkan di atas *water bath*, lalu ditimbang.

4. Skrining fitokimia

Masing-masing uji skrining fitokimia ekstrak etanol daun bandotan dilakukan 3 kali pengulangan.

a. Uji alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan cara ekstrak etanol daun bandotan sebanyak 2 mL ($\pm 0,05\%$ b/v) ditambahkan 2 mL HCl, kemudian ditambahkan 3 tetes pereaksi *dragendroff*. Adanya alkaloid ditunjukkan dengan adanya endapan berwarna jingga atau orange (Wilapangga dkk., 2018).

b. Uji flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan cara ekstrak etanol daun bandotan sebanyak 2 mL ($\pm 0,05\%$ b/v) ditambah dengan serbuk Mg 0,1 gram. kemudian ditambahkan HCL pekat sebanyak 3 tetes. Uji flavonoid positif jika terjadi perubahan warna menjadi merah atau jingga (Wilapangga dkk., 2018).

c. Uji saponin

Sebanyak 2 mL ($\pm 0,05\%$ b/v) dilarutkan dalam akuades pada tabung reaksi dan dikocok selama 15 menit. Adanya senyawa saponin ditunjukkan dengan terbentuknya busa setinggi 1 cm (Wilapangga dkk., 2018).

d. Uji tanin

Sebanyak 0,1 gram sampel dididihkan selama 3 menit dalam 10 mL air suling lalu didinginkan dan disaring. Filtrat diencerkan sampai hampir tidak berwarna, lalu ditambahkan 1-2 tetes pereaksi besi (III) klorida 1 %. Jika terjadi warna biru kehitaman atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin (Laoli, 2018).

e. Uji steroid

Ekstrak etanol daun bandotan sebanyak 2 mL ($\pm 0,05\%$ b/v) ditambahkan asam asetat glasial sebanyak 20 tetes. Larutan dikocok secara perlahan, kemudian ditambahkan asam sulfat pekat sebanyak 1 tetes. Jika terbentuk warna biru atau hijau menunjukkan adanya steroid (Wilapangga, 2018).

5. Persiapan media

Sebelum melakukan pembuatan media dan pengujian antibakteri alat-alat yang akan digunakan disterilkan terlebih dahulu. Alat-alat gelas yang memiliki presisi dan media pertumbuhan bakteri disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121°C

selama 15 menit. Media, kawat ose dan pinset menggunakan api bunsen (Laoli, 2018).

a. *Nutrient agar*

Menimbang *nutrient agar* sebanyak 2 gram dimasukkan ke dalam enlenmeyer. Ditambahkan akuades *ad* 100 mL, lalu dipanaskan sampai bahan larut sempurna. Media disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit.

b. *Nutrient broth*

Menimbang *nutrient broth* sebanyak 0,8 gram dimasukkan ke dalam enlenmeyer. Ditambahkan akuades *ad* 100 mL, lalu dipanaskan sampai bahan larut sempurna. Media disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit.

c. *Mannitol salt agar*

Menimbang *Mannitol salt agar* sebanyak 11,11 gram dimasukkan ke dalam enlenmeyer. Ditambahkan akuades *add* 100 mL, lalu dipanaskan sampai larut sempurna. Media disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit

6. Pembuatan kontrol negatif dan kontrol positif

Kontrol negatif adalah perlakuan yang tidak memberikan hasil zona hambat pada uji pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Pada penelitian ini menggunakan DMSO 10% karena tidak memiliki efek sebagai antibakteri. Cara pembuatannya yaitu dengan cara 10 mL DMSO dimasukkan ke dalam gelas ukur dan ditambahkan akuades sampai volumenya 100 mL.

Kontrol positif adalah perlakuan yang memberikan hasil zona hambat pada uji pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang digunakan sebagai pembanding.

Pada penelitian ini menggunakan antibiotik levofloxacin $5\mu\text{g}/\text{disc}$ karena memiliki sensitifitas baik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Cara pembuatannya yaitu dengan 0,5 mg dilarutkan dalam akuades 100 mL (Khinanty, 2015).

7. Preparasi dan uji aktivitas antibakteri

Tahapan preparasi uji antibakteri yang dilakukan meliputi peremajaan bakteri yang dilakukan dengan menanam bakteri kedalam media *nutrient agar*. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Mehingko, 2013). Selanjutnya pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* yang dilakukan dengan cara mengambil satu ose koloni dari media *nutrient agar* miring ke dalam *nutrient broth* dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C .

Sebelum melakukan uji antibakteri dilakukan pengujian kekeruhan pada suspensi koloni uji yang distandarisasi dengan standar *Mc Farland*. Cara pembuatan standar *Mc Farland* adalah dengan cara BaCl_2 1% sebanyak 0,05 mL dicampur dengan 9,95 mL H_2SO_4 1%, kemudian uji densitas standart *Mc Farland* dengan mengukur absorbansinya menggunakan alat spektrofotometer. Absorbansinya diukur pada panjang gelombang 625 nm pada rentang 0,08 - 0,13 (Dalynn, 2014).

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan kertas cakram (*paper disc*) karena metode ini merupakan sederhana yang mudah dan cepat untuk pengujian aktivitas antibakteri (AS Hidayati dkk., 2017).

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan cara *paper disc* dicelupkan ke dalam DMSO 10% sebagai kontrol negatif (-), untuk kontrol positif *paper disc*

dicelupkan ke dalam antibiotik levofloxacin dan kontrol perlakuan *paper disc* dicelupkan ke dalam ekstrak daun bandotan yang sudah diekstraksi menggunakan metode maserasi dan *soxhletasi*, kemudian diletakkan di atas media *mannitol salt agar* yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1×24 jam. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun bandotan dengan perbandingan metode maserasi dan *soxhletasi* ditentukan dengan berdasarkan adanya zona bening di area *paper disk* (Laoli, 2018). Masing-masing uji antibakteri dilakukan sebanyak 6 kali pengulangan.

4.7 Pengolahan dan Analisis Data

4.7.1 Pengolahan Data

Pengukuran aktivitas antibakteri dilakukan dengan menghitung diameter zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* pada zona bening di sekitar *paper disk* yang diukur dengan jangka sorong dalam satuan mm.

4.7.2 Analisa Data

Data yang diperoleh diolah menggunakan uji statistik SPSS yaitu uji *One Way ANOVA*.

BAB 5. HASIL PENELITIAN

5.1 Identifikasi Tanaman

Identifikasi tanaman daun bandotan dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Terapan Universitas Ahmad Dahlan, Bantul, Yogyakarta. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian adalah daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L). Hasil identifikasi tanaman daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L) dapat dilihat pada lampiran 1.

5.2 Ekstraksi

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan pada metode ekstraksi maserasi dari 200 gram simplisia daun bandotan dengan pelarut etanol 96% 2000 mL mendapatkan hasil ekstrak kental sebanyak 14,75 gram dengan hasil rendemen 7,375%, sedangkan metode ekstraksi *soxhletasi* dari 200 gram simplisia dengan pelarut etanol 96% 600 mL mendapatkan hasil ekstrak kental sebanyak 20,24 gram dengan hasil rendemen 10,120%.

5.3 Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun bandotan yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun bandotan baik dengan metode maserasi dan *soxhletasi* sama-sama menunjukkan hasil positif mengandung senyawa kimia berupa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan steroid. Hal ini dapat dilihat pada tabel 5.1 dan 5.2

Tabel 5.1 Hasil Uji Skrining Fitokimia Metode Maserasi

Senyawa	Pereaksi	Hasil Menurut Literatur	Hasil pengamatan	Kesimpulan
Alkaloid	<i>Dragendroff</i>	Adanya alkaloid ditunjukkan dengan adanya endapan berwarna jingga atau orange (Wilapangga, dkk., 2018).	Terbentuk endapan orange	+
Flavonoid	Serbuk Mg dan HCl	Uji flavonoid positif jika terjadi perubahan warna menjadi merah atau jingga (Wilapangga dkk., 2018).	Terbentuk warna jingga	+
Saponin	Akuades	Adanya senyawa saponin ditunjukkan dengan terbentuknya busa setinggi 1 cm (Wilapangga dkk, 2018).	Terbentuk busa 1 cm	+
Tanin	Besi (III) klorida 1 %.	Jika terjadi warna biru kehitaman atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin (Laoli, 2018)	Terbentuk warna hijau kehitaman	+
Steroid	CH ₃ COOH glasial, H ₂ SO ₄ pekat	Jika terbentuk warna biru atau hijau menunjukkan adanya steroid (Wilapangga dkk., 2018).	Terbentuk warna hijau	+

Keterangan : (+) mengandung senyawa kimia

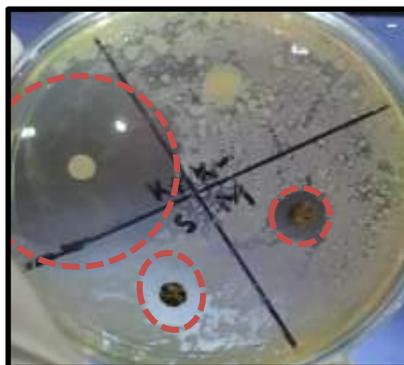
Tabel 5.2 Hasil Uji Skrining Fitokimia Metode *Soxhletasi*

Senyawa	Pereaksi	Hasil Menurut Literatur	Hasil pengamatan	Kesimpulan
Alkaloid	<i>Dragendroff</i>	Adanya alkaloid ditunjukkan dengan adanya endapan berwarna jingga atau orange (Wilapangga dkk., 2018).	Terbentuk endapan orange	+
Flavonoid	Serbuk Mg dan HCl	Uji flavonoid positif jika terjadi perubahan warna menjadi merah atau jingga (Wilapangga dkk., 2018).	Terbentuk warna jingga	+
Saponin	Akuades	Adanya senyawa saponin ditunjukkan dengan terbentuknya busa setinggi 1 cm (Wilapangga dkk., 2018).	Terbentuk busa 1 cm	+
Tanin	Besi (III) klorida 1 %.	Jika terjadi warna biru kehitaman atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin (Laoli, 2018)	Terbentuk warna hijau kehitaman	+
Steroid	CH ₃ COOH glasial, H ₂ SO ₄ pekat	Jika terbentuk warna biru atau hijau menunjukkan adanya steroid (Wilapangga dkk., 2018).	Terbentuk warna hijau	+

Keterangan : (+) mengandung senyawa kimia

5.4 Uji Antibakteri

Uji kekeruhan standar *Mc Farland* 0,5 dengan konsentrasi 1,5 mendapatkan hasil absorbansi 0,121 dan untuk absorbansi bakteri mendapatkan hasil absorbansi 0,129. Hal ini dapat dilihat pada lampiran 2. Hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun bandotan dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil uji antibakteri ekstrak etanol daun bandotan dapat dilihat pada gambar 5.1.



Gambar 5.1 Hasil Uji Antibakteri

Hasil uji antibakteri pada metode *soxhletasi* memiliki daya hambat yang lebih besar dibandingkan dengan metode maserasi. Zona hambat metode *soxhletasi* rata-rata sebesar $7,524 \text{ mm} \pm 1,457$, sedangkan zona hambat metode maserasi memiliki nilai rata-rata sebesar $4,749 \text{ mm} \pm 2,142$. Hasil uji antibakteri berupa hasil pengukuran zona hambat untuk masing-masing metode ekstraksi dapat dilihat pada tabel 5.3

Tabel 5.3 Hasil Pengukuran Zona Hambat Bakteri (dalam mm)

Replikasi	Diameter zona hambat bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> (mm)			
	<i>Soxhletasi</i>	Maserasi	K+	K -
1	8,440	7,030	24,130	0
2	5,710	1,130	24,195	0
3	6,405	4,610	24,605	0
4	9,275	6,505	25,470	0
5	6,625	3,740	24,730	0
6	8,690	5,480	25,980	0
Rata-rata±SD	7,524±1,457	4,749±2,142	24,851±0,732	0±0

Keterangan :K+ = Lefovloxacine.

K- = DMSO 10%.

5.5 Analisis Data

Hasil asumsi uji *one way* ANOVA pada uji normalitas memenuhi asumsi *one way* ANOVA, tetapi pada uji homogenitas tidak memenuhi syarat uji *one way* ANOVA dapat dilihat pada tabel 5.4.

Tabel 5.4 Hasil Uji Asumsi ANOVA

Variabel	Uji normalitas (Shapiro wilk)	Kesimpulan	Asumsi ANOVA	Uji homogenitas (Levene's test)	Kesimpulan	Asumsi ANOVA
Kontrol positif	0,422	Normal	Terpenuhi	0,029	Tidak homogen	Tidak memenuhi
<i>Soxhletasi</i>	0,390	Normal	Terpenuhi			
Maserasi	0,056	Normal	Terpenuhi			

Maka, dilanjutkan dengan uji non parametrik *Kruskall Wallis* yang menunjukkan $p < 0,000$ yang artinya terdapat perbedaan nyata pada tiap perlakuan dapat dilihat pada tabel 5.5

Tabel 5.5 Hasil Uji *Kruskall Wallis*

Hasil uji <i>Kruskall Wallis</i>	
sig	Uji signifikansi
0,000	Berbeda secara signifikan

Untuk mengetahui lebih lanjut kelompok mana yang berbeda signifikan maka dilanjutkan uji *pos hoc* yaitu duncan. Hasil dari uji duncan menunjukkan bahwa zona hambat bakteri kontrol positif berbeda nyata dengan perlakuan kontrol negatif, *soxhletasi* dan maserasi. Diameter zona hambat bakteri kontrol negatif berbeda nyata dengan perlakuan kontrol positif, *soxhletasi* dan maserasi. Diameter zona hambat bakteri *soxhletasi* berbeda nyata dengan perlakuan kontrol positif, kontrol negatif dan maserasi. Diameter zona hambat bakteri maserasi berbeda nyata dengan kontrol positif, kontrol negatif dan *soxhletasi* dapat dilihat pada tabel 5.6

Tabel 5.6 Hasil Uji Duncan

Kelompok	Sig	Subset	Uji signifikan
Kontrol negatif	1,000	0,000	Berbeda secara signifikan
Maserasi	1,000	4,749	Berbeda secara signifikan
<i>Soxhletasi</i>	1,000	7,524	Berbeda secara signifikan
Kontrol positif	1,000	24,851	Berbeda secara signifikan

BAB 6. PEMBAHASAN

6.1 Identifikasi Tanaman Daun Bandotan

Determinasi tanaman merupakan tahap awal yang dilakukan sebelum menuju tahap lebih lanjut pada proses penelitian. Determinasi tanaman adalah proses dalam menentukan nama/jenis tanaman secara spesifik yang bertujuan untuk mengetahui kebenaran identitas tanaman tersebut dan memastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian adalah tanaman yang diinginkan, sehingga dapat menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan yang akan diteliti (Kartika, 2015). Determinasi tanaman penelitian ini dicantumkan pada lamiran 1.

6.2 Ekstraksi Maserasi dan Soxhletasi

Maserasi dan *soxhletasi* merupakan metode yang memiliki perbedaan pada suhu yang digunakan selama proses ekstraksi. Pelarut yang digunakan pada proses maserasi dan *soxhletasi* menggunakan adalah etanol 96%. Pelarut etanol digunakan karena etanol merupakan pelarut universal yang aman digunakan dan tidak bersifat toksik (Irawan, 2014). Penggunaan etanol 96% sebagai pelarut karena etanol 96% mampu mengekstraksi senyawa polar maupun non polar, serta dapat menghambat pertumbuhan kapang dan kuman, dan sangat efektif dalam menghasilkan ekstrak yang optimal (Wardaningrum, 2019).

Hasil ekstraksi dari metode maserasi dan *soxhletasi* pada penelitian ini menunjukkan bahwa hasil ekstrak kental dan rendemen yang berbeda. Hasil rendemen menunjukkan bahwa metode *soxhletasi* menghasilkan rendemen yang

lebih tinggi dibandingkan metode maserasi yang ditunjukkan oleh hasil proses ekstraksi *soxhletasi* yang menghasilkan ekstrak kental sebesar 20,24 gram dengan rendemen sebesar 10,120% sedangkan maserasi menghasilkan ekstrak kental lebih rendah, yaitu 14,75 gram dengan rendemen sebesar 7,375%. Menurut Wardaningrum (2019) rendemen merupakan perbandingan antara hasil banyaknya metabolit yang didapatkan setelah proses ekstraksi dengan berat sampel yang digunakan. Rendemen dikatakan baik jika nilainya lebih dari 10%.

Hasil ekstraksi dari metode maserasi dan *soxhletasi* menunjukkan bahwa hasil ekstrak kental dan rendemen yang berbeda, dikarenakan pada metode maserasi menggunakan suhu ruang, sehingga tidak dapat mengekstraksi senyawa kimia yang tidak larut dalam suhu ruang secara sempurna. Hal ini diperkuat dengan penelitian yang dilakukan oleh Rosita dkk. (2017) bahwa ekstraksi dingin atau maserasi memungkinkan beberapa senyawa memiliki kelarutan terbatas dalam pelarut ekstraksi pada suhu kamar.

Metode *soxhletasi* merupakan metode terbaik untuk memperoleh ekstrak yang lebih banyak dan juga pelarut yang digunakan lebih sedikit. Proses ekstraksi pada metode *soxhletasi* berlangsung secara berulang-ulang. Ekstraksi yang berulang-ulang pada *soxhletasi* meningkatkan senyawa kimia yang diinginkan secara sempurna. Hal ini diperkuat oleh penelitian yang dilakukan oleh Kadji, *et al.* (2013) yang menyatakan bahwa secara teoritis hasil ekstraksi *soxhletasi* menghasilkan rendemen lebih tinggi yang disebabkan oleh panas yang dapat meningkatkan kemampuan pelarut untuk mengekstraksi senyawa kimia, serta terjadinya penarikan senyawa yang lebih maksimal oleh pelarut yang selalu

bersikulasi dalam proses kontak dengan serbuk simplisia sehingga memberikan peningkatan hasil rendemen.

6.3 Skrining Fitokimia

Ekstrak kental daun bandotan dari metode maserasi dan *soxhletasi* dilakukan uji skrining fitokimia. Skrining fitokimia merupakan uji kandungan senyawa kimia secara kualitatif yang dilakukan untuk mengetahui kandungan yang terdapat dalam daun bandotan yang sudah diekstraksi menggunakan metode maserasi dan *soxhletasi*. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun bandotan dengan metode maserasi dan *soxhletasi* positif mengandung semua senyawa kimia yang diujikan, yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan steroid.

Pada penelitian ini ditemukan senyawa alkaloid pada ekstrak etanol daun bandotan dengan metode ekstraksi *soxhletasi* dan maserasi, karena terbentuknya endapan berwarna *orange* pada hasil uji skrining fitokimia metode *soxhletasi* dan maserasi. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Sulistyarini dkk. (2019) Pengujian senyawa alkaloid yang diperoleh dari analisis senyawa yaitu terbentuknya endapan warna *orange*. Endapan berwarna *orange* terbentuk karena senyawa alkaloid yang berinteraksi dengan ion tetraiodobismutat (III) yang terkandung dalam reagen *dragendroff*.

Pada penelitian ini ditemukan senyawa flavonoid pada ekstrak etanol daun bandotan dengan metode ekstraksi *soxhletasi* dan maserasi, karena terdapat perubahan warna jingga pada hasil uji skrining fitokimia metode *soxhletasi* dan maserasi. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Wilapangga dkk. (2018)

Pengujian senyawa flavonoid yang diperoleh dari analisis senyawa yaitu terbentuknya warna jingga. Perubahan warna jingga karena senyawa flavonoid tereduksi dengan asam klorida pekat dan magnesium.

Pada penelitian ini ditemukan senyawa saponin pada ekstrak etanol daun bandotan dengan metode ekstraksi *soxhletasi* dan maserasi, karena terbentuknya busa pada hasil uji skrining fitokimia metode *soxhletasi* dan maserasi. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Sulistyarini dkk. (2019) Saponin merupakan senyawa yang mudah terdeteksi melalui kemampuannya dalam membentuk busa. Busa yang timbul disebabkan karena senyawa saponin memiliki sifat fisik yang mudah terhidrolisis dalam air sehingga menimbulkan busa ketika dikocok.

Pada penelitian ini ditemukan senyawa tanin pada ekstrak etanol daun bandotan dengan metode ekstraksi *soxhletasi* dan maserasi, karena terdapat warna hijau kehitaman pada hasil uji skrining fitokimia metode *soxhletasi* dan maserasi. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Wilapangga dkk. (2018) Penambahannya FeCl_3 1% bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil yang ada pada senyawa tanin. Hasil reaksi itulah yang akhirnya menimbulkan warna hijau kehitaman. Pereaksi FeCl_3 1 % digunakan secara luas untuk mengidentifikasi senyawa fenol termasuk tanin.

Pada penelitian ini ditemukan senyawa tanin pada ekstrak etanol daun bandotan dengan metode ekstraksi *soxhletasi* dan maserasi, karena terdapat warna hijau kehitaman pada hasil uji skrining fitokimia metode *soxhletasi* dan maserasi. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Sulistyarini dkk. (2019) Pengujian

senyawa steroid yang diperoleh dari analisis senyawa kimia yaitu terjadinya warna biru kehijauan. Steroid yang direaksikan dengan asam asetat glasial dan asam sulfat menghasilkan warna biru kehijauan karena reaksi yang terjadi antara asam asetat glasial dan asam sulfat dengan gugus –OH pada steroid.

6.4 Uji Antibakteri

Penentuan aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi agar menggunakan kertas cakram. Metode ini dipilih karena pengerjaannya sederhana, namun tetap memberikan hasil yang diharapkan. Prinsip dari metode ini yaitu mengukur diameter area jernih pada sekitar kertas cakram. Area jernih ini mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada media (Pratiwi, 2008).

Pada penelitian ini menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus*, karna menurut Diyantika dkk. (2017) Bakteri *Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif yang sering menginfeksi manusia dan merupakan bakteri yang resisten terhadap banyak antibiotik.

Hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun bandotan dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini ditandai dengan adanya zona bening di sekitar kertas cakram. Hasil uji antibakteri pada metode *soxhletasi* memiliki daya hambat yang lebih besar dibandingkan dengan metode maserasi dengan zona hambat *soxhletasi* rata-rata sebesar $7,524 \text{ mm} \pm 1,457$, sedangkan zona hambat metode maserasi memiliki nilai rata-rata sebesar $4,749 \text{ mm} \pm 2,142$. Hal ini diduga karena metode *soxhletasi* lebih optimal dalam menarik senyawa

kimia yang berpotensi sebagai antibakteri pada daun bandotan yang ditunjukkan dengan hasil rendemen yang diperoleh pada metode *soxhletasi* lebih tinggi yaitu 10,120% dibandingkan dengan metode maserasi yaitu 7,375%, sehingga aktivitas antibakteri yang diperoleh lebih besar menggunakan ekstrak hasil metode *soxhletasi* dibandingkan dengan metode maserasi.

Penggunaan suhu panas pada metode *soxhletasi* dapat meningkatkan kemampuan pelarut untuk mengekstraksi senyawa kimia yang berpotensi sebagai antibakteri. Proses ekstraksi komponen yang terdapat dalam simplisia melalui penyaringan secara berulang-ulang. Ekstraksi yang berlangsung secara berulang-ulang pada proses *soxhletasi* dapat meningkatkan kadar senyawa kimia yang berpotensi sebagai antibakteri, karena pada proses *soxhletasi* dilakukan sampai tetesan siklus hampir tidak berwarna. Tetesan siklus yang tidak berwarna menandakan semua senyawa pada simplisia dapat terekstrak secara sempurna (Rosita, 2017).

Penggunaan suhu ruang pada metode maserasi tidak dapat mengekstraksi senyawa kimia yang berpotensi sebagai antibakteri secara sempurna. Proses ekstraksi yang kurang sempurna ditandai dengan pelarut yang masih berwarna, sehingga aktivitas senyawa kimia yang berpotensi sebagai antibakteri kurang maksimal (Rosita, 2017).

Zona bening pada uji antibakteri diduga karena aktivitas dari kandungan senyawa kimia dalam menghambat bakteri *stahylococcus aureus*. Kandungan senyawa kimia memiliki mekanisme kerja yang berbeda dalam menghambat bakteri *stahylococcus aureus*.

Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh, terganggunya sintesis peptidoglikan sehingga pembentukan sel tidak sempurna karena tidak mengandung peptidoglikan dan dinding selnya hanya meliputi membran sel. Keadaan ini menyebabkan sel bakteri mudah mengalami lisis, baik berupa fisik maupun osmotik dan menyebabkan kematian sel (Khinanty, 2015).

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antimikroba yaitu menghambat fungsi membran sel sehingga membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Khinanty, 2015).

Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dapat menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel. Saponin dapat menjadi anti bakteri karena zat aktif permukaannya mirip detergen, akibatnya saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan dapat merusak permeabilitas membran. Rusaknya membran sel ini sangat mengganggu kelangsungan hidup bakteri. Hal ini yang mengakibatkan kematian sel bakteri (Khinanty, 2015).

Tanin memiliki aktivitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktifkan adhesin sel mikroba, menginaktifkan enzim, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel. Tanin pada membran sel bakteri akan bereaksi dengan protein untuk membentuk ikatan hidrogen sehingga protein akan didenaturasi, selain itu tanin juga dapat bereaksi

dengan fosfolipid sehingga tanin akan merusak sel membran dan menyebabkan kebocoran metabolit penting yang menonaktifkan sistem enzim bakteri (Khinanty, 2015).

Mekanisme steroid sebagai antibakteri berhubungan dengan membran lipid. Steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun serta morfologi membran sel berubah yang menyebabkan sel rapuh dan lisis (Khinanty, 2015).

Penelitian ini memiliki kekurangan yang perlu terus diperbaiki dalam penelitian-penelitian selanjutnya. Penelitian ini tidak melakukan penentuan kadar senyawa yang terdapat pada ekstrak etanol daun bandotan sehingga tidak diketahui secara spesifik pengaruh metode ekstraksi maserasi dan *soxhletasi* daun bandotan terhadap kandungan senyawa kimia yang diujikan. Penelitian ini hanya mengujikan pada bakteri gram positif saja yaitu *Staphylococcus aureus*.

BAB 7. PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa

1. Metode ekstraksi maserasi dan *soxhletasi* tidak mempengaruhi kandungan senyawa kimia. Kandungan senyawa kimia ekstrak daun bandotan dengan metode maserasi dan *soxhletasi* sama-sama menunjukkan positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan steroid.
2. Metode ekstraksi maserasi dan *soxhletasi* mempengaruhi aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* yang ditunjukkan dengan adanya zona hambat yang lebih besar ketika menggunakan ekstrak hasil *soxhletasi* dibandingkan ketika menggunakan ekstrak dari metode maserasi.

7.2 Saran

Berdasarkan penelitian ini, peneliti selanjutnya disarankan untuk:

1. Melakukan uji kadar secara kuantitatif terhadap kandungan senyawa kimia ekstrak etanol daun bandotan dengan metode maserasi dan *soxhletasi* untuk mengetahui perbedaan yang lebih spesifik terhadap pengaruh metode ekstraksi pada kandungan senyawa kimia ekstrak etanol daun bandotan.
2. Melakukan pengujian efek antibakteri ekstrak etanol daun bandotan terhadap bakteri gram negatif. Misalnya *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*, karena bakteri gram negatif mempunyai susunan kimiawi yang lebih kompleks dibandingkan bakteri gram positif sehingga lebih sulit untuk diobati.

DAFTAR PUSTAKA

- Allo, M.B. (2016). *Uji Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Air Kulit Buah Pisang Ambon Lumut (Musa acuminata Colla) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus*. Tugas Akhir. Program Studi Pendidikan Biologi Jurusan Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Sanata Dharma Yogyakarta
- Anam, C., Agustini, T. dan Romadhon, R. (2014) Pengaruh Pelarut Yang Berbeda Pada Ekstraksi Spirulina Platensis Serbuk Sebagai Antioksidan Dengan Metode Soxhletasi, *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, 3(4), pp. 106–112.
- AS Hidayati, Harjono. (2017) Uji Aktivitas Antibakteri Krim Ekstrak Daun Babadotan (*Ageratum conyzoides*. L) dalam Pelarut Etanol, *Jurnal MIPA*, 40(1), pp.33-38.
- Asifa, U. S., Khotimah, S. dan Hadi, D. P. (2014) *Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksana Kulit Buah Mangga (Garcinia mangostana L.) Terhadap Pertumbuhan Shigella flexneri Secara In Vitro*, Tugas Akhir. Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura.
- Astuti, H. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air Daun Bandotan (*Ageratum Conyzoides* , L .) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, *Majalah Farmaseutik*, 11(1), pp. 290–293.
- Atisha, S. A. dan Mita, S. R. (2018) Review: Herbal Bandotan (*Ageratum conyzoides* L)Sebagai Pengobatan Luka Terbuka, *Farmaka Suplemen*, 16(3), pp.116–121

- Dalynn Biologicals (2014) 'McFarland Standard', *McFarland Standards for in Vitro Use Only*, p.2. Available at: http://www.dalynn.com/dyn/ck_assets/files/tech.pdf.
- Departemen Kesehatan RI, 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan: Jakarta.
- Diyantika, D., Mufida, D. C. and Misnawi, M. (2017) 'The Morphological Changes of *Staphylococcus Aureus* Caused by Ethanol extracts of Cocoa Beans (*Theobroma Cacao*) through In Vitro', *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*, 3(1), p. 25. doi: 10.19184/ams.v3i1.4094.
- Djamal, R. 2010. *Kimia Bahan Alam: Prinsip-Prinsip Dasar Isolasi dan Identifikasi*. Padang: Universitas Baiturrahman.
- Irawan, H. (2014) 'Pengaruh Konsentrasi Pelarut Etanol Terhadap Profil Kromatogram Dan Kandungan Senyawa Kimia Dalam Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) Dan Daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta L.*)', *Article*, pp. 40–45.
- Kadji, M. H., M. R. J. Runtuwene., dan G. Citraningtyas. (2013). Uji Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC). FMIPA UNSRAT. Manado.
- Khaerunnisa, Rismaya, Kurniati, Iis, Nurhayati, Dewi, Dermawan, Asep. (2019) Pemanfaatan Air Rebusan Umbi Kuning Dan Ungu Sebagai Media Alternatif Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, *Jurnal Riset Kesehatan Poltekkes Depkes Bandung*. doi: 10.34011/juriskesbdg.v11i1.753.
- Khinanty, N. (2015) *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Pelepah Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* Linn.) terhadap *Propionibacterium acnes**. Tugas

- Akhir. Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura, 2(2), pp. 422–433
- Laoli, N. S. 2018. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Bandotan (Ageratum conyzoides L.) Terhadap Bakteri Bacillus substilis dan Proteus vulgaris*. Tugas Akhir. Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara Medan 4, pp. 67–73.
- Lasro, S. F. 2018. *Uji Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Rimpang Kencur (Kaempferia galanga L.) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus*. Tugas Akhir. Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan Jurusan Farmasi.
- Mahibalan, S., Stephen, M., Nethran, RT., Khan, R. and Begum, S. (2016). Dermal wound healing potency of single alkaloid (betaine) versus standardized crude alkaloid enriched-ointment of *Evolvulus alsinoides*. *Pharmaceutical biology*. 54(12): 2851-2856.
- Marjoni Riza. 2016. *Dasar-Dasar Fitokimia*. Jakarta: CV. Trans Info Media
- Mehingko, Lieken Awaloei, Henoch Wowor, Mona P. (2013) Uji Efek Antimikroba Ekstrak Daun Putri Malu (*Mimosa Pudica* Duchaas & Walp) Secara in Vitro. *Jurnal Biomedik (Jbm)*
- Mengkido Melsi, Orryani Lambui, W. H. (2019) Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*, pp. 1–9.
- Naibaho, A. R. 2018. *Uji Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Bandotan (Ageratum conyzoides L) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus*. Tugas Akhir. Politeknik Kesehatan Kemenkes Medan Jurusan Farmasi.

- Pratiwi Sylvia T. 2008. Mikrobiologi Farmasi. Ciracas, Jakarta: Erlangga Medikal Series.
- Prayoga E, (2013). *Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (Piper betle L.) Dengan Metode Disfusi Disk Dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus*. Tugas Akhir. Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta
- Putri, M. H., Sukini, dan Yodong, (eds) 2017 *Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan Badan Pengembangan dan Pemberdayaan Sumber Kesehatan. Mikrobiologi*, p. 634.
- Rosita, J. M., Taufiqurrahman, I. and Edyson (2017) ‘Perbedaan Total Flavonoid antara Metode Maserasi dengan Sokletasi pada Ekstrak Daun Binjai (*Mangifera caesia*)’, *Dentino Jurnal Kesokteran Gigi*, I(1), pp. 100–105.
- Safani, E. E. Wanodya A. C. K. Alfian, L. Erlix, R. P. (2019) Potensi Ekstrak Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) Sebagai Spray Untuk Pemulihan Luka Mencit Diabetik Yang Terinfeksi *Staphylococcus aureus*, *Biotropic : The Journal of Tropical Biology*, 3(1), pp. 68–78. doi: 10.29080/biotropic.2019.3.1.68-78.
- Sagita, D. Pratama, S. dan Hastuti (2020) Uji Resistensi Antibiotik Terhadap Kultur Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Ruang Intensive Care Unit (ICU) Rumah Sakit “Y” Kota Jambi, *Journal of Healthcare Technology And Medicine*, 6(1), pp. 301–307.
- Sitepu, J.S. (2010). *Pengaruh Variasi Metode Ekstraksi Secara Maserasi Dengan Alat Soxhlet Terhadap Kandungan Kurkuminioid Dan Minyak Atsiri Dalam*

Ekstrak Etanol Kunyit (Curcuma Domestica Val.). Tugas Akhir. Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.

Sugara, T. H. Tun, T. I. Irma, H. S. Muhammad H. (2016) Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun Tanaman Bandotan (*Ageratum conyzoides L*). *Anti Bacteria Activity of Ethyl Acetate Fraction Bandotan leaf (Agerantum conyzoides L)*’, *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 1(1), pp. 88–96.

Sulistiyarini, I., Sari, D. A. and Wicaksono, T. A. (2019) ‘Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*)’, *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, pp. 56–62.

Verawati, Savera (2020) Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi terhadap Aktivitas Antioksidan dan Kadar Fenolat Total dalam Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera Lam.*). Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Wardaningrum, (2019) ‘Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Terpurifikasi Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batata L*) dengan Vitamin E’, *artikel*, 52(1), pp. 1–5.

Wilapangga, A. Sari, L.P. (2018). Analisis Fitokimia dan Antioksidan Metode DPPH Ekstrak Metanol Daun Salam (*Eugenia polyantha*). *Ijobb*, pp. 19-24

Wulandari, R. 2019. Uji Efektivitas Salep Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) yang Terinfeksi Bakteri *Staphylococcus aureus*. Tugas Akhir. Fakultas Farmasi Dan Kesehatan Institut Kesehatan Helvetia Medan.

Yusmaniar, Wardiyah., Khairun Nida, (eds) 2017 *Mikrobiologi dan Parasitologi*, p. 634.

LAMPIRAN

Lampiran 1: Hasil Determinasi



LABORATORIUM BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI TERAPAN
UNIVERSITAS AHMAD DAHLAN
 Jl. Ringroad Selatan, Tamanan, Banguntapan, Bantul

SURAT KETERANGAN
 Nomor : 055/Lab.Bio/B/II/2021

Yang bertanda tangan di bawah ini Kepala Laboratorium Biologi Universitas Ahmad Dahlan menerangkan bahwa :

Nama : Sa'adah Ainun Naff'ah
 NIM : 17040085
 Prodi, PT : Farmasi, STIKES dr. Soebandi Jember

Telah melakukan determinasi tanaman dengan bimbingan Hery Setiyawan, M.Si di Laboratorium Biologi Universitas Ahmad Dahlan, pada tanggal 18 Februari 2021

Tanaman tersebut adalah :
Ageratum conyzoides (L.) L.

Demikian Surat Keterangan ini untuk dapat dipergunakan seperlunya.

Yogyakarta, 20 Februari 2021

Kepala Lab. Biologi




Hery Setiyawan, M.Si.

1b - 2b - 3b - 4b - 6b - 7b - 9b - 10b - 11b - 12b - 13b - 14b - 16a - 239b - 243b - 244b -
 248b - 249b - 250b - 266a Compositaceae
 1a - 2b - 3b - 4b - 5b - 11b Ageratum
 1a *Ageratum conyzoides* (L.) L.

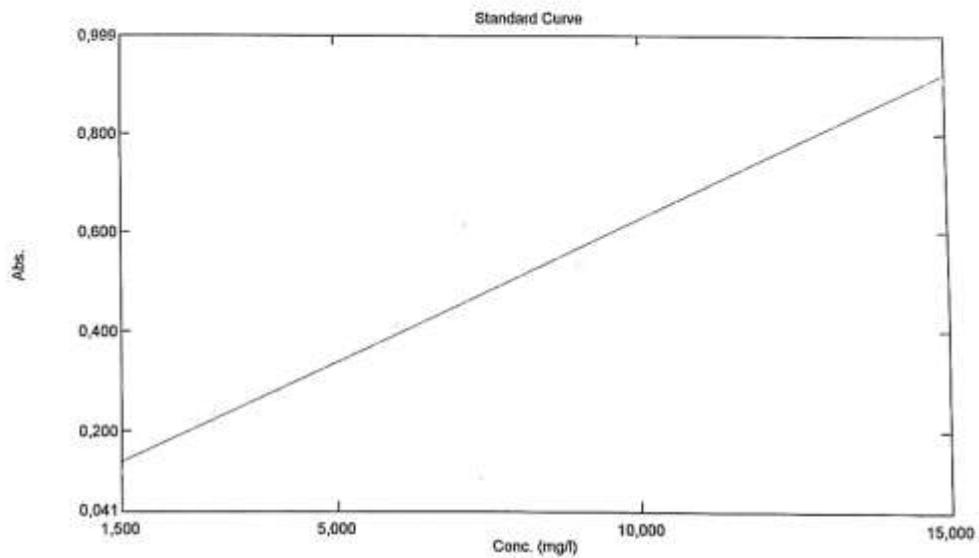
Flora of Java (Steenis, 1958)
www.theplantlist.org

Lampiran 2: Hasil *Mc Farland*

Standard Table Report

31/08/2021 10:43:51

File Name: C:\Users\Operator\Documents\trifqah\Mc Farland fix.pho



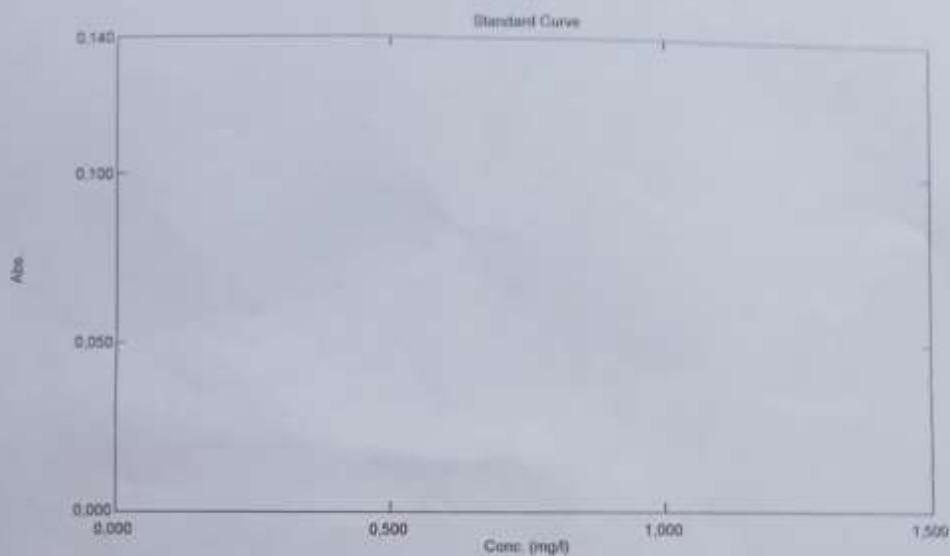
Standard Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL625,0	Wgt.Factor	Comments
1	McFarlan0.5	Standard		1.500	0.121	1.000	
2	McFarlan1.0	Standard		3.000	0.239	1.000	
3	McFarlan2.0	Standard		6.000	0.421	1.000	
4	McFarlan3.0	Standard		9.000	0.544	1.000	
5	McFarlan4.0	Standard		12.000	0.767	1.000	
6	McFarlan5.0	Standard		15.000	0.912	1.000	
7							

Standard Table Report

01/09/2021 11:43:33

File Name: C:\Users\Operator\Documents\virfqahts.aureus.pho



Standard Table

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL625,0	Wgt.Factor	Comments
1	s.aureus	Standard		1.500	0.012	1.000	
2	s.aureus1	Standard		1.500	0.040	1.000	
3	s.aureus3	Standard		1.500	0.129	1.000	
4							

Lampiran 3: Hasil Uji Statistik

Uji Normality

Tests of Normality^c

	kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
data zona bening	kontrol	,228	6	,200 [*]	,908	6	,422
	positif						
	soxhletasi	,247	6	,200 [*]	,903	6	,390
	maserasi	,276	6	,169	,798	6	,056

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

c. There are no valid cases for data baru zona bening when kelompok = 4,000. Statistics cannot be computed for this level.

Uji Homogeneity

Test of Homogeneity of Variances

data baru zona bening

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4,504	2	15	,029

Uji Kruskal Wallis

Test Statistics^{a,b}

	zona_bening
Chi-Square	21,934
Df	3
Asymp. Sig.	,000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

kelompok

Uji Pos Hoc

zona_bening

Duncan

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
kontrol negatif	6	,00000			
maserasi	6		4,74917		
soxhletasi	6			7,52417	
kontrol positif	6				24,85167
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.

Lampiran 4: Dokumentasi

a. Metode maserasi



b. Skringing fitokimia maserasi

Alkaloid



Flavonoid



Saponin



Tanin



Steroid



c. Metode *soxhletasi*



d. Skrining fitokimia *soxhletasi*

Alkaloid



Flavonoid



Saponin



Tanin



Steroid



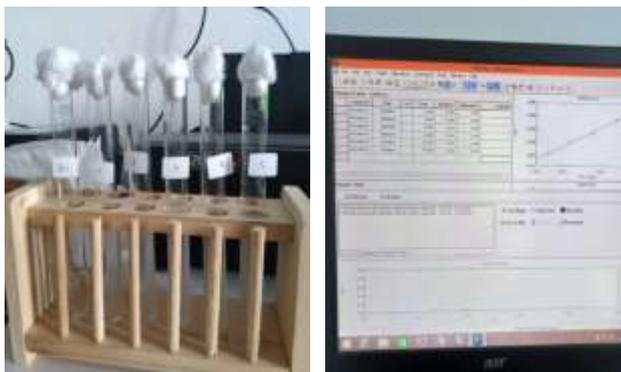
e. Pembuatan agar miring



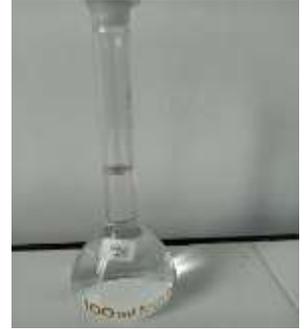
f. Pembuatan suspensi bakteri



g. Uji *Mc Farland*



h. Uji antibakteri



Lampiran 5: Perhitungan

1. Perhitungan hasil ekstraksi

a. Maserasi

Berat cawan kosong = 158,900 gram

Berat total (cawan + ekstrak kental) = 173,650 gram

Hasil ekstrak = 173,650 - 158,900 = 14,750 gram

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat simplisia}} \times 100\% = \\ &= \frac{14,750 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 100\% = 7,375\% \end{aligned}$$

b. Soxhletasi

Berat cawan kosong = 181,840

Berat total (cawan + ekstrak kental) = 202,080

Hasil ekstrak = 202,080 - 181,840 = 20,240

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat simplisia}} \times 100\% = \\ &= \frac{20,240 \text{ gram}}{200 \text{ gram}} \times 100\% = 10,120\% \end{aligned}$$

2. Perhitungan *Mc Farland*

BaCl 1% : 1 gram ~ 100 mL
 X gram ~ 100 mL
 X = 1 gram dalam 100 mL akuades

H₂SO₄ 1% : 1mL ~ 100 mL
 X gram ~ 100 mL
 X = 1 mL dalam 100 mL akuades

3. Perhitungan media

a. *Media Nutrient agar*: 20 gram ~ 1000 mL akuades
 X gram ~ 100 mL akuades

X = 2 gram dalam 100 mL akuades

b. *Media Nutrient broth*: 8 gram ~ 1000 mL akuades

X gram ~ 100 mL akuades

X = 0,8 gram dalam 100 mL akuades

- c. Media *Mannitol Salt Agar* (MSA): 500 gram ~ 4,500 mL akuades
X gram ~ 100 mL akuades
X= 11,11 gram dalam 100 mL akuades

Lampiran 6: Halaman Riwayat Hidup**A. Biodata Pribadi**

Nama : Sa'idah Ainun Nafi'ah
Tempat/Tanggal lahir : Jember, 29 Desember 1998
Alamat : Sumber Kejayan, Mayang-Jember
Jenis Kelamin : Perempuan
E-mail : saidahainun88@gmail.com
No. HP : 082336989068
Agama : Islam
Status : Belum menikah
Kewarganegaraan : Indonesia

B. Riwayat Pendidikan

2003-2005 : TK PGRI
2005-2011 : MI Nurur Rohman
2011-2014 : SMP Ibrahimy 3
2014-2017 : SMA Ibrahimy
2017-sekarang : Universitas dr.Soebandi

C. Riwayat Organisasi

2018-2019 : Anggota divisi hukum dan legislatif DPM STIKES
dr.Soebandi.