

Uji Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) Terhadap Bakteri *Streptococcus pyogenes*

Laporan Tugas Akhir

Syifa Rohmatika Nabhani
191FF04072



Universitas Bhakti Kencana
Fakultas Farmasi
Program Strata I Farmasi
Bandung
2021

ABSTRAK**Uji Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) Terhadap Bakteri *Streptococcus pyogenes***

Oleh :
Syifa Rohmatika Nabhani
191FF04072

Infeksi Saluran Pernafasan Atas seringkali menjadi masalah kesehatan dunia yang dapat disebabkan oleh bakteri *Streptococcus pyogenes*. Pengobatannya dapat menggunakan antibiotik atau tanaman obat sebagai pengobatan alternatif. Tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) merupakan tanaman yang memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri dengan adanya kandungan senyawa fenol dan flavonoid. Tujuan penelitian ini, untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan antibakteri pada ekstrak bandotan dengan berbagai pelarut. Pengujian antioksidan dilakukan dengan metode DPPH, dilanjutkan penetapan kadar fenol dan flavonoid total sedangkan pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode mikrodilusi untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), dilanjutkan penentuan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Hasil aktivitas antioksidan menunjukkan ekstrak bandotan berbagai pelarut (etanol 70%, etil asetat dan kloroform) memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ berturut-turut sebesar 126,4871 µg/mL, 90,2554 µg/mL dan 93,2538 µg/mL sedangkan kadar fenol total dan flavonoid total yang diperoleh masing-masing sebesar 28,85 ± 1,48 % dan 0,65 ± 0,03 %, 35,06 ± 1,14 % dan 9,67 ± 0,30 %, 25,85 ± 0,29 % dan 9,68 ± 0,38%. Sementara, hasil aktivitas antibakteri menunjukkan ekstrak bandotan dengan berbagai pelarut (etanol 70%, etil asetat dan kloroform) memiliki aktivitas antibakteri dengan nilai KHM sebesar 256 ppm dan KBM sebesar 512 ppm.

Kata Kunci : Bandotan, *Ageratum conyzoides* L., aktivitas antioksidan dan antibakteri, *Streptococcus pyogenes*.

ABSTRACT**Antioxidant and Antibacterial Activity Test of Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) Extract Against *Streptococcus pyogenes* Bacteria**

By:

Syifa Rohmatika Nabhani

191FF04072

Upper Respiratory Tract Infection are often a world health problem that can be caused by *Streptococcus pyogenes* bacteria. The treatment can use antibiotics or medicinal plants as an alternative medicine. Bandotan plant (*Ageratum conyzoides* L.) is a plant that has antioxidant and antibacterial activity in presence of phenol and flavonoid compounds. The purpose of this study to determine antioxidant and antibacterial activity of bandotan extract with various solvents. Antioxidant testing was carried out using the DPPH method, the determination of total phenol and flavonoid levels continued, while the antibacterial activity was tested using the microdilution method to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC), continue by determination of the Minimum Kill Concentration (MKC). The results of antioxidant activity test showed bandotan extract of various solvents (ethanol 70%, ethyl acetate and chloroform) antioxidant activity with IC₅₀ values of 126.4871 g/mL, 90.2554 g/mL and 93.2538 g/mL, while the levels of total phenol and total flavonoid obtained were 28.85 ± 1.48% and 0.65 ± 0.03 %, 35,06 ± 1,14% and 9,67 ± 0,30%, 25.85 ± 0.29, respectively. % and 9.68 ± 0.38%. Meanwhile, the results of antibacterial activity showed bandotan extract with various solvents (70% ethanol, ethyl acetate and chloroform) antibacterial activity with MIC of 256 ppm and MKC of 512 ppm.

Keywords: Bandotan, *Ageratum conyzoides* L., antioxidant and antibacterial activity, *Streptococcus pyogenes*.

LEMBAR PENGESAHAN

Uji Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) Terhadap Bakteri *Streptococcus pyogenes*

Laporan Tugas Akhir

Diajukan untuk memenuhi persyaratan kelulusan Sarjana Farmasi

Syifa Rohmatika Nabhani
191FF04072

Bandung, 16 Juli 2021

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Serta,



(Dr. apt. Yani Mulyani, M.Si.)
NIDN. 0421117803



(apt. Ika Kurnia Sukmawati, M.Si.)
NIDN. 0423098102

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa. Dengan berkat dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan laporan tugas akhir. Laporan Tugas Akhir ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Farmasi dari Jurusan Farmasi Universitas Bhakti Kencana. Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dan bimbingan dari semua pihak, akan sulit bagi penulis untuk menyelesaikan penyusunan dari masa perkuliahan hingga laporan tugas akhir. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. apt. Entris Sutrisno, MH.Kes., selaku rektor Universitas Bhakti Kencana.
2. Dr. apt. Yani Mulyani, M.Si. selaku dosen pembimbing utama dan apt. Ika Sukmawati, M.Si selaku dosen pembimbing serta yang bersedia menyediakan baik waktu, tenaga maupun pikiran dalam membimbing penulis untuk penyusunan laporan tugas akhir ini;
3. Aulia Nurfazri, M.Si. dan Dr. apt. Fatonah, M.Si., selaku penguji 1 dan 2 yang memberikan saran serta ilmu pengetahuan bagi penulis;
4. apt. Ani Anggriani, M.Si., selaku dosen pembimbing akademik yang telah memberi bantuan dukungan;
5. Orang tua dan keluarga yang selalu memberikan dukungan.
6. Seluruh dosen dan staff Jurusan Farmasi Universitas Bhakti Kencana yang senantiasa memberikan dukungan terhadap mahasiswa.

Akhir kata penulis berharap semoga Tuhan Yang Maha Esa berkenan membalas kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga laporan tugas akhir ini membawa manfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Bandung, Juli 2021

Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK.....	i
ABSTRACT.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR GAMBAR DAN ILUSTRASI	vii
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ix
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG.....	x
BAB I. PENDAHULUAN	1
I.1. Latar belakang.....	1
I.2. Rumusan masalah.....	2
I.3. Tujuan Penelitian.....	2
I.4. Manfaat Penelitian.....	3
I.4.1. Manfaat bagi Peneliti.....	3
I.4.2. Manfaat bagi Masyarakat	3
I.4.3. Manfaat bagi Institusi	3
I.5. Hipotesis penelitian	3
I.6. Tempat dan waktu Penelitian	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1. Tanaman Bandotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.)	4
II.1.1. Klasifikasi Bandotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.).....	4
II.1.2. Morfologi Bandotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.).....	4
II.1.3. Kandungan Kimia Bandotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.).....	5
II.1.4. Efek Farmakologi Bandotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.)	5
II.2. Infeksi Saluran Pernafasan Atas (ISPA)	6
II.2.1. Faringitis.....	7
II.3. Bakteri	8
II.4. Antibiotik	9
II.4.1. Amoxicillin (Obat Pembanding).....	10
II.5. Antioksidan	11
II.6. Ekstraksi	12
II.7. Metode Uji Aktivitas Antibakteri.....	13
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	15
III.1. Lokasi dan Waktu Penelitian.....	15
III.2. Subyek Penelitian.....	15
III.3. Metode Pengumpulan Data	15
III.4. Analisis Data	15
BAB IV. PROSEDUR PENELITIAN	16
IV.1. Alat.....	16

IV.2.	Bahan.....	16
IV.3.	Determinasi	16
IV.4.	Pembuatan Simplisia	16
IV.4.1.	Pengujian Susut Pengeringan Simplisia	17
IV.5.	Pembuatan Ekstrak Bandotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.)	17
IV.6.	Pemeriksaan Karakteristik Uji Organoleptis Simplisia dan Ekstrak Bandotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.).....	18
IV.7.	Skrining Fitokimia.....	18
IV.7.	Uji Aktivitas Antibakteri	19
IV.7.1.	Sterilisasi Alat dan Bahan	19
IV.7.2.	Pembuatan Media.....	19
IV.7.3.	Peremajaan Bakteri <i>Streptococcus pyrogenes</i>	20
IV.7.4.	Uji Pewarnaan Gram	20
IV.7.5.	Pembuatan Inokulum.....	21
IV.7.6.	Pembuatan Suspensi Bakteri	21
IV.7.7.	Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Bandotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.).....	21
IV.7.8.	Pembuatan Larutan Obat Pembanding Amoxicillin.....	21
IV.7.9.	Pengujian Aktivitas Antibakteri	22
IV.8.	Uji Aktivitas Antioksidan.....	23
IV.8.1.	Penetapan Kadar Fenol Total	24
IV.8.2.	Penetapan Kadar Flavonoid Total	25
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	27
V.1.	Determinasi Tanaman	27
V.2.	Pembuatan Simplisia Bandotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.)	27
V.3.	Pengujian Susut Pengeringan Simplisia Bandotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.)	28
V.4.	Pembuatan Ekstrak Bandotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.)	28
V.5.	Pemeriksaan Uji Organoleptis Ekstrak Bandotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.).....	30
V.6.	Skrining Fitokimia.....	30
V.7.	Uji Aktivitas Antibakteri	32
V.7.1.	Sterilisasi Alat dan Bahan	32
V.7.2.	Peremajaan Bakteri <i>Streptococcus pyrogenes</i>	33
V.7.3.	Pewarnaan Gram	33
V.7.4.	Pengujian Aktivitas Antibakteri	34
V.8.	Uji Aktivitas Antioksidan.....	38
V.8.1.	Penetapan Kadar Fenol Total dan Flavonoid Total.....	42
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	44
VI.1.	Kesimpulan.....	44
VI.2.	Saran.....	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN	54

DAFTAR GAMBAR DAN ILUSTRASI

Gambar 2.1. Bandotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.)	5
Gambar 2.2. Struktur Kimia Nobiletin.....	5
Gambar 2.3. Kondisi Tenggorokan Normal dengan Faringitis	8
Gambar 2.4. Bakteri <i>Streptococcus pyogenes</i>	9
Gambar 2.5. Struktur Amoxicillin	11
Gambar 2.6. Proses Ekstraksi dengan Metode Maserasi.....	13
Gambar 5.1. Hasil Pewarnaan Gram Bakteri <i>Streptococcus pyogenes</i>	34
Gambar 5.2. Grafik Konsentrasi Ekstrak Etanol 70% Bandotan	39
Gambar 5.3. Grafik Konsentrasi Ekstrak Etil Asetat Bandotan	40
Gambar 5.4. Grafik Konsentrasi KloroformAsetat Bandotan	40
Gambar 5.5. Grafik Konsentrasi Asam Askorbat terhadap % inhibisi.....	41

DAFTAR TABEL

Tabel V.1. Hasil Pengujian Susut Pengerinan Simplisia Bandotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.)	28
Tabel V.2. Hasil Perhitungan Rendemen Ekstrak Bandotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.)	29
Tabel V.3. Hasil Pemeriksaan Organoleptis Simplisia dan Ekstrak Bandotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.)	30
Tabel V.4. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Bandotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.)	31
Tabel V.5. Hasil Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Ekstrak Bandotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.) dan larutan pembanding (Amoxicillin) Terhadap Bakteri <i>Streptococcus pyogenes</i>	36
Tabel V.6. Hasil Pengukuran Absorbansi, Persen Inhibisi dan Nilai IC ₅₀ Ekstrak Bandotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.) dan Pembanding Asam Askorbat.....	38
Tabel V.7. Hasil Perhitungan Kadar Fenol Total dan Flavonoid Total Ekstrak Bandotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.).....	43

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Pernyataan Bebas Plagiasi.....	54
Lampiran 2. Surat Persetujuan untuk dipublikasikan di media online	55
Lampiran 3. Diagram Alir Penelitian.....	56
Lampiran 4. Diagram Alir Pengujian Aktivitas Antibakteri	57
Lampiran 5. Diagram Alir Pengujian Aktivitas Antioksidan.....	58
Lampiran 6. Diagram Alir Pengujian Kadar Fenol Total.....	59
Lampiran 7. Diagram Alir Pengujian Kadar Flavonoid	60
Lampiran 8. Hasil Determinasi Tanaman Bandotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.).....	61
Lampiran 9. Gambar Simplisia dan Serbuk Simplisia Daun Bandotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.)	62
Lampiran 10. Gambar Pembuatan Ekstrak Bandotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.).....	63
Lampiran 11. Gambar Penimbangan Hasil Susut Pengeringan.....	64
Lampiran 12. Rendemen Ekstrak Bandotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.)	65
Lampiran 13. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Bandotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.).....	66
Lampiran 14. Hasil ATTC Bakteri <i>Streptococcus pyogenes</i>	70
Lampiran 15. Gambar Suspensi Bakteri <i>Streptococcus pyogenes</i>	71
Lampiran 16. Gambar Larutan Uji Ekstrak Bandotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.)	72
Lampiran 17. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bandotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.)	73
Lampiran 18. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan.....	76
Lampiran 19. Hasil Uji Kadar Fenol Total.....	77
Lampiran 20. Hasil Uji Kadar Flavonoid Total	78

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

SINGKATAN	NAMA
ISPA	Infeksi Saluran Pernafasan Akut
Riskesdas	Riset kesehatan dasar
KHM	Konsentrasi Hambat Minimum
KBM	Konsentrasi Bunuh Minimum
M	Meter
Cm	Centimeter
Rpm	Rotasi per menit
μm	Mikrometer
DNA	<i>Doxyribonucleid acid</i>
RNA	<i>Ribonucleid acid</i>
GAS	<i>Group A Streptococcus</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
Mm	Milimeter
mL	Mililiter
L	Liter
Mg	Miligram
G	Gram
ppm	Parts per million
Nm	Nanometer
μg	Mikrogram
M	Molar
FeCl_3	Besi (III) Klorida
NaOH	Natrium Hidroksida
H_2SO_4	Asam Sulfat
NA	<i>Nutrient Agar</i>
NB	<i>Nutrient Broth</i>
MHA	<i>Mueller Hinton Agar</i>
DMSO	<i>Dimethyl Sulfoxide</i>
LAMBANG	NAMA
$^{\circ}\text{C}$	Derajat Celcius
\pm	Kurang lebih
%	Persen
/	Per
>	Lebih dari
<	Kurang dari

BAB I. PENDAHULUAN

I.1. Latar belakang

Infeksi Saluran Pernapasan Akut (ISPA) merupakan masalah kesehatan utama di dunia. Dari perspektif global, kejadian ISPA pada tahun 2014 diperkirakan sekitar 151 juta kasus (96,7%) di negara berkembang (WHO, 2019). Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2007, prevalensi Infeksi Saluran Pernapasan Akut (ISPA) adalah 25,50%. Prevalensi Infeksi Saluran Pernapasan Akut (ISPA) pada tahun 2013 hampir sama dengan tahun 2007 yaitu sebesar 25,0%. Sementara itu, pada tahun 2018 epidemi nasional ISPA di Indonesia didasarkan pada diagnosis tenaga kesehatan dan gejala mencapai 9,3%. Pada tahun 2018 prevalensi Infeksi Saluran Pernapasan Akut (ISPA) mengalami penurunan dari tahun sebelumnya. Meskipun prevalensinya menurun, Infeksi Saluran Pernapasan Akut (ISPA) masih tersebar luas di Indonesia (Depkes, 2008; Riskesdas, 2013; Riskesdas, 2018).

Penyakit Infeksi Saluran Pernapasan Akut (ISPA) disebabkan oleh bakteri dan virus (Antonelli et al., 2020). Salah satu bakteri penyebab Infeksi Saluran Pernafasan Akut (ISPA) yaitu bakteri *Streptococcus pyrogenes*. Bakteri *Streptococcus pyrogenes* adalah bakteri gram positif yang merupakan bakteri *Streptococcus* grup A yang berada pada permukaan epitel nasofaring dan kulit (Colineau et al., 2020; Samir et al., 2020). *Streptococcus pyrogenes* merupakan bakteri patogen yang dapat mengakibatkan berbagai macam infeksi diantaranya faringitis, impetigo, demam rematik akut, penyakit jantung rematik, bakteremia dan tonsillitis (Du et al., 2020).

Penyakit Infeksi Saluran Pernafasan Akut (ISPA) harus segera diobati dengan menggunakan antibiotik. Akan tetapi penggunaan antibiotik yang tidak tepat atau terjadinya penyalahgunaan antibiotik dapat mengakibatkan resistensi (Du et al., 2020). Resistensi antibiotik dapat mengakibatkan penyakit lebih lama sembuh, angka mortalitas atau kematian menjadi lebih tinggi dan dapat meningkatkan biaya dalam proses penyembuhannya (WHO, 2015).

Pada pengobatan penyakit Infeksi Saluran Pernafasan Akut (ISPA) selain menggunakan antibiotik juga saat ini banyak tanaman obat yang digunakan untuk pengobatan alternatif. Salah satu tanaman obat yang berpotensi sebagai antibakteri adalah tanaman Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.). Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) merupakan tanaman yang banyak digunakan oleh masyarakat di daerah tropis dan subtropis dalam pengobatan sebagai antiinflamasi, antinosiseptif dan antibakteri (Faqueti et al., 2016). Selain itu, bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) memiliki khasiat dalam pengobatan artritis, luka bakar, malaria, lepra, dermatitis, asma dan sebagai insektisida (Rioba & Stevenson, 2017). Adapun senyawa

metabolit sekunder yang terkandung dalam bandotan (*Agerantum covyzoides* L.) diantaranya flavonoid, kumarin, benzofuran, steroid dan terpenoid (Subah et al., 2020).

Selain memiliki aktivitas sebagai antibakteri bandotan (*Agerantum covyzoides* L.) juga memiliki aktivitas antioksidan. Tanaman bandotan (*Agerantum covyzoides* L.) memiliki kandungan senyawa fenolik yang diduga berfungsi sebagai antioksidan dan antibakteri. Mekanisme kerja antibakteri dari senyawa fenolik yaitu dengan mengubah permeabilitas membran dan menghambat aktivitas enzim bakteri (Acharya et al., 2020). Berdasarkan pada penelitian yang telah dilakukan, tanaman bandotan terbukti memiliki aktivitas antibakteri. Hasil dari penelitian, ekstrak bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Helicobacter pylori* dengan pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) sebesar $10 \pm 0,0$ mg/ml (Nngnameko et al., 2019). Adapun penelitian lainnya, ekstrak bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) di uji terhadap bakteri *Streptococcus aureus* dan *Escherichia coli* menghasilkan zona hambat masing-masing sebesar $19,5 \pm 2,4$ mm dan $8,1 \pm 20,5$ mm (Akhtar et al., 2018). Maka dari itu, peneliti bermaksud untuk melakukan pengujian aktivitas antioksidan dan antibakteri pada ekstrak bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) dengan berbagai pelarut diantaranya kloroform, etil asetat dan etanol terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes*.

I.2. Rumusan masalah

- a. Apakah ekstrak bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) dengan berbagai pelarut memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes*?
- b. Berapa nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) pada ekstrak bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) berbagai pelarut terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes*?
- c. Apakah ekstrak bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) memiliki aktivitas antioksidan?
- d. Manakah ekstrak bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) dengan berbagai pelarut yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi?

I.3. Tujuan Penelitian

- a. Menentukan aktivitas antibakteri ekstrak bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) dengan berbagai pelarut terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes*.
- b. Menentukan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) pada ekstrak bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) dengan berbagai pelarut terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes*.
- c. Mengetahui aktivitas antioksidan dalam ekstrak bandotan (*Ageratum conyzoides* L.).

- d. Menentukan ekstrak bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) dengan berbagai pelarut yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi.

I.4. Manfaat Penelitian

I.4.1. Manfaat bagi Peneliti

Peneliti dapat mengaplikasikan ilmu yang didapat selama perkuliahan. Selain itu peneliti dapat menambah pengetahuan mengenai aktivitas antioksidan dan antibakteri pada bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes*.

I.4.2. Manfaat bagi Masyarakat

Pada hasil penelitian yang diperoleh dapat memberikan informasi kepada masyarakat mengenai tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) dalam menghambat bakteri *Streptococcus pyogenes*.

I.4.3. Manfaat bagi Institusi

Penelitian ini dapat menjadi referensi untuk peneliti lainnya yang mana dapat digunakan sebagai referensi baik untuk melakukan penelitian lebih lanjut, sebagai penelitian pembandingan ataupun penelitian yang baru.

I.5. Hipotesis penelitian

Ekstrak Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) memiliki efek antioksidan dan antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes*.

I.6. Tempat dan waktu Penelitian

Penelitian dilakukan mulai bulan Februari hingga Mei 2021. Lokasi penelitian di Laboratorium Farmakologi Universitas Bhakti Kencana Bandung.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Tanaman Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.)

Tanaman Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) yaitu tanaman herba tahunan yang tersebar luas (Ajith et al., 2019). Istilah *Ageratum* berasal dari bahasa Yunani “geras” yang memiliki arti tidak menua atau awet muda yang mana mengacu pada tanaman dengan umur yang panjang. Selain itu, *Conyzoides* berasal dari “konyz” yang berarti tanaman. Di Australia dan Amerika tropis tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) disebut dengan “goat weed” karena tanaman tersebut memiliki bau khas seperti halnya kambing (Kotta et al., 2020; Yadav et al., 2019). Tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) banyak tumbuh pada daerah tropis di Afrika Barat, Asia Tenggara, Amerika Selatan, Amerika Tengah, Cina Selatan dan India yang mana telah terkenal di dunia sebagai obat tradisional. Pada negara-negara tersebut tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) seringkali sebagai obat pada penyakit kulit, penyembuh luka dan obat untuk mengatsi diare. Studi fitokimia tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) menunjukkan bahwa banyak dari metabolit sekundernya memiliki sifat farmakologis dan insektisida (Pintong et al., 2020; Vigil de Mello et al., 2016).

II.1.1. Klasifikasi Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.)

Klasifikasi tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) sebagai berikut (Melissa & Muchtaridi, 2017):

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Asterales
Famili	: Asteraceae
Genus	: <i>Ageratum</i>
Spesies	: <i>Ageratus conyzoides</i> L.

II.1.2. Morfologi Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.)

Tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) merupakan tanaman dengan ketinggian sekitar 1 m. Pada bagian daun maupun batang ditutupi dengan rambut halus berwarna putih. Daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) berbentuk bulat seperti telur dengan panjang sekitar 7,5 cm. Selain itu, tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) memiliki bunga dengan warna ungu atau putih (Yadav et al., 2019). Bunga dari tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) terdiri dari 8 hingga 15 wadah, buahnya berwarna hitam dan kecil. Tanaman bandotan

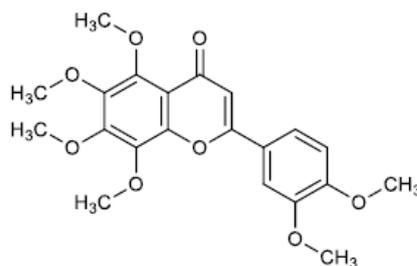
(*Ageratum conyzoides* L.) mudah ditemukan di persawahan, pekarangan, hutan, pinggir jalan dan sungai yang terpapar sinar matahari (Kotta et al., 2020).



Gambar 2.1. Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) (Carlina et al., 2016; Kotta et al., 2020)

II.1.3. Kandungan Kimia Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.)

Komponen yang terkandung dalam tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) antara lain monoterpen dan seskuiterpen, benzofuran, chromene dan coumarin, flavonoid (nobiletin), triterpen, steroid, saponin, antrakuinon, glikosida jantung, mineral dan vitamin (Melissa & Muchtaridi, 2017; Vigil de Mello et al., 2016). Kandungan minyak atsiri tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) tidak kurang dari 0,20%, kandungan flavonoid total tidak kurang dari 0,61% (Kemenkes RI, 2017). Minyak atsiri yang terkandung dalam tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) diantaranya kampferol, kuersetin, rhamnoside, stigma 7-en-3-ol, asam fumarat, asam kafeik, stigmasterol, sitosterol (Kotta et al., 2020).



Nobiletin

Gambar 2.2. Struktur Kimia Nobiletin (Kemenkes RI, 2017)

II.1.4. Efek Farmakologi Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.)

Secara umum tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) memiliki khasiat untuk antibakteri, analgesik, antikanker, antiinflamasi, antiprotozoal, antidiabetes, antioksidan, ansiolitik (untuk menangani kecemasan) (Melissa & Muchtaridi, 2017; Vigil de Mello et al., 2016). Tetapi, secara khusus pada bagian tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) memiliki manfaat masing-masing yaitu daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) dapat

berfungsi untuk mengobati luka, penyakit pneumonia, sebagai penawar racun ular, antitetanus, deman tifoid, sakit kepala, demam malaria, infeksi pada tenggorokan, nyeri pada gusi dan keputihan. Sementara itu pada akar dari tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) memiliki fungsi sebagai anti tumor, mengobati diare dan litiasian (batu ginjal). Pada bagian bunga dari bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) memiliki fungsi sebagai anti gatal, antitusif (mengurangi gejala batuk), obat kejang dan membunuh kutu (Yadav et al., 2019).

Secara tradisional, di Afrika tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) digunakan untuk meredakan sembelit, demam, mengobati luka dan antitukak lambung karena sebelumnya pengobatan itu biasa menggunakan gulma kambing. Sementara itu, di Togo ramuan pada tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) dimanfaatkan untuk mengobati campak serta gigitan ular. Pada Negara Nigeria tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) digunakan untuk mengobati penyakit kulit, nyeri pusing pada anak-anak bahkan hingga HIV/ AIDS (Kotta et al., 2020). Selain dapat berfungsi untuk pengobatan, tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) bermanfaat di bidang pertanian yakni dapat memperbaiki komposisi hara tanah. Dalam penelitian, yang mengevaluasi gulma di area Bokashi dan meneliti komposisi nutrisi yang ada pada tomat menunjukkan dengan adanya tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap kualitas tomat (Anhar et al., 2018).

II.2. Infeksi Saluran Pernafasan Atas (ISPA)

Infeksi saluran pernafasan bagian atas merupakan penyakit akut yang menyerang saluran pernafasan bagian atas, diantaranya adalah sinusitis, tonsilitis, faringitis, otitis media, radang tenggorokan dan flu biasa. Gejala infeksi saluran pernafasan atas pada umumnya muncul pada 24 hingga 72 jam dan infeksi pada saluran pernafasan atas akan bertahan hingga 7-14 hari (Somerville et al., 2016). Gejala umum pada penyakit infeksi saluran pernafasan atas yaitu sakit pada bagian tenggorokan, suara menjadi pelan, dapat terjadi pembengkakan atau kemerahan pada tenggorokan yang mana disebabkan oleh virus ataupun bakteri, hidung menjadi tersumbat, sakit kepala, demam ringan dan mialgia (Esposito et al., 2021; Haneef & Sherwani, 2019).

Infeksi saluran nafas atas terjadi pada bagian atas pernafasan pada rongga hidung dan nasofaring. Sering kali infeksi saluran nafas atas disebabkan oleh bakteri patogen oportunistik (bakteri yang berasal dari luar yang dapat mengakibatkan suatu penyakit). Adanya interaksi bakteri patogen tersebut dapat mengakibatkan rentan terjadi infeksi. Beberapa bakteri penyebab infeksi saluran nafas atas yaitu *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pyrogens*, *Staphylococcus aureus* dalam lainnya (Clark, 2020). Bakteri patogen pada penyakit infeksi saluran pernafasan atas dapat mempengaruhi sistem kekebalan tubuh, menyebabkan iritasi dan

pembengkakan yang menyebar dari nasofaring ke sinus, tenggorokan, telinga, epiglottis hingga saluran pernapasan bagian bawah. Penyakit terkait pada infeksi saluran pernafasan atas termasuk flu biasa, nasofaringitis, otitis media akut, faringitis, sinusitis, radang tenggorokan, dan laringotrakheitis (Yoon et al., 2017).

II.2.1. Faringitis

Faringitis merupakan penyakit yang menyerang tenggorokan dan tonsil. Pada kasus penyakit infeksi faringitis, paling umum disebabkan oleh bakteri *streptococcus pyrogenes* yang mana sekitar 20-30% pada kasus infeksi tenggorokan. Pada kasus penyakit faringitis pada anak-anak disebabkan oleh bakteri *streptococcus pyrogenes* lebih tinggi dibandingkan dengan orang dewasa yakni sebesar 15-30% sedangkan pada orang dewasa 5-15%. Selain bakteri *streptococcus pyrogenes*, penyebab faringitis lainnya bisa berasal dari virus yaitu rhinovirus, coronavirus, adenovirus, herpes simplex virus, influenza virus, parainfluenza virus dan Epstein-Barr virus. Meskipun orang dari segala usia rentan terkena penyakit faringitis, namun pada data epidemiologis menunjukkan bahwa terdapat kelompok tertentu yang berisiko lebih tinggi diantaranya anak-anak berusia antara 5-15 tahun adalah yang paling rentan, orang tua dari anak usia sekolah dan orang tua yang bekerja dengan anak-anak juga berisiko tinggi. Penularan penyakit faringitis dapat melalui kontak langsung dengan air liur atau sekret hidung (biasanya melalui tangan) dan dapat lebih mudah terjadi apabila penyebarannya di institusi, sekolah, rumah, dan tempat yang ramai. (DiPiro et al., 2020).

Penyakit faringitis mungkin dapat menyebabkan perubahan pada imunitas inang (misalnya terjadi kerusakan pada mukosa faring) dan bakteri orofaring dapat bermigrasi untuk menyebabkan infeksi (DiPiro et al., 2020). Sakit tenggorokan biasanya merupakan gejala pertama dari flu, mata merah, hidung tersumbat dan suara serak. Sakit tenggorokan digambarkan sebagai sensasi terbakar saat tenggorokan dalam keadaan beristirahat maupun menelan (Pelzman & Tung, 2021). Selain itu, keluhan yang lainnya yang dapat terjadi pada penderita faringitis diantaranya adanya rasa seperti mengganjal pada daerah tenggorokan sehingga mulut menjadi yang kurang sedap, dapat disertai dengan demam, mendengkur dan adanya gangguan nafas. Keluhan dari faringitis bisa juga secara sistemik diantaranya tubuh menjadi lemah, nafsu makan berkurang, nyeri pada bagian sendi dan sakit kepala (PERHATI-KL, 2015). Faringitis dapat menyebabkan demam tinggi dan munculnya bercak putih atau kuning pada bagian amandel. Selain itu, penyakit faringitis dapat menyebabkan infeksi yang mengancam jiwa seperti demam rematik akut dan glomerulonefritis akut (Bulut et al., 2020).



Gambar 2.3. Kondisi Tenggorokan Normal dengan Faringitis (Yoo et al., 2020)

Diagnosis yang dapat ditegakkan untuk penyakit faringitis yaitu tes antigen cepat atau pengujian laboratorium (PCR atau kultur). Namun tes tersebut, tidak dapat membedakan pasien dengan faringitis *Group A Streptococcus* (GAS) dari pembawa *Group A Streptococcus* (GAS) disertai dengan faringitis virus. Saat memutuskan untuk melakukan pengujian mikrobiologi, hasil investigasi klinis dan epidemiologi harus dipertimbangkan. Pasien yang menunjukkan indikasi kuat infeksi virus ditandai dengan gejala seperti hidung tersumbat, peradangan konjungtiva, suara serak, batuk, penyakit ulkus atau diare tidak mungkin berkembang menjadi infeksi *Group A Streptococcus* (GAS) sehingga tidak perlu diuji infeksi dengan *Group A Streptococcus* (GAS). Pada tes antigen streptokokus dapat dengan cepat mengidentifikasi *Group A Streptococcus* (GAS), tetapi sensitivitasnya bervariasi. Sementara itu, tes laboratorium (PCR atau kultur) dianggap sebagai standar utama untuk penegakan diagnosis pada faringitis. Pengujian antigen untuk pasien yang kemungkinan besar mengalami *Group A Streptococcus* (GAS) (Care et al., 2021).

II.3. Bakteri

Bakteri adalah makhluk hidup bersel tunggal. Oleh karena itu, peningkatan jumlah sel bakteri sangat signifikan dan jumlah individu dalam spesies bakteri juga meningkat. Diameter ukuran sel bakteri umumnya 0,2-2,0 μm , dengan panjang sel satuan sekitar 2-8 μm . Bentuk dasar sel bakteri dibedakan menjadi tiga kategori, yaitu sel bakteri berbentuk bulat (*coccus*), berbentuk batang (*bacillus*) dan spiral. Bentuk sel bakteri *coccus*, membentuk susunan sel diantaranya *diplobasil*, *tetrad*, *sarcina*, *streptococcus*, *staphylococcus*. Bentuk sel bakteri batang (*basil*) membentuk susunan sel seperti *diplococcic* dan *streptobasil*. Sementara itu, sel bakteri berbentuk spiral pada strukturnya biasanya terpisah-pisah (tunggal). Berdasarkan struktur dinding sel bakteri dibagi menjadi bakteri Gram negatif dan bakteri Gram positif. Adapun faktor yang dapat mempengaruhi dalam pertumbuhan sel bakteri diantaranya nutrisi untuk bakteri, pH, air oksigen, suhu dan cahaya. Proses identifikasi pada bakteri bertujuan untuk menentukan penamaan terhadap spesies bakteri. Identifikasi dilakukan dengan mengamati morfologi terhadap bakteri (Boleng, 2015).

Bakteri tidak mempunyai inti sel. Bakteri terdiri dari dinding sel yang kaku terbuat dari zat khusus yang disebut peptidoglikan. Materi genetik, termasuk DNA dan RNA, dan struktur intraseluler terdapat dalam sitoplasma yang berfungsi untuk metabolisme energi. Bakteri berkembang biak secara aseksual dengan cara replikasi DNA dan pembelahan sel sederhana. Kebanyakan bakteri membentuk kapsul mengelilingi dinding sel untuk membuat bakteri lebih tahan terhadap serangan sistem kekebalan tubuh. Protein yang disekresikan oleh bakteri lain akan mengurangi antibiotik. Bakteri bisa bersifat aerobik atau anaerobik. Bakteri sering melepaskan racun yang sangat membahayakan inangnya (Kemenkes RI, 2017).

Bakteri yang digunakan dalam penelitian yaitu bakteri *Streptococcus pyogenes* (grup A *streptococcus*) dibudidayakan oleh Friedrich Fehleisen pada tahun 1883 dan diidentifikasi sebagai penyebab erysipelas (Infeksi kulit). Saat ini, diagnosis laboratorium untuk infeksi *Group A Streptococcus* (GAS) masih sangat bergantung pada kultur bakteri dari spesimen klinis. Kondisi inkubasi optimal untuk sebagian besar strain *streptococcus* termasuk adanya 5% CO₂ atau kondisi anaerobik, dengan kisaran suhu 35°C hingga 37°C. (Piver, 2015). *Streptococcus pyogenes* terkait dengan banyak penyakit bakteri pada manusia ataupun hewan dapat menyebabkan infeksi bakteri. Patogenisitas *Streptococcus pyogenes* terlihat beberapa penyakit menular seperti faringitis dan infeksi kulit (Helal et al., 2020). Selain itu, *Streptococcus pyogenes* yang menyebabkan berbagai penyakit infeksi lokal dan sistemik, seperti faringitis (sakit tenggorokan), impetigo, demam berdarah, pneumonia dan nekrosis (Valliammai et al., 2020)



Gambar 2.4. Bakteri *Streptococcus pyogenes* (Piver, 2015)

II.4. Antibiotik

Aktivitas antibakteri dari agen antibakteri terkait dua mekanisme termasuk yaitu gangguan fungsi komponen penting pada bakteri. Secara umum, mekanisme tujuan dari antibakteri diantaranya menghambat sintesis protein bakteri, menghambat dinding sel bakteri,

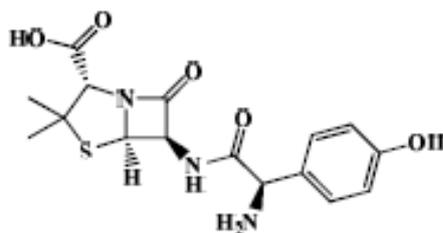
menghambat sintesis asam nuklet dan menghambat membran sel. Beberapa spesies bakteri pada dasarnya tahan terhadap satu atau lebih antibakteri (Khameneh et al., 2019).

Pengobatan dengan antibiotik pada penyakit faringitis *Group A Streptococcus* (GAS) yaitu pada anak-anak < 27 kg menggunakan amoxicillin suspensi atau tablet kunyah, penicillin V, penicillin G benzathine. Sementara itu, pengobatan untuk remaja dan dewasa > 27 kg dengan menggunakan antibiotik penicillin V, amoxicillin dan penicillin G benzathine. Untuk pengobatan alergi terhadap penicillin pada anak-anak, remaja serta dewasa dengan menggunakan cephalexin, clindamycin dan azithromycin. Selain itu, terdapat pengobatan pada penyakit faringitis yang sering mengalami kekambuhan. Terapi pada anak-anak, remaja dan dewasa dengan menggunakan amoxicillin-clavulanic acid, clindamycin, penicillin V plus rifampin (Care et al., 2021). Obat pembanding dalam penelitian digunakan amoxicillin yang merupakan lini pertama pada pengobatan faringitis (DiPiro et al., 2020).

II.4.1. Amoxicillin (Obat Pembanding)

Amoxicillin merupakan antibiotik golongan penicillin yang memiliki spektrum antibiotik yang luas dan sering digunakan untuk mengobati infeksi bakteri (Jiang et al., 2020). Amoksisilin atau disebut (-amino-hidroksibenzilpenisilin) merupakan komponen yg populer berdasarkan famili antibiotik seperti penisilin. Amoxicillin digunakan pada beberapa infeksi bakteri pada infeksi bagian hidung, telinga, tenggorokan, kulit, saluran kemih dan paru-paru. Bakteri penyebab infeksi tersebut diantaranya pada spesies Gram-positif dan Gram-negatif misalnya *Helicobacter pylori*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus* sp. dan *Haemophilus* sp (Trucillo et al., 2020). Amoxicillin banyak digunakan untuk mengobati infeksi saluran pernapasan atas dan bawah, infeksi saluran genitourinari dan infeksi kulit (Khan et al., 2020).

Amoksisilin merupakan turunan dari 6, asam aminopenicillin (6-APA) yang dengan mudah menyebar ke cairan dan jaringan tubuh (Prakash et al., 2019). Efek bakterisidal dari amoksisilin pada bakteri mirip dengan efek pada penisilin. Amoksisilin bekerja dengan menghambat biosintesis dinding sel sehingga menyebabkan kematian bakteri. Penggunaan amoxicillin dibatasi oleh kepekaannya terhadap β -laktamase yang dihasilkan oleh hidrolisis (AlNeyadi et al., 2017). Amoksisilin dan secara efektif dapat mengobati sebagian besar patogen dengan biaya rendah, efek samping yang lebih sedikit, penggunaannya dalam pengobatan manusia maupun hewan. Saat tertelan, hanya sebagian kecil zat aktif yang dimetabolisme dan sekitar 80-90% diekskresikan. Pada lingkungan, amoxicillin dapat menyebabkan terjadinya alergi obat, permasalahan mengenai toksikologi obat dan resistensi terhadap bakteri (Matsubara et al., 2020). Adapun struktur obat amoxicillin pada gambar 2.5.



Gambar 2.5. Struktur Amoxicillin (AlNeyadi et al., 2017)

II.5. Antioksidan

Peran antioksidan adalah mendonasikan elektron ke senyawa yang berperan sebagai oksidan, sehingga menghambat aktivitas oksidan tersebut. Tubuh membutuhkan antioksidan untuk melindungi terhadap serangan radikal bebas. Antioksidan yaitu suatu senyawa atau bahan kimia yang dapat menghambat ataupun memperlambat kerusakan yang disebabkan oleh proses oksidasi. Tubuh manusia tidak memiliki cadangan antioksidan yang berlebihan, oleh karena itu jika terbentuk radikal bebas dalam jumlah besar sehingga tubuh manusia membutuhkan antioksidan dari luar tubuh. Efek samping yang tidak diketahui dari antioksidan sintesis dapat membuat antioksidan alami sebagai pengganti. Tidak hanya terjadi di dalam tubuh, oksidasi bisa juga terjadi pada makanan. Sebagian besar bahan makanan lemak mudah untuk teroksidasi. Antioksidan merupakan senyawa yang sering diberikan pada makanan berlemak. Antioksidan yang dapat ditambahkan ke bahan makanan memiliki beberapa syarat diantaranya tidak adanya kerusakan fisiologis, tidak memperoleh rasa yang tidak enak, bau atau lemak atau warna dalam makanan yang tidak diinginkan, larut dalam lemak, tahan selama pemrosesan, antioksidan yang mudah didapatkan dan harganya terjangkau. Sumber antioksidan dapat berasal dari sayuran atau buah-buahan (Kesuma, 2015).

Terlalu banyak radikal bebas aktif akan menyerang sel manusia, menyebabkan kerusakan sel bahkan kematian. Penelitian telah menunjukkan bahwa banyak penyakit serius dan penuaan terkait dengan produksi radikal bebas yang berlebihan. Bahan aktif pada antioksidan dapat berasal dari polisakarida, flavonoid, polifenol, alkaloid, saponin dan vitamin (Zhou et al., 2021). Pada senyawa fenolik memiliki efek aktivitas antioksidan. Salah satu senyawa fenolik yaitu flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan dan banyak ditemukan pada sayuran ataupun buah-buahan. Antioksidan memiliki peran dalam pengobatan penyakit jantung koroner, diabetes, kanker, mencegah terjadinya penyempitan pada pembuluh darah, mencegah penuaan dini (*Anti aging*), antibakteri, anti inflamasi dan lain sebagainya (Kesuma, 2015; Kooti & Daraei, 2017). Seiring dengan adanya penambahan usia, maka akan mempengaruhi pada meningkatnya produksi radikal bebas sedangkan pertahanan endogen yang

berfungsi untuk menghambat radikal bebasnya mulai menurun sehingga dapat mempercepat proses penuaan (Haerani et al., 2018).

II.6. Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan senyawa pada simplisia menggunakan pelarut yang sesuai. Ekstraksi merupakan suatu proses penarikan komponen kimia larut dengan tidak larut berdasarkan pelarut cair. Pada metode ekstraksi digunakan pelarut yang sesuai yang berupa pelarut organik maupun anorganik (Senduk et al., 2020). Dalam metode ekstraksi didasarkan prinsip *like dissolve like* yaitu pada pelarut polar melarutkan senyawa yang polar begitupun sebaliknya pada pelarut non polar larutkan senyawa non polar. Tujuan dilakukannya ekstraksi yaitu untuk menarik senyawa atau kandungan zat aktif yang ada pada simplisia. Pemilihan metode ekstraksi berdasarkan sifat dari senyawa (Syamsul et al., 2020).

Metode ekstraksi pada penelitian yaitu metode maserasi. Metode maserasi dilakukan perendaman pada seluruh bagian tanaman simplisia atau serbuk dari simplisia yang telah dihasluskan dalam waktu tertentu pada suhu kamar. Kemudian simplisia akan bersentuhan langsung dengan pelarut dalam wadah tertutup, sambil dilakukan pengadukan hingga komponen sampel tanaman dapat larut sempurna. Pada umumnya proses maserasi minimal dilakukan selama 3 hari dan pelarut yang umum digunakan etanol atau air. Selanjutnya dilakukan penyaringan dan hasil maserasi dapat diperoleh. Metode maserasi paling cocok pada senyawa tanaman yang tidak stabil secara termal (tidak stabil secara termal). Metode maserasi memiliki keuntungan dan kerugian. Keuntungan dengan menggunakan metode maserasi yaitu tanaman yang digunakan tidak harus dalam bentuk serbuk halus, tidak perlu adanya keahlian khusus dan pelarut yang digunakan lebih sedikit hilang atau menguap. Sementara itu terdapat kerugian dari proses maserasi yaitu harus dilakukan pengadukan, penyaringan secara berulang dan bisa terdapat residu pada pelarut karena melalui tahap penyaringan (Kemenkes, 2016; Julianto, 2019).



Gambar 2.6. Proses Ekstraksi dengan Metode Maserasi (Julianto, 2019)

II.7. Metode Uji Aktivitas Antibakteri

Saat ini, dampak mengenai pengobatan yang gagal terkait dengan bakteri yang resisten terhadap beberapa obat telah menjadi suatu perhatian global terhadap kesehatan masyarakat. Oleh karena itu, penemuan antibiotik baru bersifat penting. Produk alami masih menjadi salah satu produk utama yang merupakan sumber molekul obat. Produk alami yang dapat digunakan sebagai antibiotik dapat berasal tumbuhan, hewan dan lainnya. Pengujian kerentanan terhadap antimikroba dapat digunakan untuk penemuan obat, epidemiologi dan prediksi hasil pengobatan. Metode pengujian dapat berupa studi *in vitro* pada ekstrak dan obat-obatan agen antimikroba. Tanaman dan sumber daya alam lainnya dapat memberikan pengaruh yang besar terhadap senyawa kompleks dan beragam secara struktural. Sekarang ini, banyak peneliti yang mempelajari ekstrak tumbuhan, minyak esensial, metabolit sekunder murni, dan molekul yang disintesis sebagai agen antibakteri. Metode yang umum digunakan dalam menguji aktivitas antibakteri terbagi menjadi dua yaitu metode difusi yang terdiri dari difusi cakram dan sumuran serta metode dilusi (*macrodilution* atau *microdilution*) (Balouiri et al., 2016)

Pada dasarnya metode dilusi ini merupakan metode pengenceran sehingga dapat digunakan untuk menentukan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Metode ini memberikan kemungkinan untuk memperkirakan konsentrasi agen antimikroba yang diuji broth medium (*macrodilution* atau *microdilution*). Metode dilusi tersebut dapat digunakan untuk mengukur aktivitas antibakteri secara *in vitro*. Nilai KHM yang dihasilkan merupakan konsentrasi antimikroba uji yang terendah yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Satuan dalam pengujian, biasanya dinyatakan dalam mg / mL atau mg / L. Metode yang digunakan dalam penelitian yaitu metode *microdilution*. Proses ini melibatkan pengenceran reagen agen antibakteri. Sebanyak 8, 16 dan 32 mg / mL media pertumbuhan cair didistribusikan dalam tabung reaksi berisi volume minimal 2 mL (*macrodilution*) atau gunakan

microplate dengan volume yang lebih kecil 96 sumur (*microdilution*). Kemudian, inokulasi inokulum di setiap tabung reaksi atau sumur setelah mengencerkan suspensi mikroorganisme standar. Kemudian disiapkan mikroorganisme dalam media yang sama yang disesuaikan dengan skala McFarland 0.5. Setelah tercampur rata, tabung pelat mikrotiter yang diinokulasi atau microplate diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C tergantung pada mikroorganisme uji. Kerugian dari metode *macrodilution* adalah terdapat risiko kesalahan saat menyiapkan larutan antibakteri pada setiap pengukuran dan jumlah reagen serta ruang yang dibutuhkan. Oleh karena itu, produktivitas dan keekonomisan reagen serta pemborosan ruang terutama disebabkan oleh miniaturisasi dalam pengujian merupakan keuntungan dari metode *microdilution* (Balouiri et al., 2016).

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

III.1. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan dari bulan Februari hingga Mei 2021. Lokasi penelitian di Laboratorium Farmakologi Universitas Bhakti Kencana Bandung.

III.2. Subyek Penelitian

Subyek penelitian yaitu tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) yang didapatkan dari perkebunan Percobaan Manoko Lembang. Subyek lainnya adalah bakteri *Streptococcus pyrogenes* yang didapatkan dari Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

III.3. Metode Pengumpulan Data

Penelitian uji aktivitas antioksidan dan antibakteri bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap bakteri infeksi saluran nafas atas merupakan penelitian *true experimental*. Sampel uji yang digunakan adalah tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) yang dibuat ekstrak dengan berbagai pelarut diantaranya etanol 70%, etil asetat dan kloroform dan larutan obat pembanding (Amoxicillin). Metode yang digunakan yaitu metode DPPH untuk uji aktivitas antioksidan dan metode mikrodilusi dengan menggunakan berbagai konsentrasi pada media cair terhadap bakteri *Streptococcus pyrogenes*. Kemudian, pada pengujian aktivitas antibakteri ditentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) yang ditandai dengan konsentrasi terkecil larutan uji yang jernih dan nilai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) yang merupakan nilai konsentrasi terkecil dapat membunuh bakteri.

III.4. Analisis Data

Analisis data yang dilakukan yaitu statistik deskriptif dengan melihat ekstrak tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) dari berbagai pelarut diantaranya kloroform, etil asetat dan etanol memiliki aktivitas antioksidan atau tidak. Selain itu dilakukan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) dari berbagai pelarut dengan melihat kekeruhan dalam berbagai konsentrasi ekstrak maupun larutan obat pembanding (Amoxicillin) dalam menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan melihat konsentrasi terkecil yang dapat membunuh bakteri yang disebut dengan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).