

Antibacterial Activity of Ethanol Extract of Siamih Leaf (*Ageratum conyzoides*) on *Staphylococcus aureus* bacteria

Divina Dinda Hayati¹, Herrialfian², M. Isa², *Darmawi³, Fakhrurrazi³, Abdul Harris⁴

¹Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

²Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

³Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

⁴Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala

*Alamat Korespondensi: darmawi@unsyiah.ac.id

ABSTRACT

The aim of this research is to know the effect of siamih leaf ethanol extract (*Ageratum conyzoides*) on the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria. The bacteria which is used are obtained from the Microbiology Laboratory of the Faculty of Veterinary Medicine of Syiah Kuala University on isolate bacteria of the honey bear wound (*Helarctos malayanus*). Bacterial identification is done by culturing the isolate on lateral NA media then it is planted on MSA media and staining Gram, catalase test and hemolysis test. The extraction is done by maceration with 96% ethanol solvent. Extract of Siamih leaf is done by phytochemical test. The results of pythritic test of Siamih leaf show that Siamih leaf contains alkaloid compounds, steroids, terpenoids, flavonoids and tannins. The extract concentration which is used is 20%, 40%, 60% and 80%. Nergative control by using aquades and positive controls using Amoxicillin with three repetitions. The method used is disc diffusion or Kirby-Bauer method. The results show that Siamih leaf ethanol extract inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria at concentrations of 20% (0,7 mm), 40% (1,4 mm), 60% (2,2 mm), and 80 % (3,0 mm). Thus it can be concluded that the extract of siamih leaf ethanol has inhibitory power to *Staphylococcus aureus* bacteria with low category.

Keywords: Antibacterial, siamih (*Ageratum conyzoides*), *Staphylococcus aureus* Inhibition zone.

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi masih merupakan suatu masalah yang cukup serius bagi negara berkembang. Penemuan antibiotik baru masih dianggap lambat bila dibandingkan dengan masalah resistensi bakteri karena penggunaan antibiotik. Akhir-akhir ini ada kecenderungan untuk mengubah pengobatan dari penggunaan antibiotik dengan menggunakan tanaman yang berkhasiat sebagai obat antibakteri (Kumala dan Indrayani, 2008). Antibakteri adalah golongan senyawa alami maupun sintetik. Antibakteri mempunyai efek menekan atau menghentikan aktivitas mikroorganisme lain, khususnya bakteri *pathogen* (Sardiani dkk., 2015).

Berdasarkan jenisnya, bakteri *pathogen* dapat dibedakan menjadi bakteri

Gram positif dan Gram negatif (Widysanti dkk., 2015). Perbedaan sifat Gram dipengaruhi oleh kandungan pada dinding sel, yaitu bakteri Gram positif kandungan peptidoglikan lebih tebal jika dibanding dengan Gram negatif (Dewi, 2013). Bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang lebih sederhana dengan jumlah peptidoglikan yang relatif banyak, sedangkan dinding sel bakteri Gram negatif memiliki peptidoglikan yang lebih sedikit dan secara struktural lebih kompleks (Noor dan Apriasari, 2014).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif yang berbentuk bulat, tersusun dalam kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora dan tidak bergerak (Rahmi dkk., 2015). *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri *pathogen* yang

berkaitan dengan virulensi toksin, invasif dan ketahanan terhadap antibiotik (Karimela dkk., 2017). Rahmi dkk. (2015) menyatakan bahwa bakteri *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan berbagai jenis infeksi mulai dari infeksi kulit ringan, keracunan makanan sampai infeksi sistemik.

Sejak dulu masyarakat Indonesia telah memanfaatkan bahan-bahan yang berasal dari alam untuk memenuhi kebutuhan hidupnya, termasuk untuk pengobatan. Salah satu tanaman yang sudah cukup lama diketahui berpotensi sebagai obat adalah siamih (*Ageratum conyzoides*). *Ageratum conyzoides* merupakan tanaman terna semusim yang berasal dari Amerika tropis, khususnya Brazil (Suriana, 2013). Di Indonesia *Ageratum conyzoides* merupakan tumbuhan liar dan lebih dikenal sebagai tumbuhan pengganggu (gulma) di kebun dan di lading. Khasiat *Ageratum conyzoides* tersebut, yang paling umum dimanfaatkan masyarakat adalah untuk pengobatan luka dan gangguan pencernaan (Frinanda dkk., 2014). Pemanfaatan tanaman *Ageratum conyzoides* dalam pengobatan antara lain adalah bagian akar tanaman digunakan untuk menurunkan demam, sedangkan bagian daunnya digunakan sebagai pencuci mata serta mengobati sakit perut dan luka (Hidayati dan Harjono, 2017).

Garg dan Grewal (2015) melaporkan bahwa ekstrak *Ageratum conyzoides* dalam petroleum eter dan aseton memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *E. coli*, dan *Pseudomonas aerogenase*. Penelitian Sugara (2011) menunjukkan bahwa uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun *Ageratum conyzoides* dan semua fraksinya memiliki spektrum luas karena mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan negatif.

Gbadamosi (2012) melaporkan bahwa ekstrak etanol daun *Ageratum conyzoides* mengandung alkaloid, saponin dan tanin yang mampu menghambat pertumbuhan

bakteri *Escherichia coli*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Aktivitas antibakteri tersebut disebabkan karena kandungan senyawa kimia seperti alkaloid, flavonoid, saponin, glikosida, tanin, steroid dan qantrakuinon (Okwori dkk., 2006). Berdasarkan latar belakang tersebut perlu dilakukan penelitian mengenai aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun siamih terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

MATERIAL DAN METODE

Metode Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun siamih yang diperoleh dari pekarangan rumah di Lubuk Sikaping Sumatera Barat dan bakteri *Staphylococcus aureus* yang didapat dari Laboratorium FKH Unsyiah pada isolate bakteri luka kaki beruang madu (*Helarctos malayanus*). Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan uji aktivitas antibakteri menggunakan metode *disc diffusion* atau Kirby-Bauer dan reidentifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*. Metode *disc diffusion* adalah penentuan sensitivitas dari bakteri dengan suatu zat tertentu yang kemungkinan memiliki aktivitas antibakteri dengan menggunakan *paper disc*. Pengukuran dilakukan pada diameter zona bening yang terbentuk disekitar *paper disc*

Ekstraksi Daun Siamih

Dalam pembuatan ekstrak pada penelitian ini dibutuhkan 400 g serbuk daun siamih dan etanol 96%. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan cara maserasi. Daun siamih yang sudah kering kemudian dihaluskan menjadi serbuk. Serbuk daun siamih dimasukkan ke dalam wadah tertutup kedap, kemudian ditambahkan etanol 96% sampai semua serbuk terendam kemudian ditutup rapat. Perendaman dilakukan selama 5 hari, kemudian disaring dan hasil maserasi

yang diperoleh dikumpulkan dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental.

Uji Fitokimia

Analisis fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa-senyawa aktif yang terkandung dalam daun siamih. Alkaloid diuji dengan cara menambahkan 1 ml amoniak dan 10 ml kloroform pada 3 gram ekstrak daun siamih kemudian divorteks sampai homogen. Filtrat yang terbentuk ditambahkan 10 ml $H_2SO_4 2N$ lalu dikocok dan diamkan sampai larutan asam sulfat dan kloroform terpisah. Lapisan asam sulfat yang terbentuk dipisahkan menjadi tiga bagian ke dalam *test plate*. Untuk mengetahui adanya alkaloid maka bagian pertama ditambahkan dengan reagen Meyer, bila terjadi endapan putih maka positif alkaloid. Bagian kedua ditambahkan dengan reagen Wagner, bila terjadi endapan berwarna coklat maka positif terdapat alkaloid. Bagian ketiga ditambahkan dengan reagen Dragendorff, bila terjadi endapan berwarna kemerahan maka positif alkaloid (Balqis dkk., 2016).

Kandungan flavonoid ekstrak daun siamih diuji dengan 3 jenis pereaksi yang berbeda yaitu NaOH, asam sulfat pekat dan MgHCl. Perubahan warna pada masing-masing pereaksi disesuaikan dengan tabel reaksi flavonoid. Ekstrak daun siamih sebanyak 3 gram di masukkan dalam tabung reaksi yang sudah berisi air suling dengan perbandingan 1:1 kemudian dipanaskan sampai mendidih kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Tabung reaksi ditambahkan 0,5 Mg dan HCl 0.5 mg. Flavonoid positif jika terbentuk endapan orange sampai merah muda atau ungu. Kandungan tanin diuji dengan cara mengencerkan sebanyak 3 gram ekstrak daun siamih dengan air suling sampai tidak berwarna. Selanjutnya larutan tersebut diambil 2 ml lalu ditambahkan 1-2 tetes

pereaksi $FeCl_3$. Bila timbul warna biru atau kehitaman menunjukkan adanya tanin (Balqis dkk., 2016).

Saponin dapat diuji dengan menambahkan 3 gram ekstrak dengan air suling dengan perbandingan kemudian ditambahkan. Bila busa yang terbentuk tetap stabil ± 15 menit, maka ekstrak positif mengandung saponin. Uji Triterpenoid dan Steroid dilakukan dengan cara ekstrak daun siamih dimasukkan dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform lalu dipanaskan dan didinginkan. Diambil 1 mL dan dimasukkan dalam tabung reaksi lalu diteteskan pereaksi Lieberman-burchard. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan jika terbentuk warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid (Jazilah dkk., 2014).

Reidentifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Sebelum dilakukan reidentifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* yang akan digunakan, dilakukan penyegaran isolat bakteri *Staphylococcus aureus* yang sudah ada menggunakan media NB. Kemudian dilakukan reidentifikasi dengan menanam bakteri di dalam media MSA dan diinkubasi selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan pengamatan untuk morfologi bakteri yang tumbuh. Dari media MSA dilakukan pewarnaan Gram, uji katalase dan uji hemolisa yang menggunakan media BAP. Koloni bakteri yang sudah dipastikan merupakan bakteri *Staphylococcus aureus* ditanam pada media NA miring.

Uji Daya Hambat

Untuk uji daya hambat, siapkan 3 cawan petri berisi MHA yang telah dioleskan dengan bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah diidentifikasi. Kemudian panaskan ujung pinset dengan menggunakan

bunsen agar steril. Siapkan 6 *paper disc* dalam setiap cawan petri untuk menguji masing-masing konsentrasi daun siamih. Rendam sejenak *paper disc* tersebut ke dalam ekstrak daun siamih dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% sedangkan kontrol negatif ke dalam akuades dan control positif menggunakan *Amoxicilin*. Lalu tempelkan *paper disc* yang berisi ekstrak daun siamuh dalam setiap media MHA. Kemudian di inkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C.

Zona Inhibisi dan Teknik Pengukuran

Daya hambat dapat diketahui berdasarkan pengukuran diameter zona hambat (zona bening atau daerah jernih tanpa pertumbuhan mikroorganisme) yang terbentuk disekitar *paper disc*. Pengukuran tersebut menggunakan jangka sorong dan dinyatakan dalam millimeter. Pengukuran dilakukan dengan mengukur radius zona hambat dengan cara menjumlahkan diameter vertikal dan diameter horizontal kemudian dibagi 2 dan dikurangkan dengan diameter *paper disc* (6 mm) (Toy dkk., 2015). Hasil dari 3 kali pengulangan tersebut kemudian di rata-rata.

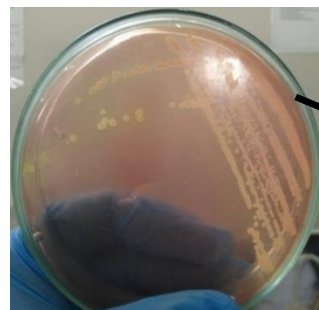
Analisis Data

Data hasil penelitian ini dianalisis secara deskriptif dengan melihat dan membandingkan zona hambat antar perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Reidentifikasi Bakteri

Isolat bakteri Gram positif yang digunakan adalah isolat bakteri *Staphylococcus aureus* dari luka beruang madu yang telah ditanam pada media *Mannitol Salts Agar* (MSA) untuk dilakukan pengamatan morfologi koloni bakteri (Gambar 1 dan Tabel 1).



Gambar 1. Morfologi koloni bakteri *Staphylococcus aureus* di media *Mannitol Salts Agar* (MSA)

Tabel 1. Hasil pengamatan morfologi koloni pada media *Mannitol Salt Agar* (MSA)

Koloni pada <i>Mannitol Salts Agar</i> (MSA)						
Bentuk	Warna	Pinggiran	Permukaan	Aspek koloni	Elevasi	Fermentasi
Bulat	Kuning	Rata	Halus	Mengkilat	Cembung	+

Pada media MSA (*Mannitol Salts Agar*) bakteri *Staphylococcus aureus* dari beruang madu membentuk koloni berbentuk bulat yang pinggirannya rata dan halus, mengkilat, dan berbentuk cembung. Pada media MSA (*Mannitol Salts Agar*)

bakteri Gram positif yang tumbuh dapat merubah warna media dari warna merah menjadi warna kuning, yang menandakan bahwa bakteri tersebut dapat menfermentasi manitol yang terkandung pada media MSA (*Mannitol Salts Agar*), salah bakteri yang

dapat menfermentasi manitol adalah bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini sesuai dengan pendapat Dewi (2013), *Staphylococcus aureus* pada media *Mannitol Salt Agar* (MSA) akan terlihat sebagai pertumbuhan koloni berwarna kuning dikelilingi zona kuning keemasan karena kemampuannya menfermentasi *mannitol*.

Staphylococcus aureus membentuk pigmen *lipochrom* yang menyebabkan koloni tampak berwarna kuning keemasan

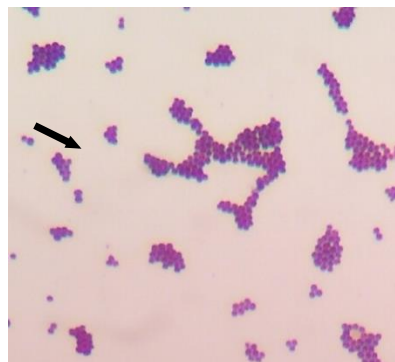
dan kuning jeruk. Pigmen kuning tersebut membedakannya dari *Staphylococcus epidermidis* yang menghasilkan pigmen putih. Pigmen kuning keemasan timbul pada pertumbuhan selama 18-24 jam pada suhu 37° C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25° C) (Dewi, 2013) . Hasil identifikasi dari bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Identifikasi *Staphylococcus aureus*

Pewarnaan Gram	Uji katalase	Uji hemolisa
Coccus	Terdapat buih	β-hemolisin
Ungu		

Pada pewarnaan Gram yang dilakukan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* terlihat berwarna ungu, berbentuk *coccus* dan bergerombolan seperti buah anggur (Gambar 3). Hal ini sesuai dengan pendapat Jawetz dkk. (1995) yang

menyatakan bahwa *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat yang tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur.



Gambar 3. Morfologi bakteri *Staphylococcus aureus* secara mikroskopis

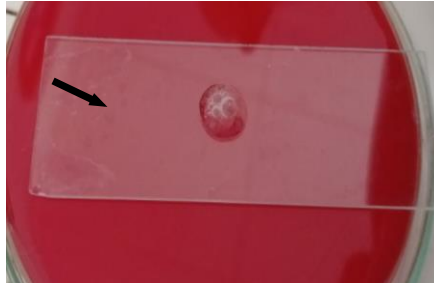
Lay (1994) menyatakan bahwa bakteri Gram positif berwarna ungu disebabkan kompleks zat warna Krista violet-yodium tetap dipertahankan meskipun diberi larutan pemucat. Perbedaan struktur luar dinding sel bakteri Gram positif dan negatif mengakibatkan perbedaan warna pada akhir

prosedur pewarnaan. Bakteri Gram positif adalah bakteri yang mempunyai lapisan peptidoglikan yang tebal sehingga berwarna ungu, sedangkan bakteri Gram negatif adalah bakteri yang mempunyai lapisan peptidoglikan yang tipis sehingga akan tampak berwarna merah jika dilakukan

pewarnaan Gram (Lestari dan Hartati, 2017).

Hasil uji katalase isolat bakteri *Staphylococcus aureus* luka beruang madu menunjukkan terbentuknya gelembung udara atau buih pada suspensi bakteri yang diteteskan dengan larutan H₂O₂ 3% pada *object glass* yang menandakan bahwa uji katalase memberikan hasil positif (Gambar

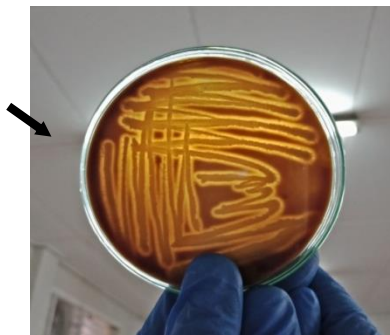
4). Uji katalase merupakan uji yang digunakan untuk membedakan bakteri *Staphylococcus* sp dan *Streptococcus* sp. Bakteri *Staphylococcus* sp menunjukkan katalase positif dan *Streptococcus* sp menunjukkan katalase negatif, katalase positif ditunjukkan dengan adanya gelembung gas (Toelle dan Lenda, 2014).



Gambar 4. Uji katalase bakteri *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* dari beruang madu mampu menghemolisa sel darah merah sehingga pada media *blood agar* terlihat zona hemolisin di sekitar

koloni. Pada uji hemolisa diketahui bawa isolat bakteri *staphylococcus aureus* dari beruang madu tersebut termasuk kedalam β -hemolisin (Gambar 5).



Gambar 5. Uji hemolisis bakteri *Staphylococcus aureus*

Hemolisin merupakan toksin yang dapat membentuk suatu zona hemolisis disekitar koloni bakteri. Hemolisin pada *Staphylococcus aureus* terdiri atas α -hemolisin, β -hemolisin, dan γ -hemolisisin. *Staphylococcus aureus* yang menghasilkan α -hemolisin akan membentuk zona terang di sekitar koloni, yang menghasilkan β -hemolisin akan membentuk zona gelap agak bening di sekitar koloni dan yang menghasilkan γ -hemolisisin tidak

membentuk hemolisin (Khusnan dan Soegiono, 2008).

Hasil Ekstraksi

Daun siamih yang sudah dikeringkan kemudian dijadikan serbuk dengan berat 400 gram yang telah direndam dengan etanol 96% selama 5 hari kemudian disaring dan didapatkan filtratnya sebanyak 4.300 ml. Filtrat yang diperoleh diekstraksi dengan menggunakan *rotary evaporator* dan

diperoleh ekstrak kental berwarna hijau kehitaman sebanyak 46 gram. Ekstrak daun siamih yang telah didapatkan, lalu digunakan dalam uji aktivitas antibakteri yang dibagi menjadi 4 konsentrasi yaitu 20%, 40%, 60%, dan 80%.

Hasil Identifikasi Fitokimia Ekstrak Daun Siamih

Setelah dilakukan identifikasi terhadap daun di bagian Laboratorium Herbarium Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Syiah Kuala diketahui bahwa karakteristik dari daun tersebut merupakan karakteristik dari tanaman siamih (*Ageratum conyzoides* L.). Adapun hasil uji fitokimia ekstrak daun siamih ditunjukkan pada Gambar 6 dan Tabel 3.



Gambar 6. Uji fitokimia ekstrak etanol daun siamih

Tabel 3. Hasil uji fitokimia daun siamih (*Ageratum conyzoides*)

Senyawa Aktif							
Flavonoid	Alkaloid			Steroid	Terpenoid	Saponin	Fenolik
	Mayer	Wagner	Dragendroff				
+	-	+	-	+	+	-	+

Keterangan : (+) = Terdapat senyawa tersebut
(-) = Tidak terdapat senyawa tersebut

Hasil analisis fitokimia diatas, menunjukkan bahwa terdapat senyawa flavonoid dalam ekstrak daun siamih yang ditunjukkan dengan perubahan warna hijau menjadi jingga saat menambahkan HCl pada serbuk Mg. Pada uji flavonoid, flavonoid bereaksi dengan serbuk Mg dan HCl_(p) membentuk warna merah atau jingga akibat reduksi flavonoid. Warna merah disebabkan oleh terbentuknya garam flavilium (Haryati dkk., 2015). Pengujian senyawa alkaloid pada ekstrak daun siamih menunjukkan hasil

positif hanya pada penambahan reagen wagner ditunjukkan dengan terdapat endapan coklat, sedangkan penambahan reagen mayer dan dragendroff menunjukkan hasil negatif.

Pengujian steroid menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya warna hijau ketika ekstrak daun siamih direaksikan dengan H₂SO₄ pekat dan asam asetat anhidrat, dan terpenoid juga memperoleh hasil positif dengan terbentuknya warna ungu ketika direaksikan dengan H₂SO₄ pekat

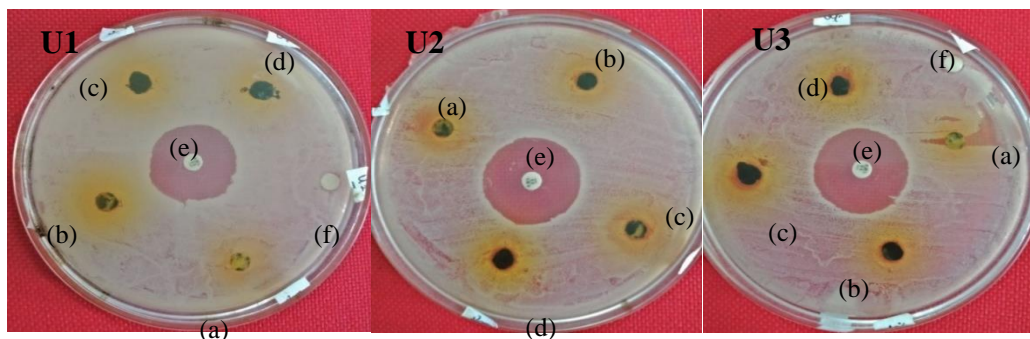
dan asam asetat anhidrat. Reaksi triterpenoid dengan pereaksi Liebermann-Burchard (asam asetat glasial dan $H_2SO_{4(p)}$ 10:1) menghasilkan warna merah-ungu sedangkan steroid memberikan warna hijau-biru. Hal ini didasari oleh kemampuan senyawa triterpenoid dan steroid membentuk warna oleh $H_2SO_{4(p)}$ dalam pelarut anhidrida asam asetat. Perbedaan warna yang dihasilkan oleh triterpenoid dan steroid disebabkan perbedaan gugus pada atom C-4 (Haryati dkk., 2015).

Pengujian saponin menunjukkan hasil negatif karena tidak terdapat buih atau busa pada saat pengocokkan ekstrak yang ditambahkan dengan air. Uji saponin akan positif jika terdapat buih pada saat pengocokkan, sesuai dengan pendapat Najooan dkk. (2016), pada identifikasi saponin hasil menunjukkan positif karena larutan sampel terbentuk buih atau busa setelah ditambahkan air dan dikocok, busa yang terbentuk tetap stabil selama ± 7 menit. Senyawa yang memiliki gugus polar dan nonpolar bersifat aktif permukaan sehingga saat dikocok dengan air saponin dapat membentuk misel. Pada struktur misel gugus polar menghadap ke luar sedangkan gugus nonpolarnya menghadap ke dalam. Keadaan inilah yang tampak seperti busa, karena itu dalam analisis ini dilihat kemampuan sampel dalam membentuk busa (Sangi dkk., 2008).

Pengujian fenolik meunjukkan hasil positif dengan terbentuknya warna hijau kehitaman ketika ekstrak direaksikan dengan $FeCl_3$. Tanin termasuk dalam golongan fenolik yang mengandung kerangka cincin aromatik yang mengandung gugus hidroksil (-OH) (Mustikasari dan Ariyani, 2008). Perubahan warna terjadi ketika penambahan $FeCl_3$ yang bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil pada senyawa tanin, penambahan $FeCl_3$ pada ekstrak uji menghasilkan warna hijau kehitaman yang menunjukkan mengandung senyawa tanin (Nirwana dkk., 2015)

Hasil Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Siamih

Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun siamih terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dapat diamati dengan melakukan pengukuran diameter zona bening yang terbentuk disekitar *paper disc*. Zona bening yang terbentuk disekitar *paper disc* merupakan daerah difusi dari ekstrak dalam mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Kekuatan antibakteri dari ekstrak daun siamih dapat diketahui dengan mengukur besar kecilnya zona hambat yang terbentuk. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun siamih (*Ageratum conyzoides*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dari luka beruang madu mampu menghambat pada konsentrasi 20%, 40%, 60% dan 80% (Gambar 7 dan Tabel 4).



Gambar 7. Zona daya hambat ekstrak etanol daun siamih. . a) 20%, b) 40%, c) 60%, d) 80%, e) kontrol positif, f) kontrol negatif

Tabel 4. Rata-rata diameter zona hambat (mm) yang terbentuk

Konsentrasi	Zona hambat (mm)			Rata-rata (mm)
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
20%	0,6	0,4	1,2	0,7
40%	1,3	1,0	1,9	1,4
60%	2,6	1,7	2,4	2,2
80%	3,2	2,5	3,4	3,0
K (-)	0	0	0	0
K (+)	23,4	23,4	24,7	23,8

Dari hasil pengujian yang dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun siamih memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Menurut Davis dan Stout (1971), kriteria kekuatan daya antibakteri ditentukan berdasarkan diameter zona hambatnya yaitu, diameter zona hambat 5mm atau kurang dikategorikan lemah, zona hambat 5-10mm dikategorikan sedang, zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat dan zona hambat lebih dari 20 mm dikategorikan sangat kuat.

Berdasarkan kriteria tersebut, maka daya hambat antibakteri ekstrak daun siamih terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* termasuk kedalam kategori lemah yaitu pada konsentrasi 20% (0,7 mm), 40% (1,4 mm), 60% (2,2 mm), dan 80 % (3,0 mm). Akuades tidak memiliki zona hambat, pemilihan akuades sebagai kontrol negatif karena akuades bersifat netral dan tidak memiliki kandungan antibakteri. Kemampuan menghambat dari ekstrak etanol daun siamih tampak jauh lebih lemah dibandingkan dengan kontrol positif

antibiotik *Amoxicillin* (23,8mm) yang termasuk kedalam kategori sangat kuat.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Astuti (2015) ekstrak etanol *Ageratum conyzoides* memiliki daya antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *Staphylococcus aureus*. Okwori dkk. (2006) menyebutkan bahwa diameter zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak air, metanol dan heksan daun tanaman *Ageratum conyzoides* terhadap *Staphylococcus aureus* berturut-turut dalam kisaran 7-15 mm, 10-14 mm, 9-16 mm, sedangkan terhadap *E. coli* sebesar 6-12 mm, 10-16 mm, 7-16 mm. Aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol daun siamih terjadi akibat adanya senyawa-senyawa metabolit sekunder pada daun siamih, seperti flavonoid, steroid, tanin dan alkaloid.

Keberadaan metabolit sekunder dari daun siamih menjadi faktor penting dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* melalui mekanismenya. Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim *reverse* transkriptase dan DNA

topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Nuria dkk., 2009). Tanin memiliki aktivitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktifkan adhesin sel mikroba juga menginaktifkan enzim dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel (Ngajow dkk., 2013).

Mekanisme antibakteri dari flavonoid ada tiga macam, yaitu dengan cara menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma, dan menghambat metabolisme energi. Flavonoid memiliki beberapa manfaat selain sebagai agen antibakteri yaitu sebagai agen anti jamur dan antivirus. Mekanisme antibakteri dari flavonoid ada tiga macam, yaitu yang pertama dengan cara menghambat sintesis asam nukleat. Cara kedua yaitu dengan menghambat fungsi membran sitoplasma dengan merusak fluiditas membran pada regio hidrofilik dan hidrofobik sehingga fluiditas lapisan luar dan lapisan dalam membran akan menurun. Cara ketiga dengan menghambat metabolisme energi (Majidah dkk., 2014).

Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Ningsih dkk., 2016). Selain agen antibakteri, struktur dan komposisi sel bakteri juga memiliki peranan penting dalam mekanisme daya hambat antibakteri tersebut. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif yang dinding selnya tersusun dari lapisan peptidoglikan yang tebal. Dinding bakteri Gram positif memiliki asam teikoat yang terdapat pada peptidoglikan sedangkan bakteri Gram negatif tidak memiliki asam teikoat. Asam teikoat ini berfungsi sebagai jalan untuk keluar dan masuk ion-ion dari dan ke dalam sel bakteri (Majidah dkk., 2014). Menurut Saraswati (2011), besar

kecilnya zona hambat dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya adalah kepadatan inokulum, waktu dan penggunaan cakram, suhu inkubasi, waktu inkubasi ukuran petri, kedalaman media agar dan jarak antar cakram.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun siamih dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter rata-rata zona hambat dengan konsentrasi 20% (0,7 mm), 40% (1,4 mm), 60% (2,2 mm), dan 80 % (3,0 mm), dari rata-rata zona hambat yang terbentuk, ekstrak etanol daun siamih memiliki kekuatan daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dalam kategori lemah, dalam uji fitokimia daun siamih mengandung metabolit sekunder seperti alkaloid, terpenoid, fenolik, flavonoid dan steroid, yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dari beruang madu.

DAFTAR PUSTAKA

- Astuti, H. 2015. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan ekstrak air daun bandotan (*Ageratum conyzoides*, L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Majalah Farmasetik*. 11(1):290-293.
- Balqis, U., Darmawi, Maryam, Muslina, A. Hamzah, R. Daud, M. Hambal, Rinidar, A. Harris, Muttaqien, Azhar dan Eliawardani. 2016. Motilitas *Ascaridia galli* dewasa dalam larutan ekstrak etanol biji palem putri (*Veitchia merrillii*). *Agripet*. 1(16):9-15.
- Davis, W. W. and T. R. Stout. 1971. Disc plate methods of microbiological antibiotic assay. *Microbiology*. 22(4):659-665.
- Dewi, A. K. 2013. Isolasi, identifikasi dan uji sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap *Amoxicillin* dari sampel susu kambing peranakan etawa (PE) penderita mastitis di wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sains Veteriner*. 31(2):138-150.
- Frinanda, D., N. Sucidayana S., A. Rilaska, F. Fauzi, M. Yasi D.W dan M. S. Fadil. 2014. Potensi tumbuhan

- siamih (*Ageratum conyzoides*) sebagai obat penyembuh luka. *Bioeti*. 2(1):107-110.
- Garg P. and A. Grewal. 2015. In vitro antibacterial activity of *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae). *World Journal of Pharmacy and Pharmacy Sciences*. 4(7):893-897.
- Gbadamosi, I. T. 2012. Evaluation of antibacterial activity of six ethnobotanicals used in the treatment of infectious diseases in Nigeria. *Botany Research International*. 5(4):83-89.
- Haryati, N. A., Saleh, Chairul dan Erwin. 2015. Ujitoksitas dan aktivitas antibakteri ekstrak daun merah tanaman pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia Mulawarman*. 1(13):35-40.
- Hidayati, A. S dan Harjono. 2017. Uji aktivitas antibakteri krim daun bandotan (*Ageratum conyzoides*. L) dalam pelarut etanol. *Jurnal MIPA*. 20(1):33-38.
- Jawetz, E., J. L. Melnick, E.A. Adelberg, G.F. Brooks, J.S. Butel and L.N. Ornston. 1995. *Mikrobiologi Kedokteran*. (Diterjemahkan Nugroho dan R.F. Maulany). Edisi ke-20. Jakarta: EGC.
- Jazilah, N., A.G. Fasya, R. Ningsih dan A. Abtokhi. 2014. Uji toksitas ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap larva udang *Artemia salina* Leach dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Alchemy*. 3(2):118-124.
- Karimela, E. J., F. G. Ijong dan H. A. Dien. 2017. Karakteristik *Staphylococcus aureus* yang di isolasi dari ikan asap pinekuhe hasil olahan tradisional Kabupaten Sangihe. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan*. 20(1):188-198.
- Khusnan, Salasia dan Soegiyono. 2008. Isolasi, identifikasi dan karakterisasi fenotipe bakteri *Staphylococcus aureus* dari limbah penyembelihan dan karkas ayam potong. *J. Vet. Adv*. 9(1):45-51.
- Kumala, S dan D. Indriani. 2008. Efek antibakteri ekstrak etanol daun cengkeh (*Eugenia aromatic* L.). *Jurnal Farmasi Indonesia*. 4(2):82-87.
- Lay, B.W. 1994. *Analisa Mikroba di Laboratorium*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Lestari, P. B dan T. W. Hartati. 2017. *Mikrobiologi Berbasis Inquiry*. Malang: Penerbit Gunung Samudera.
- Majidah, K.D., D.W.A. Fatmawati dan A. Gunadi. 2014. Daya antibakteri ekstrak daun seledri (*Apium graveolens* L.) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* sebagai alternatif obat. *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa*.
- Mustikasari, K dan Ariyani, D. 2008. Studi potensi binjai (*Mangifera caesia*) dan kasturi (*Mangifera casturi*) sebagai antidiabetes melalui skrining fitokimia pada akar dan batang. *Jurnal Sains dan Terapan Kimia* 2(2):64-73.
- Najoan, J. J., M. J. R. Runtuwene dan D. S. Wewengkang. 2016. Uji fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun tiga (*Allophylus cobbe* L.). *Pharmacon*. 5(1):266-274.
- Ngajow, M., J. Abidjulu dan V. S. Kamu. 2013. Pengaruh antibakteri ekstrak kulit batang matoa (*Pometia pinnata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In vitro*. *Jurnal MIPA UNSRAT Online*. 2(2):128-132.
- Ningsih, D. R., Zufahair dan D. Kartika. 2016. Identifikasi senyawa metabolit sekunder serta uji aktivitas ekstrak daun sirsak sebagai antibakteri molekul. 11(1):101-111.
- Noor, M. A dan M. L. Apriasari. 2014. Efektivitas antibakteri ekstrak metanol batang pisang mauli (*Musa acuminata*) dan *povidone iodine* 10% terhadap *Streptococcus mutan*. *Jurnal PDGI*. 63(3):78-83.
- Nirwana A. P., O. P. Astirin dan T. Widiyani. 2015. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Benalu Kersen (*Dendrophloe pentandra* L. Miq.). *EL VIVO*. 3(2):9-15.
- Nuria, M.C., A. Faizatun dan Sumantri. 2009. Uji antibakteri ekstrak etanol daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Mediagro* (2):26-37.
- Okwori, A., C. Dina., S. Junaidi., I. Okeke., J. Adetunji and A. Olabode. 2006. Antibacterial activities of *Ageratum conyzoides* extract on selected bacterial pathogens. *The Internet Journal Of Microbiology*. 4(1):1-8.
- Rahmi, Y., Darmawi, M. Abrar, F. Jamin, Fakhurrazi dan Y. Fahrimal. 2015. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* pada preputium dan vagina kuda (*Equus caballus*). *Jurnal Medika Veterinaria*. 9(2):154-158.
- Saraswati, D. 2011. Pengaruh konsentrasi ekstrak daun sirih terhadap daya hambat bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Helth dan Sport*. 3(2):331-338.
- Sangi, M., M.R.J. Runtuwene, H. E. I. Simbala dan V. M. A. Makang. 2008. Analisis fitokimia tumbuhan obat di kabupaten Minahasa Utara. *Chem. Prog*. 1(1):47-53.
- Sardiani, Nenis., M. Litaay, R. G. Budji., D. Priosambodo, Syahrublan dan Z. Dwyana. 2015. Potensi tunikata *Rhopalaea Sp* sebagai sumber inokulum bakteri endosimbion penghasil antibakteri; karakterisasi isolat. *Jurnal Alam Dan Lingkungan*. 6(11):1-10.
- Sugara T. H. 2011. Karakterisasi senyawa aktif antibakteri dari fraksi etil asetat daun tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides* L.). *Tesis*. Institut Pertanian Bogor.
- Suriana, N dan Shobariani, I, 2013, *Ensiklopedia Tanaman Obat*. Malang: Rumah Ide.
- Toelle, N. N dan V. Lenda 2014. Identifikasi dan karakteristik *Staphylococcus Sp.* dan *Streptococcus Sp.* dari infeksi ovarium pada ayam petelur komersial. *Jurnal Ilmu Ternak*. 1(7):32-37.
- Toy, T. T. S., B. S. Lampus dan B. S. P. Hutagalung. 2015. Uji daya hambat ekstrak rumput laut *Gracilaria Sp.* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal e-GiGi*. 3(1):153-159.
- Widyasanti, A., S. Hajar dan D. Rohdiana. 2015. Aktivitas antibakteri ekstrak teh putih terhadap bakteri Gram positif dan negatif. *Jurnal Penelitian Teh dan Kina*. 18(1):55-60.