

**UJI EFEKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK DAUN
BABADOTAN (*Ageratum conyzoides* L.) TERHADAP
BAKTERI *Staphylococcus aureus*
SECARA *IN VITRO***

KARYA TULIS ILMIAH



**ERIESTA DWI ESTYANI
13.131.0053**

**PROGRAM STUDI DIPLOMA III ANALIS KESEHATAN
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN
INSAN CENDEKIA MEDIKA
JOMBANG
2016**

**UJI EFEKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK DAUN
BABADOTAN (*Ageratum conyzoides* L.) TERHADAP
BAKTERI *Staphylococcus aureus*
SECARA *IN VITRO*.**

Karya Tulis Ilmiah

Diajukan Dalam Rangka Memenuhi Persyaratan

Menyelesaikan Studi pada Program Studi Diploma III Analisis Kesehatan

ERIESTA DWI ESTYANI

13.131.0053

**PROGRAM STUDI D III ANALIS KESEHATAN
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN
INSAN CENDEKIA MEDIKA
JOMBANG
2016**

ABSTRACT

THE EFFECTIVENESS ANTIMICROBIAL TEST OF BABADOTAN LEAF EXTRACT (AGERATUM CONYZOIDES L.) AGAINST STAPHYLOCOCCUS AUREUS BACTERIA USING IN VITRO METHOD

By
Eriesta Dwi Estyani

Staphylococcus aureus is a major cause of bacterial wound infections with a mortality rate reached 48%. *Staphylococcus aureus* has also been resistant to the penicillin class of drugs as well as derivatives such as methicillin makes handling of infection by the bacterium *Staphylococcus aureus* is relatively difficult. Leaves babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) is known to contain antimicrobial compounds such as saponins, flavonoids and tannins. The purpose of this study was to knowing the effectiveness of the antimicrobial extract babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) against *Staphylococcus aureus* in vitro.

In this research, the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) is determined by using a solid dilution method. Babadotan leaf extract (*Ageratum conyzoides* L.) were used that concentrations of 3%, 6%, 12%, and 24% with a negative control for comparison. Negative controls were used containing media and the bacterial suspension. Results obtained from comparing the number of colonies on each treated with a negative control.

Antimicrobial efficacy test result babadotan leaf extract (*Ageratum conyzoides* L.) against *Staphylococcus aureus* bacteria in vitro is indicated by a decrease in the number of bacterial colonies on each treatment. The average number of bacterial colonies on the concentration babadotan leaf extract of 3% as many as 392 colonies, the concentration 6% as many as 566 colonies, the concentration 12% as many as 276 colonies, the concentration 24% as many as 5 colonies, and the negative control as many as 732 colonies. A decrease in the number of bacterial colonies begun in the babadotan leaf extract (*Ageratum conyzoides* L.) concentration of 6% and MIC (Minimum Inhibitory Concentration) located on the babadotan leaf extract (*Ageratum conyzoides* L.) concentration of 24%.

Based on the result of the research and One Way ANOVA ANOVA test is showed the effectiveness of the antimicrobial extract babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) that significantly against *Staphylococcus aureus* and MIC in this experiment be in the concentration of leaf extract babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) 24%.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, babadotan leaf extract (*Ageratum conyzoides* L.), antimicrobial.

ABSTRAK

UJIEFEKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK DAUN BABADOTAN (*Ageratum conyzoides* L.) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* SECARA *IN VITRO*

Oleh
Eriesta Dwi Estyani

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri penyebab utama infeksi pada luka dengan angka mortalitas mencapai 48%. Bakteri *Staphylococcus aureus* juga telah resisten terhadap obat golongan penicillin dan turunannya seperti methicillin membuat penanganan infeksi oleh bakteri *Staphylococcus aureus* relatif sulit. Daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) diketahui mengandung senyawa antimikroba seperti saponin, flavonoid dan tanin. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk Mengetahui efektivitas antimikroba ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

Dalam penelitian ini, Kadar Hambat Minimum (KHM) ditentukan dengan menggunakan metode dilusi padat. Ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) yang digunakan yaitu konsentrasi 3%, 6%, 12%, dan 24% dengan satu kontrol negatif sebagai pembanding. Kontrol negatif yang digunakan berisi media dan suspensi bakteri. Hasil diperoleh dari membandingkan jumlah koloni pada tiap perlakuan dengan kontrol negatif.

Hasil uji efektivitas antimikroba ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* ditunjukkan dengan adanya penurunan jumlah koloni bakteri pada masing-masing perlakuan. Rata-rata jumlah koloni bakteri pada pemberian ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) konsentrasi 3% sebanyak 792 koloni, konsentrasi 6% sebanyak 566 koloni, konsentrasi 12% sebanyak 276 koloni, konsentrasi 24% sebanyak 5 koloni dan pada kontrol negatif sebanyak 732 koloni. Penurunan jumlah koloni bakteri dimulai pada pemberian ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) konsentrasi 6% dan KHM (Kadar Hambat Minimum) terletak pada pemberian ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) konsentrasi 24%.

Berdasarkan hasil penelitian dan uji *One Way* ANOVA didapatkan hasil adanya efektivitas antimikroba ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) yang signifikan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan nilai KHM pada penelitian ini terletak pada konsentrasi ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) 24%.

Kata kunci: *Staphylococcus aureus*, ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.), antimikroba.

LEMBAR PERSETUJUAN KARYA TULIS ILMIAH

Judul Proposal : Uji Efektivitas Antimikroba Ekstrak Daun Babadotan
(*Ageratum conyzoides* L.) terhadap Bakteri
Staphylococcus aureus secara *In Vitro*

Nama Mahasiswa : Eriesta Dwi Estyani

NIM : 13.131.0053

Program Studi : D-III Analisis Kesehatan

Menyetujui,
Komisi Pembimbing

Awaluddin S, S.Pd., M.Kes

Pembimbing Utama

Farach Khanifah, M.Si

Pembimbing Anggota

Mengetahui,

Bambang Tutuko, S.H., S.Kep.Ns. MH.

Ketua STIKes ICMe Jombang

Erni Setyorini, S.KM., MM

Ketua Program Studi

HALAMAN PENGESAHAN PENGUJI

UJI EFEKTIVITAS ANTIMIKROBA EKSTRAK DAUN BABADOTAN (*Ageratum conyzoides* L.) TERHADAP BAKTERI *staphylococcus aureus* SECARA *IN VITRO*

Disusun oleh:

Eriesta Dwi Estyani

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji

Pada tanggal dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Jombang, 23 Juli 2016

Komisi Penguji,

Penguji Utama

dr. Heri Wibowo, M.Kes

Penguji Anggota

1. Awaluddin S, S.Pd., M.Kes

2. Farach Khanifah, M.Si

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Eriesta Dwi Estyani
NIM : 13.131.0053
Tempat, tanggal lahir : Bojonegoro, 18 Januari 1996
Institusi : STIKes ICMe Jombang

Menyatakan bahwa Karya Tulis Ilmiah yang berjudul “Uji Efektivitas Antimikroba Ekstrak Daun Babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In Vitro* ” adalah bukan Karya Tulis Ilmiah milik orang lain baik sebagian maupun keseluruhan, kecuali dalam bentuk kutipan yang telah disebutkan sumbernya.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya dan apabila pernyataan ini tidak benar, saya bersedia mendapatkan sanksi.

Jombang, 23 Juli 2016

Yang menyatakan,

Eriesta Dwi Estyani

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bojonegoro, 18 Januari 1996 dari pasangan Ibu Surati dan Bapak Wardi. Penulis merupakan putri kedua dari dua bersaudara.

Tahun 2007 penulis lulus dari SDN Drokilo 1, tahun 2010 penulis lulus dari SMPN 1 Kedungadem, dan tahun 2013 penulis lulus dari SMAN 1 Kedungadem. Pada tahun 2013 penulis lulus seleksi masuk STIKes “Insan Cendekia Medika” Jombang melalui jalur PMDK. Penulis memilih progra studi DIII Analis Kesehatan dari lima program studi yang ada di STIKes “Insan Cendekia Medika” Jombang.

Demikian riwayat hidup ini dibut dengan sebenarnya.

Jombang, 23 Juli 2016

Eriesta Dwi Estyani
13.131.0053

MOTTO

Keridhaan Allah itu terletak dari keridhaan kedua orang tua. Murka Allahpun terletak pada murka kedua orang tua (HR. Baihaqy).

Ketika engkau tidak mengetahui harus memulai dari mana untuk memperbaiki diri, maka mulailah untuk memperbaiki shalatmu.

“Tidak ada hasil yang mengkhianati perjuangan”.

KATA PENGANTAR

Dengan menyebut nama Allah Yang Maha Pengasih Lagi Maha Penyayang, segala puji syukur penulis panjatkan kehadirat-Nya, atas segala karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan Karya Tulis Ilmiah dengan judul: “Uji Efektivitas Antimikroba Ekstrak Daun Babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In Vitro*” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Ahli Madya Analis Kesehatan STIKes Insan Cendekia Medika Jombang.

Keberhasilan ini tentu tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu pada kesempatan yang berbahagia ini penulis ingin menghaturkan terima kasih kepada Bambang Tutuko, S.H., S.Kep.Ns. MH., Erni Setyorini, S.KM., MM., Awaluddin Susanto, S.Pd., M.Kes., Farach Khanifah, M.Si, ayah & ibu, serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu penulis dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.

Penulis menyadari bahwa dengan segala keterbatasan yang dimiliki, Karya Tulis Ilmiah yang penulis susun ini masih memerlukan penyempurnaan. Kritik dan saran sangat diharapkan oleh penulis demi kesempurnaan karya ini.

Akhir kata, semoga Karya Tulis Ilmiah ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Jombang, 23 Juli 2016

Penulis,

Eriesta Dwi Estyani

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMBUNG.....	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
ABSTRACT	iii
ABSTRAK.....	iv
LEMBAR PERSETUJUAN KARYA TULIS ILMIAH	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
SURAT PERNYATAAN	vii
RIWAYAT HIDUP	viii
MOTTO	ix
KATA PENGANTAR	x
DAFTAR ISI.....	xi
HALAMAN PERSEMBAHAN	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tumbuhan Babadotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.).....	5
2.2 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	10
2.3 Ekstraksi	14

2.4 Antimikroba	16
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL	
3.1 Kerangka Konseptual	24
3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual	25
3.3 Hipotesis	25
BAB IV METODE PENELITIAN	
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian	26
4.2 Desain Penelitian	26
4.3 Populasi dan Sampel	27
4.4 Instrumen Penelitian dan Cara Penelitian.....	27
4.5 Teknik Pengolahan Data dan Analisa Data.....	34
4.6 Definisi Operasional Variabel	36
4.7 Kerangka Kerja (<i>Frame Work</i>).....	38
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	
5.1 Gambaran Lokasi Penelitian	39
5.2 Data Hasil Penelitian	39
5.3 Analisis Data	51
BAB VI PENUTUP	
6.1 Kesimpulan.....	57
6.2 Saran.....	57
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	

HALAMAN PERSEMBAHAN



Dengan mengucapkan syukur Alhamdulillah, kupersembahkan karya kecilku ini untuk orang-orang yang kusayangi:

“Ayah dan Ibu Tercinta”

Seseorang yang paling spesial dalam hidupku: Bapak Wardi dan Ibu Surati yang telah banyak memberikan doa, motivasi, kesabaran dan membimbingku sampai saat ini. Terimakasih Pak Buk. Semoga panjang umur dan sehat selalu ya Pak Buk, semoga aku bisa menjadi anak yang bisa membawamu ke Syurga Allah dan mengangkat derajatmu di dunia dan akhirat. Semoga selalu dalam lindungan Allah. “Inilah karya terbaik yang baru bisa kupersembahkan untukmu”.

“Kakak Tercinta”

Seseorang yang tak pernah lelah untuk memberikan semangat dan pembelajaran menuju kedewasaan dalam hidupku: Mbak Endang Setyowati Amd. Keb. Semoga kita bisa selalu menjadi anak yang dibanggakan oleh Bapak dan Ibuk kita.

“Sosok-sosok yang Begitu Melekat di Hati”

Untuk seseorang yang begitu sabar dan tidak pernah letih memberikan semangat padaku, membimbingku menjadi pribadi yang lebih baik lagi: Sri Lestari, SKM., Erni Setyorini, SKM., MM., Awaluddin Susanto, S.Pd., M. Kes., Farach Khanifah, M. Si., Sofa Marwa Lesmana, Amd. AK. Semoga Allah membalas kebaikan beliau semua dengan membangunkan Syurga yang indah kelak.

“Sahabat-sahabatku Tersayang”

Untuk kalian yang menemani setiap hari-hariku, melukiskan bulan sabit di bibirku, mengulurkan tangan untuk selalu membantuku, dan mengingatkanku apabila aku

salah: Indah Kusuma A, Maslahatul Fariha, Patim Homamah, Ulfa Mufidhatul K.C., Rina Ning Septia, Andita Fitriani, Aprilia Sasmita Sari, Desyana Nurshinta

Dewi dan sahabat-sahabatku lain yang belum kusebutkan satu per satu. Aku sayang kalian semua. Semoga menjadi persahabatan yang membawa kebaikan

dan semoga menjadi sahabat dunia akhirat.

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1 Definisi Operasional Uji Efektivitas Antimikroba Ekstrak Daun Babadotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.) terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> secara <i>In Vitro</i>	39
Tabel 5.1 Tabel Pengamatan Pembuatan Ekstrak Daun Babadotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.).....	43
Tabel 5.2 Hasil Uji Organoleptis Ekstrak Daun Babadotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.)	43
Tabel 5.3 Hasil Perhitungan Jumlah Koloni Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> pada masing-masing Konsentrasi dan Kontrol.....	45
Tabel 5.4 Hasil Analisis <i>One Way</i> ANOVA (<i>Analysis of Variances</i>) Daya Hambat Ekstrak Daun Babadotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.).....	52
Tabel 5.5 Ringkasan Hasil Uji <i>Post-Hoc</i> LSD (<i>Least Significant Difference</i>) Jumlah Koloni Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> antara tiap Perlakuan Konsentrasi Ekstrak Daun Babadotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.).....	53

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Skema Pembuatan Ekstrak Daun Babadotan.
- Lampiran 2. Skema Pemeriksaan Sampel
- Lampiran 3. Lembar Konsultasi
- Lampiran 4. Alat dan Bahan yang digunakan
- Lampiran 5. Hasil Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* secara Makroskopis dan Mikroskopis
- Lampiran 6. Proses dan Hasil Ekstraksi
- Lampiran 7. Hasil Perhitungan Jumlah Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Media *Muller Hilton Agar* dengan Menggunakan *Colony Counter*
- Lampiran 8. Hasil Konversi Penghitungan Konsentrasi Ekstrak (%) dalam Satuan mg/ml
- Lampiran 9. Hasil Analisis Data Menggunakan SPSS 16
- Lampiran 10. Jadwal Penelitian
- Lampiran 11. Lock Book
- Lampiran 12. Berita Acara

DAFTAR GAMBAR

		Halaman
Gambar 2.1	Tumbuhan Babadotan (<i>Ageratum Conyzoides</i> L.)	6
Gambar 2.2	Struktur Saponin	8
Gambar 2.3	Struktur Tanin	9
Gambar 2.4	Struktur Flavonoid	9
Gambar 2.5	Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	10
Gambar 2.6	Struktur Dasar Sel Bakteri	18
Gambar 3.1	Kerangka Konseptual tentang Uji Efektivitas Antimikroba Ekstrak Daun Babadotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.) terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> secara <i>In Vitro</i>	24
Gambar 4.1	Kerangka Kerja Penelitian tentang Uji Efektivitas Antimikroba Ekstrak Daun Babadotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.) terhadap Bakteri <i>Staphylococcus Aureus</i> secara <i>In Vitro</i>	40
Gambar 5.1	Grafik Rata-rata Jumlah Koloni Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dalam Kelompok Perlakuan Konsentrasi Ekstrak Daun Babadotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.).....	51
Gambar 5.2	Grafik Rata-rata Perbedaan Jumlah Koloni Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dalam Kelompok Perlakuan Konsentrasi Ekstrak Daun Babadotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.).....	55

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perkembangan di dunia kesehatan selalu mengalami peningkatan setiap tahunnya. Namun hal ini juga diikuti dengan adanya permasalahan lainnya, salah satunya adalah adanya resistensi antibiotik terhadap spesies bakteri tertentu. Resistensi antibiotik merupakan suatu kondisi dimana suatu antibiotik sudah tidak peka lagi dalam menghambat pertumbuhan bakteri sehingga adanya infeksi menjadi sulit untuk dihindari.

Sebuah data menyebutkan bahwa beberapa negara di Asia dan Afrika sebanyak 80% dari jumlah populasi menggunakan obat-obatan tradisional sebagai *primary health care* dan sebanyak 70-80% dari populasi di negara maju menggunakan obat tradisional sebagai alternatif pengobatan maupun pelengkap pengobatan (WHO, 2008).

Pengobatan alternatif menggunakan bahan alami dikenal lebih ramah terhadap tubuh. Bahan alami yang paling banyak digunakan saat ini adalah tumbuh-tumbuhan sebab tumbuhan merupakan gudang bahan kimia yang memiliki sejuta manfaat untuk menyembuhkan penyakit. Indonesia memiliki tumbuhan obat yang banyak dan beragam. Pemanfaatan tumbuhan sebagai obat tradisional telah lama digunakan oleh berbagai suku di seluruh Indonesia.

Lebih dari 20.000 tumbuhan obat yang tersebar di seluruh Indonesia. Namun hanya 1000 jenis yang sudah didata dan hanya 300 jenis saja yang sudah dimanfaatkan untuk pengobatan tradisional. Penggunaan tanaman herbal sebagai obat tradisional juga memiliki banyak kelebihan maupun kekurangan. Pengobatan dengan bahan herbal lebih aman, mudah

didapatkan, harga murah, aplikasi yang sederhana, dan memiliki efek samping yang rendah apabila digunakan dosis yang normal, sedangkan kekurangannya adalah memerlukan waktu yang relatif lama untuk mengetahui hasilnya.

Di Indonesia, tumbuhan babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) lebih dikenal sebagai tanaman pengganggu. Masyarakat Indonesia lebih memanfaatkannya sebagai pakan ternak. Tumbuhan babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) memiliki kandungan zat yang penting bagi tubuh namun tidak banyak masyarakat yang mengetahuinya. Zat di dalam tumbuhan babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) ini dapat digunakan untuk menyembuhkan penyakit infeksi karena bakteri yaitu senyawa flavonoid, saponin dan tanin.

Penyakit infeksi masih menjadi salah satu masalah kesehatan serius yang dihadapi oleh dunia. Hampir 14 juta orang tiap tahunnya meninggal dunia akibat menderita penyakit infeksi. Penyakit infeksi diduga menjadi salah satu masalah utama yang menyebabkan kecacatan dan kematian di negara berkembang (Schlein, 2009 dikutip dari Siregar, 2010).

Pemakaian antibiotika yang tidak tepat untuk pengobatan infeksi bakteri memunculkan berbagai masalah setelah beberapa tahun kemudian. Salah satunya adalah adanya resistensi antibiotika dimana spesies bakteri tertentu sudah tidak peka (resisten) lagi terhadap antibiotik tertentu. Bakteri yang saat ini telah banyak resisten terhadap antibiotik salah satunya adalah bakteri *Staphylococcus aureus* yang banyak menyebabkan infeksi pada luka.

Staphylococcus aureus merupakan patogen utama pada manusia. Hampir setiap orang pernah mengalami berbagai infeksi oleh bakteri ini selama hidupnya, mulai dari keracunan makanan yang berat atau infeksi

kulit yang kecil, sampai infeksi yang tidak bisa disembuhkan (Brooks, Butel, Morse, 2001, h.317).

Beberapa penelitian di Thailand menunjukkan adanya kejadian infeksi karena *Staphylococcus aureus* yang memiliki angka mortalitas hingga 48%. Bahkan terkait dengan tingginya kejadian infeksi, penanganan yang tidak efektif menghasilkan suatu masalah baru yaitu resistensi terhadap obat. Pada penelitian di beberapa negara menemukan bahwa *Staphylococcus aureus* resisten terhadap obat golongan penisilin dan juga turunannya seperti methicillin (Jalalpoor, 2011 dan Charlebois et al., 2004 dikutip dari Michael 2012).

Pada penelitian sebelumnya, telah dilakukan pemanfaatan tumbuhan babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) sebagai obat luka, radang dan gatal-gatal. Daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa* (Wijayakusuma, 2000).

Berdasarkan permasalahan yang telah dipaparkan tersebut peneliti berkeinginan untuk mengetahui uji efektivitas antimikroba ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, maka rumusan masalah dari penelitian ini adalah :

1. Bagaimana efektivitas antimikroba ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*?

2. Berapa konsentrasi KHM (Kadar Hambat Minimum) dari ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui efektivitas antimikroba ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

1.3.2 Tujuan Khusus

Mengetahui nilai KHM (Kadar Hambat Minimum) dari ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Memberikan sumbangan pemikiran bagi perkembangan ilmu kesehatan khususnya di bidang Mikrobiologi.

1.4.2 Manfaat Praktis

1.4.2.1 Bagi Peneliti Selanjutnya

Menambah informasi dan gambaran tentang efektivitas antimikroba alami yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* untuk penelitian selanjutnya.

1.4.2.2 Bagi Tenaga Kesehatan

Memberikan masukan dalam rangka memperkenalkan penggunaan ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) pada masyarakat luas sebagai salah satu pengobatan alternatif untuk infeksi kulit yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tumbuhan Babadotan (*Ageratum conyzoides* L.)

2.1.1 Morfologi

Babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) merupakan tumbuhan terna semusim, tumbuh tegak atau bagian bawahnya berbaring, memiliki tinggi 30-90 cm, dan bercabang. Tumbuhan babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) memiliki batang bulat, berambut panjang, dan akan mengeluarkan akar saat menyentuh tanah. Daun tanaman babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) berbentuk bulat telur dengan pangkal membulat, bertangkai, ujung runcing, tepi bergerigi, panjang 1-10 cm, lebar 0,5-6 cm dan tumbuh berhadapan atau bersilang (*compositae*). Kedua permukaan daun berambut panjang, memiliki kelenjar yang terletak di permukaan bawah daun, dan berwarna hijau (Agromedia, 2008, h.18). Jika daunnya telah layu dan membusuk, tumbuhan ini akan mengeluarkan bau tidak enak (Dalimartha, 2000, h. 2).

Tumbuhan babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) memiliki bunga majemuk yang berkumpul 3 atau lebih, keluar dari ujung tangkai, berwarna putih dan ungu dengan panjang bonggol bunga antara 6-8 mm, dan tangkai berambut. Tumbuhan ini juga memiliki buah berwarna hitam dan berbentuk kecil (Agromedia, 2008, h. 18).



Gambar 2.1 Tumbuhan Babadotan (*Ageratum conyzoides* L.)

2.1.2 Taksonomi

Menurut Plantamor (2011), adapun sistematika tumbuhan babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) adalah sebagai berikut: kingdom *Plantae*, divisio *Spermatophyta*, subdivisio *Angiospermae*, kelas *Dicotyledoneae*, ordo *Compositales*, family *Compositaceae*, genus *Ageratum*, spesies *Ageratum conyzoides* L.

2.1.3 Habitat dan Penyebaran

Tumbuhan babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) berasal dari Amerika tropis. Di Indonesia, tumbuhan ini merupakan tumbuhan liar dan lebih dikenal sebagai tumbuhan pengganggu (gulma) di kebun dan di ladang. Tumbuhan ini juga dapat ditemukan di pekarangan rumah, tepi jalan, tanggul, dan sekitar saluran air pada ketinggian 1-2.100 m di atas permukaan laut. Tumbuhan ini dapat diperbanyak dengan biji (Dalimartha, 2000, h. 2).

2.1.4 Kandungan Kimiawi

Herba babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) (bagian yang berada di atas tanah) memiliki kandungan bahan kimia yang cukup banyak diantaranya asam amino, *organacid*, *peptic substance*, minyak atsiri, kumarin, *ageratochromene*, friedelin, beta sitosterol, stigmasterol, tanin, sulfur dan potassium chlorida (Agromedia, 2008, h. 18).

Selain itu, daun dan bunga babadotan mengandung saponin, tanin, minyak atsiri, flavonoid dan polifenol (Kementerian Negara Riset dan Teknologi RI, 2011). Sedangkan akar babadotan mengandung minyak atsiri, alkaloid dan kumarin (Dalimartha, 2000, h. 2).

2.1.5 Manfaat dan Kegunaan

Herba babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) memiliki rasa sedikit pahit, pedas, dan sifatnya netral. Berkhasiat sebagai stimulan, tonik, pereda demam, antitoksin, menghilangkan pembengkakan, menghentikan perdarahan (hemostasis), peluruh haid, peluruh kencing (diuretik), dan peluruh kentut (karminatif). Daun babadotan juga dapat digunakan sebagai insektisida nabati (Dalimartha, 2000, h. 2).

Manfaat lain dari tumbuhan babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) diantaranya adalah untuk mengobati demam, malaria, sakit tenggorokan, radang paru (pneumonia), radang telinga tengah (otitis media), perdarahan seperti perdarahan rahim, luka berdarah, mimisan, diare, disentri, mulas (kolik), muntah, perut kembung, keseleo, pegal linu, mencegah kehamilan, badan lelah setelah kerja berat, produksi urine sedikit, tumor rahim serta untuk perawatan rambut (Agromedia, 2008, h. 19).

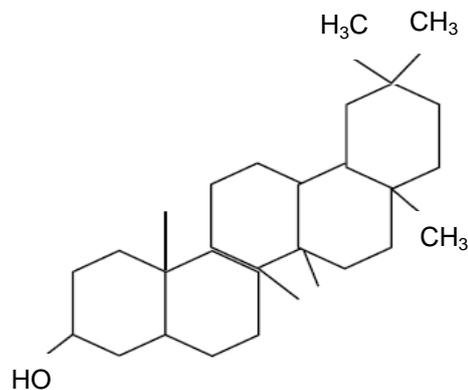
2.1.6 Kandungan Zat Aktif Antimikroba

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengetahui daya antimikroba daun babadotan terhadap bakteri. Salah satu penelitian menunjukkan bahwa ekstrak heksan daun babadotan mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* resisten

dan *Escherichia coli* resisten dengan konsentrasi masing-masing 9% b/v (Ariesti, Yuswantina, Pramita, 2015).

Tumbuhan ini mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Ekstrak etanol daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) mempunyai aktivitas antimikroba, sedangkan ekstrak metanol daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) dapat menyembuhkan luka dari kulit tikus Wistar (Wijayakusuma, 2000).

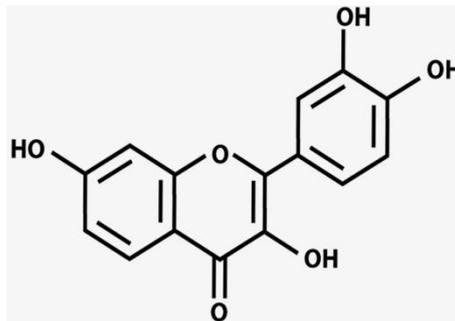
Saponin diketahui mempunyai efek menghambat pertumbuhan mikroba secara *in vitro* melalui proses perusakan membran sel bakteri dengan cara berikatan dengan kompleks polisakarida pada dinding sel (Papadoupulou *et al.*, 1999 dikutip dari Siregar, 2010). Saponin dapat berfungsi sebagai antimikroba karena kemampuannya dalam mempengaruhi permeabilitas membran sitoplasma sehingga sel mikroba menjadi lisis (Singleton, 1988 dikutip dari Siregar, 2010).



Gambar 2.2 Struktur Saponin

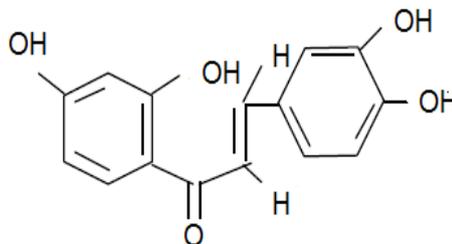
Tanin memiliki aktivitas antimikroba karena toksisitas tanin dapat merusak membran sel bakteri. Tanin dapat mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga

pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati. Tanin juga mempunyai daya antimikroba dengan cara mempresipitasi protein, karena tanin mempunyai efek yang sama dengan senyawa fenolik. Efek antimikroba tanin antara lain melalui: reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik (Fadlilah, 2015).



Gambar 2.3 Struktur Tanin

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler. Senyawa flavonoid terdiri dari flavon, flavanol, isoflavon. Flavon dan flavanol adalah senyawa yang paling banyak ditemukan pada tumbuh-tumbuhan (IndoBIC, 2005 dikutip dari Nuria, Faizatun, Sumantri, 2009).



Gambar 2.4 Struktur Flavonoid

2.2 Bakteri *Staphylococcus aureus*

2.2.1 Morfologi



Gambar 2.5 Bakteri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat berdiameter 1 μm yang tersusun dalam bentuk rantai tidak teratur. *Staphylococcus aureus* bersifat fakultatif anaerob, non motil (tidak mempunyai kemampuan untuk berpindah karena tidak memiliki flagel) dan tidak membentuk spora. *Staphylococcus aureus* hidup bebas di lingkungan dan membentuk kumpulan yang teratur terdiri dari empat atau delapan *coccus* seperti buah anggur. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25°C). Koloni berwarna abu-abu hingga kuning emas, berbentuk bulat, halus, menonjol, dan berkilau (Brooks, Butel, Morse, 2001, h. 317).

2.2.2 Faktor Virulensi

Staphylococcus aureus dapat menyebabkan penyakit karena kemampuannya melakukan pembelahan, menyebar luas ke dalam jaringan dan melalui produksi beberapa bahan ekstraseluler. Beberapa dari bahan tersebut adalah enzim, yang lain dapat berupa toksin, meskipun fungsinya adalah sebagai enzim. Enzim dan toksin

ini berperan untuk merusak inangnya. Berbagai bahan tersebut berperan sebagai faktor virulensi contohnya :

1. Katalase

Staphylococcus aureus menghasilkan katalase, yang mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Katalase adalah enzim yang berperan pada daya tahan bakteri terhadap proses fagositosis. Tes katalase digunakan untuk membedakan genus *Staphylococcus* positif dan *Staphylococcus* negatif.

2. Koagulase

Staphylococcus aureus menghasilkan koagulase, protein yang menyerupai enzim yang mampu menggumpalkan plasma. Faktor serum bereaksi dengan koagulase untuk membentuk esterase dan aktivitas penggumpalan dengan cara yang sama untuk mengaktivasi protrombin menjadi trombin. Cara kerja koagulase pada ruang lingkup tahapan penggumpalan plasma normal yaitu koagulase dapat membentuk fibrin pada permukaan *Staphylococcus aureus*, sehingga bakteri dapat merusak sel fagosit.

3. Enzim Lain

Enzim lain yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* antara lain hyaluronidase atau faktor penyebaran, stafilokinase juga bekerja sebagai fibrinolisis tapi lebih lambat daripada streptokinase. Enzim lainnya yaitu proteinase, lipase, dan beta-lactamase.

4. Eksotoksin

Eksotoksin meliputi beberapa toksin yang bersifat mematikan jika disuntikkan pada binatang, menyebabkan nekrosis (kematian

sel) pada kulit, dan berisi larutan hemolisis yang dapat dipisahkan dengan elektroforesis. Alfatoksin (hemolisin) adalah protein heterogen yang dapat melisis eritrosit dan merusak platelet (trombosit) serta dimungkinkan sama dengan faktor mematikan dan faktor dermonekrotik dari eksotoksin. Alfatoksin memiliki aksi yang sangat kuat terhadap otot polos vaskular. Betatoksin bersifat toksik pada beberapa jenis sel, termasuk sel darah merah manusia.

5. Leukosidin

Toksin ini dapat membunuh sel darah putih pada beberapa hewan. Tetapi peranannya dalam patogenesis pada manusia tidak jelas, karena *Staphylococcus aureus* patogen tidak dapat mematikan sel-sel darah putih manusia dan dapat difagositosis seefektif mungkin seperti yang nonpatogenik. Namun bakteri *Staphylococcus aureus* mampu melakukan multiplikasi intraseluler (memperbanyak diri di dalam sel) dimana organisme non patogenik cenderung untuk mati di dalam sel.

6. Toksin Eksfoliatif

Toksin *Staphylococcus aureus* ini termasuk sedikitnya dua protein yang menghasilkan deskuamasi generalisata (kulit bersisik) pada *Staphylococcal Scalded Skin Syndrome*. Antibodi spesifik melindungi terhadap aksi eksfoliatif dari toksin.

7. Toksin Sindroma Syok Toksik (TSST)

Sebagian besar galur *Staphylococcus aureus* yang diisolasi dari penderita sindroma syok toksik menghasilkan racun yang dinamakan *Toxic Shock Syndrome Toxin-1* (TSST-1), yang secara struktural sama dengan enterotoksin B dan C. Pada manusia,

toksin ini menyebabkan demam, syok, ruam kulit, dan gangguan multisistem organ dalam tubuh.

8. Enterotoksin

Enterotoksin adalah enzim yang tahan panas (bertahan pada air mendidih selama 30 menit), tahan terhadap suasana basa di dalam usus dan resisten terhadap enzim usus. Enzim ini merupakan penyebab utama dalam keracunan makanan, terutama pada makanan yang mengandung karbohidrat dan protein (Brooks, Butel, Morse, 2001, h. 321).

2.2.3 Patogenitas dan Gejala Klinis

Infeksi oleh *Staphylococcus aureus* ditandai dengan kerusakan jaringan yang disertai abses bernanah. Kemampuan patogenik dari galur *Staphylococcus aureus* adalah pengaruh gabungan antara faktor ekstraseluler dan toksin bersama dengan sifat daya sebar invasif (dapat masuk ke dalam sel inang atau menembus permukaan kelenjar [mukus](#) sehingga menyebar dari titik awal infeksi). Beberapa penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* adalah bisul, jerawat, dan infeksi luka. Infeksi yang lebih berat diantaranya pneumonia, mastitis, meningitis, infeksi saluran kemih, dan endokarditis. *Staphylococcus aureus* juga merupakan penyebab utama infeksi nosokomial, keracunan makanan, dan sindroma syok toksik (Brooks, Butel, Morse, 2001, h. 322).

Bisul atau abses setempat, seperti jerawat dan borok merupakan infeksi kulit di daerah folikel rambut, kelenjar sebacea, atau kelenjar keringat. Mula-mula terjadi nekrosis jaringan setempat, lalu terjadi koagulasi fibrin di sekitar lesi (jaringan yang abnormal pada tubuh)

dan pembuluh getah bening, sehingga terbentuk dinding yang membatasi proses nekrosis. Infeksi dapat menyebar ke bagian tubuh lain melalui pembuluh getah bening dan pembuluh darah, sehingga terjadi peradangan pada vena, trombosis, bahkan bakterimia. Bakterimia dapat menyebabkan terjadinya endokarditis, meningitis atau infeksi paru-paru. Kontaminasi langsung *Staphylococcus aureus* pada luka terbuka (seperti luka pascabedah) atau infeksi setelah trauma dan meningitis setelah fraktur tengkorak, merupakan penyebab infeksi nosokomial (Brooks, Butel, Morse, 2001, h. 321-323).

2.2.4 Diagnosis

Untuk pemeriksaan *Staphylococcus aureus* secara laboratorium dapat dilakukan dengan bahan pemeriksaannya berupa: usapan permukaan nanah, darah, aspirat trakea atau cairan spinal, dipilih berdasarkan tempat infeksi. Adanya bakteri *Staphylococcus aureus* yang khas dapat dilihat pada hapusan yang dicat dari sputum atau pus (Brooks, Butel, Morse, 2001, h. 324).

2.3 Ekstraksi

Ekstraksi adalah penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Prinsip dari ekstraksi pelarut adalah pemisahan secara komponen dari zat terlarut di dalam dua campuran pelarut yang tidak saling bercampur. Pada tumbuhan, simplisia yang diekstrak mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein dan lain-lain. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid dan lain-lain. Senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia akan

mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (DitJen POM, 2000).

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (DitJen POM, 2000).

Ada beberapa cara metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut yaitu :

1. Cara Dingin

- a. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur kamar. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya.

- b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Prosesnya terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahapan maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penempungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan (DitJen POM, 2000).

2. Cara Panas

a. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga proses ekstraksi sempurna.

b. Sokshletasi

Sokshletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstrak kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

c. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan *continue*) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur kamar, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40°C-50°C.

d. Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air 96°C-98°C (bejana infus tercelup dengan penangas air mendidih selama 15-20 menit).

e. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama ($\geq 30^\circ\text{C}$) dan temperatur sampai titik didih air (DitJen POM, 2000).

2.4 Antimikroba

2.4.1 Senyawa Antimikroba

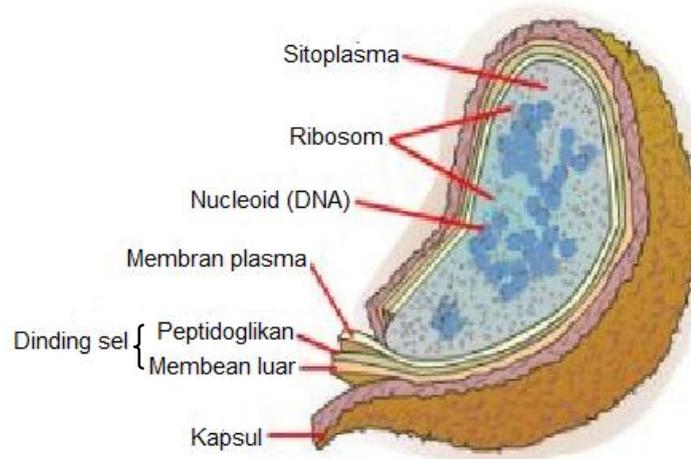
Antimikroba adalah zat yang mampu membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Antimikroba secara

umum digunakan dalam pengobatan medis infeksi bakteri. Antimikroba yang ideal menunjukkan toksisitas selektif. Hal ini secara tidak langsung menjelaskan bahwa obat berbahaya bagi bakteri dan tidak membahayakan inang. Toksisitas selektif mungkin merupakan fungsi reseptor spesifik yang dibutuhkan untuk melekatnya obat-obatan, atau bisa karena hambatan biokimia yang bisa terjadi bagi organisme namun tidak bagi inang (Brooks, Butel, Morse, 2001, h. 223-224).

Senyawa antimikroba yang berasal dari tanaman sebagian besar diketahui merupakan metabolit sekunder tanaman, terutama dari golongan fenolik dan terpen dalam minyak atsiri. Sebagian besar metabolit sekunder dibiosintesis (pembentukan molekul alami) dari banyak metabolit primer seperti asam-asam amino, asetil ko-A, asam mevalonat, dan metabolit antara. Selain itu, beberapa senyawa yang bersifat antimikroba alami berasal dari tanaman diantaranya adalah fitoaleksin, asam organik, minyak esensial (atsiri), fenolik dan beberapa kelompok pigmen tanaman atau senyawa sejenis (Nychas dan Tassou, 2000 dikutip dari Nuraini, 2007).

2.4.2 Mekanisme Kerja Antimikroba

Antimikroba secara umum digunakan dalam pengobatan medis untuk infeksi bakteri. Mekanisme kerja antimikroba ini dapat dikelompokkan menjadi 4 kelompok utama yaitu :



Gambar 2.6 Struktur Dasar Sel Bakteri

1. Penghambatan terhadap sintesis dinding sel.

Bakteri mempunyai lapisan luar yang keras, yakni dinding sel. Mempertahankan bentuk mikroorganisme dan pelindung sel bakteri, yang mempunyai tekanan osmotik internal yang tinggi. Tekanan interal tersebut tiga hingga lima kali lebih besar pada bakteri gram positif daripada bakteri gram negatif. Trauma pada dinding sel (misalnya, oleh lisozim) atau penghambatan pembentukannya, menimbulkan lisis pada sel.

2. Penghambatan terhadap fungsi membran sel.

Sitoplasma semua sel hidup dibatasi oleh membran sitoplasma, yang berperan sebagai barrier permeabilitas selektif (mencegah pertukaran materi secara bebas dari satu sisi ke sisi lain pada saat bersamaan), membawa fungsi transport aktif, dan kemudian mengontrol komposisi internal sel. Jika fungsi integritas membran sitoplasma dirusak, makromolekul dan ion keluar dari sel, kemudian sel rusak atau terjadi kematian. Membran sitoplasma bakteri dan fungi mempunyai struktur berbeda

dibanding sel binatang dan dapat dengan mudah dirusak oleh agen tertentu.

3. Penghambatan terhadap sintesis protein.

Mekanisme kerja antimikroba melalui penghambatan terhadap sintesis protein misalnya penghambatan translasi dan transkripsi material genetik. Zat-zat yang antimikroba yang bekerja dengan menghambat sintesis protein misalnya: kloramfenikol, makrolida dan azalida (*erytromycin, azithromycin, clarithromycin, dirithromycin*), linkomisin (klindamisin), tetrasiklin, aminoglikosida .

4. Penghambatan terhadap sintesis asam nukleat.

Mekanisme kerja antimikroba melalui penghambatan terhadap sintesis asam nukleat misalnya *quinolon, pyrimethamin, rifampin, sulfonamid, trimethropin, trimethrexat* (Brooks, Butel, Morse, 2001, h. 224-228).

2.4.3 Resistensi Mikroba terhadap Antimikroba

Terdapat beberapa mekanisme yang menyebabkan suatu bakteri menjadi resisten terhadap antimikroba, diantaranya adalah:

1. Mikroba memproduksi enzim dan merusak obat yang aktif.
2. Mikroba mengubah permeabilitas membran selnya terhadap obat.
3. Mikroba merubah struktur target terhadap obat.
4. Mikroba mengembangkan jalur metabolisme baru dan menghindari jalur yang biasa dihambat oleh obat.
5. Mikroba mengembangkan enzim baru yang masih dapat berfungsi untuk metaboliknya, tetapi sedikit dipengaruhi oleh obat (Brooks, Butel, Morse, 2001, h. 229).

2.4.4 Pengendalian Resistensi Antimikroba

Munculnya resistensi antimikroba pada infeksi dapat dikurangi dengan cara berikut:

1. Mempertahankan kadar yang cukup di dalam jaringan untuk menghambat populasi asli dan mutasi tingkat rendah.
2. Memberi dua obat yang tidak memberi resistensi silang secara simultan, masing-masing menunda timbulnya mutan resisten terhadap obat yang lain.
3. Mencegah penampakan mikroorganisme terhadap obat dengan membatasi penggunaannya, khususnya di rumah sakit (Brooks, Butel, Morse, 2001, h. 231).

2.4.5 Uji Antibiotik Antimikroba

Menurut Pratiwi (2008, h. 188) uji antibiotik antimikroba dilakukan dengan mengukur respon pemeriksaan antimikroba adalah untuk menentukan potensi dan kontrol kualitas selama proses produksi senyawa antimikroba di pabrik, untuk menentukan kerja obat pada hewan atau manusia, dan untuk memonitor dan mengontrol kemoterapi obat. Kegunaan uji antimikroba adalah diperolehnya suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien. Terdapat beberapa metode uji antimikroba diantaranya:

1. Metode Difusi

a. Metode *Disc Diffusion* (tes Kirby-Bauer)

Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar. Prinsip dari metode difusi Agar/cakram adalah obat dijenuhkan ke dalam kertas saring (cakram kertas) yang kemudian ditanam pada media perbenihan Agar padat yang telah dicampur dengan mikroba uji, kemudian diinkubasi pada

suhu 37°C selama 18-24 jam. Selanjutnya amati adanya area (zona) jernih disekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba (Brooks, Butel, Morse, 2001, h. 235).

Pada metode *Disc Diffusion* (tes *Kirby-Bauer*) dilakukan dengan cara membandingkan diameter dari area jernih (zona hambat) disekitar cakram dengan tabel standar yang dibuat oleh NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standard*). Dengan tabel ini dapat diketahui kriteria sensitif, intermediet, dan resisten (Dzen et al. 2003 dikutip dari Siregar, 2007).

b. E-test

Metode E-test digunakan untuk mengestimasi MIC (Minimum Inhibitory Concentration) atau KHM (Kadar Hambat Minimum), yaitu konsentrasi minimal suatu agen antimikroba untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme (Pratiwi, 2008, h. 189).

Pada metode ini digunakan strip plastik yang mengandung agen antimikroba dari kadar terendah hingga tertinggi dan diletakkan pada permukaan media Agar yang telah ditanami mikroorganisme. Pengamatan dilakukan pada area jernih yang ditimbulkan yang dapat menunjukkan kadar agen antimikroba yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media Agar (Pratiwi, 2008, h. 189).

c. *Ditch-plate Technique*

Pada metode ini sampel uji berupa agen antimikroba yang diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong

media Agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan mikroba uji digoreskan ke arah parit yang berisi agen antimikroba (Pratiwi, 2008, h. 189).

d. *Cup-plate Technique*

Metode ini serupa dengan metode *disc diffusion*, dimana dibuat sumur pada media Agar yang telah ditanam dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji (Pratiwi, 2008, h. 189).

e. *Gradient-plate Technique*

Pada metode ini, konsentrasi agen antimikroba pada media Agar secara teoritis bervariasi dari 0 hingga maksimal. Media Agar dicairkan dan larutan uji ditambahkan. Campuran kemudian dituang ke dalam cawan petri dan diletakkan dalam posisi miring. Nutrisi kedua selanjutnya dituang di atasnya. *Plate* diinkubasi selama 24 jam untuk memungkinkan agen antimikroba berdifusi dan permukaan media mengering. Mikroba digoreskan pada arah mulai dari konsentrasi tinggi ke rendah (Pratiwi, 2008, h. 189).

Metode difusi agar dipengaruhi oleh beberapa faktor fisik dan kimia, selain faktor antara obat dan organisme (misalnya sifat medium dan kemampuan difusi, ukuran molekular, dan stabilitas obat) (Brooks, Butel, Morse, 2001, h. 235).

2. Metode Dilusi

Metode dilusi dibedakan menjadi dua yaitu :

a. Dilusi Cair (*Broth Dilution Test/Serial Dilution*)

Metode ini digunakan untuk mengukur MIC (*Minimum Inhibitory Concentration* atau kadar hambat minimum, KHM),

dan MBC (*Minimum Bactericidal Concentration* atau Kadar Bunuh Minimum, KBM). Cara yang digunakan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba uji. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terendah akan terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media padat tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media padat yang tetap terlihat jernih ditetapkan sebagai KBM (Pratiwi, 2008, h. 190).

b. Metode Dilusi Padat (*Solid Dilution Test*)

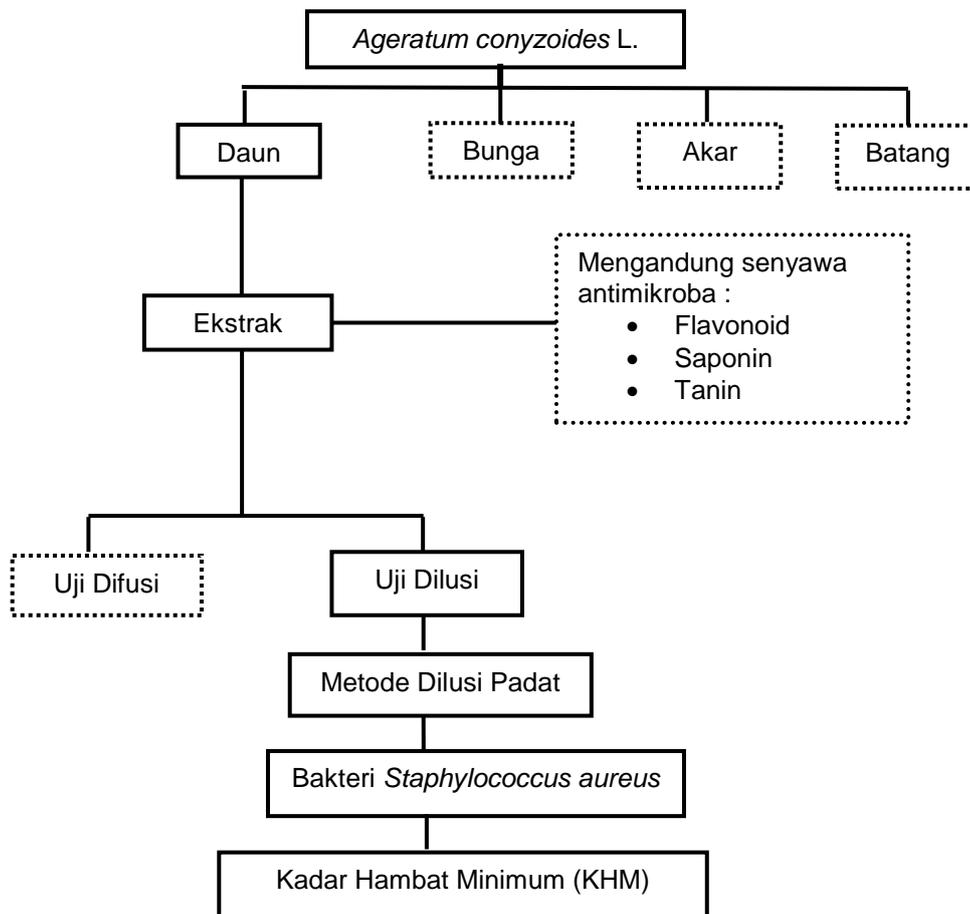
Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat. Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi, 2008, h. 191)

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Kerangka Konseptual

Kerangka konseptual merupakan suatu uraian dan visualisasi hubungan atau kaitan antara konsep satu terhadap konsep yang lainnya, atau antara variabel yang satu dengan variabel yang lainnya dari masalah yang ingin diteliti (Notoatmodjo 2010, h. 83).



Keterangan :

————— : Variabel yang diteliti

..... : Variabel yang tidak diteliti

Gambar 3.1 Kerangka konseptual tentang uji efektivitas antimikroba ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual

Tumbuhan babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) merupakan sejenis tumbuhan yang memiliki akar, daun, batang dan bunga. Pada bagian daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) kemudian diekstrak sehingga didapatkan ekstrak yang mengandung senyawa antimikroba diantaranya saponin, flavonoid dan tanin. Pengujian efektivitas antimikroba daun babadotan dilakukan menggunakan uji dilusi metode dilusi padat untuk mengetahui Kadar Hambat Minimum (KHM) antimikroba dari ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

3.3 Hipotesis

Hipotesis adalah jawaban sementara dari pertanyaan penelitian (Nursalam, 2008). Hipotesis dalam penelitian ini adalah:

H₁ = Antimikroba ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) memiliki efektivitas yang signifikan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

BAB IV

METODE PENELITIAN

Metode penelitian sebagai suatu cara untuk memperoleh kebenaran ilmu pengetahuan atau pemecahan suatu masalah (Notoatminodjo 2010). Pada bab ini akan diuraikan hal-hal yang meliputi :

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

4.1.1 Waktu Penelitian

Waktu penelitian ini dilakukan (mulai dari penyusunan proposal sampai dengan penyusunan laporan akhir) pada bulan Januari sampai dengan bulan Juli 2016.

4.1.2 Tempat Penelitian

Tempat pelaksanaan penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Program Studi D-III Analis Kesehatan STIKes ICMe Jombang Jalan Kemuning No. 57 A Candimulyo, Kabupaten Jombang, Provinsi Jawa Timur.

4.2 Desain Penelitian

Desain penelitian merupakan sesuatu yang sangat penting dalam penelitian. Desain penelitian digunakan sebagai petunjuk dalam merencanakan dan melaksanakan penelitian untuk mencapai suatu tujuan atau menjawab pertanyaan penelitian (Nursalam, 2011). Penelitian yang digunakan adalah eksperimental murni dengan *post test control group design*.

4.3 Populasi Penelitian dan Sampel

4.3.1 Populasi

Populasi adalah keseluruhan objek penelitian atau objek yang akan diteliti (Notoatmodjo 2010, h. 115). Pada penelitian ini populasinya adalah bakteri *Staphylococcus aureus*.

4.3.2 Sampel

Sampel adalah objek yang diteliti dan dianggap mewakili seluruh populasi (Notoatmodjo 2010, h. 115). Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah bakteri *Staphylococcus aureus* yang didapatkan dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya.

4.4 Instrumen Penelitian dan Cara Penelitian

4.4.1 Instrumen Penelitian

Instrumen penelitian adalah alat atau fasilitas yang akan digunakan oleh peneliti dalam mengumpulkan data agar pekerjaannya lebih mudah dan hasilnya lebih baik (cermat, lengkap dan sistematis) sehingga lebih mudah diolah (Saryono, 2011). Instrumen yang digunakan untuk uji efektivitas antimikroba ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* adalah sebagai berikut:

A. Alat yang digunakan:

- | | |
|--------------------|-------------------|
| 1. Autoclave | 8. Erlenmeyer |
| 2. Batang pengaduk | 9. Gelas beaker |
| 3. Blue tip | 10. Hot plate |
| 4. Cawan petri | 11. Inkubator |
| 5. Centrifuge | 12. Kertas koran |
| 6. Colony Counter | 13. Kertas saring |
| 7. Corong gelas | whattman |

14. Kompor gas
15. Kuvet
16. Mikropipet 1000 μL
17. *Mortal dan pastle*
18. Neraca analitik
19. Ose
20. Oven
21. Pembakar spiritus
22. Rak tabung reaksi
23. Refrigerator
24. Spektrofotometer
25. Tabung reaksi
26. Termometer

B. Bahan yang digunakan:

1. Aluminium foil
2. Amoxicilin 25 µg/ml
3. Aquades steril
4. Daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.)
5. Etanol 96%
6. Handscoon
7. Isolat bakteri *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya.
8. Kapas
9. Kertas label
10. Masker
11. Media Agar Miring *Nutrient Agar*
12. Media padat *Muller Hilton Agar* (MHA)
13. NaCl 0,9%

4.4.2 Cara Penelitian

A. Membuat Ekstrak Daun Babadotan (*Ageratum conyzoides* L.)

1. Membersihkan daun babadotan dan menimbang 2 kg.
2. Memotong daun babadotan.
3. Mengeringkan selama kurang lebih 10 hari kemudian menumbuk dan menimbang berat kering sebanyak 15 gram.
4. Melakukan maserasi pada serbuk daun babadotan dengan menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 1000 ml di dalam gelas kimia selama 3 hari.
5. Mengaduk dengan batang pengaduk.
6. Mendinginkan selama 3 hari dalam keadaan tertutup.

7. Menyaring hasil rendaman dengan kertas saring dan corong gelas.
8. Memasukkan ke beaker glass.
9. Menguapkan di atas kompor gas hingga volumenya berkurang dan agak mengental (suhu $<78^{\circ}\text{C}$).
10. Mengendapkan hasil ekstraksi dengan menggunakan centrifuge kecepatan 3000 rpm selama 10 menit.
11. Mengambil ekstrak daun babadotan yang mengental dari hasil proses sentrifugasi.
12. Menghitung volume ekstrak murni yang didapatkan.

B. Sterilisasi

1. Memasukkan *blue tip* kedalam gelas beaker yang berisi kapas, menutup dengan aluminium foil dan mensterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.
2. Mengisi erlenmeyer dengan 150 ml aquadest, menutup mulut erlenmeyer dengan kapas yang dipadatkan, membungkus dengan aluminium foil dan mensterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.
3. Membungkus tabung reaksi, batang pengaduk, dan cawan petri dengan aluminium foil/kertas koran kemudian mensterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.

C. Membuat Media Padat *Muller Hilton Agar*

1. Menimbang *Muller Hilton Agar* (MHA) serbuk sebanyak 4,3 gram.
2. Melarutkan dengan 126 ml aquades di dalam beaker glass.
3. Menghomogenkan campuran.

4. Memanaskan di atas *hot plate* dan mengaduk hingga mendidih.
5. Menuang ke dalam erlenmeyer.
6. Menutup mulut erlenmeyer dengan kapas dan aluminium foil.
7. Mensterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.
8. Membiarkan dingin dan memasukkan ke dalam refrigerator untuk disimpan.

D. Pembuatan Suspensi Bakteri

1. Meremajakan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan cara menggoreskan bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan ose ke media agar miring *Nutrient Agar* dan menginkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.
2. Mengambil 7 mata ose bakteri *Staphylococcus aureus* dari media *Agar miring Nutrient Agar*. Menyuspensikan bakteri *Staphylococcus aureus* ke dalam 14 ml larutan NaCl 0,9% yang setara dengan konsentrasi bakteri $\pm 1 \times 10^8$ bakteri/ml.

E. Menguji Efektivitas Antimikroba Metode Dilusi Padat

1. Mencairkan media padat *Muler Hilton Agar* di atas hot plate.
2. Mempersiapkan 16 cawan petri dan memberi label pada masing-masing cawan petri.
3. Membuat suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 1×10^8 bakteri/ml.
4. Menyiapkan larutan uji ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) dengan konsentrasi 3%, 6%, 12%, dan 24% dengan cara:

- a. Membuat 8 ml konsentrasi larutan uji ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) 30% dengan cara mengisi tabung reaksi dengan ekstrak kental daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) sebanyak 2,4 ml dan aquades sebanyak 5,6 ml. Selanjutnya mengencerkan konsentrasi 30% ini menjadi konsentrasi 3%, 6%, 12% dan 24%.
 - b. Konsentrasi 3% dengan mengencerkan 0,4 ml ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) 30% dan 3,6 ml aquades.
 - c. Konsentrasi 6% dengan mengencerkan 0,8 ml ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) 30% dan 3,2 ml aquades.
 - d. Konsentrasi 12% dengan mengencerkan 1,2 ml ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) 30% dan 2,8 ml aquades.
 - e. Konsentrasi 24% dengan mengencerkan 3,2 ml ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) 30% dan 0,8 ml aquades.
 - f. Kontrol negatif hanya berisi media *Muller Hilton Agar* (MHA) dan bakteri.
5. Memasukkan 1 ml masing-masing konsentrasi ekstrak daun babadotan ke dalam cawan petri steril.
 6. Menambahkan 9 ml media *Muller Hilton Agar* (MHA) cair yang masih hangat dengan suhu 40-50⁰C ke dalam masing-masing cawan petri tersebut.

7. Menambahkan 1 ml suspensi bakteri dengan konsentrasi 1×10^8 bakteri/ml.
8. Menghomogenkan semua campuran dengan cara menggoyangkan cawan petri.
9. Menginkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C .
10. Menghitung jumlah koloni bakteri dengan menggunakan *colony counter*.
11. Menentukan KHM (Kadar Hambat Minimum) dengan melihat konsentrasi ekstrak terendah yang tidak ditumbuhi bakteri pada cawan petri.
12. Melakukan pengulangan pada masing-masing kelompok perlakuan dan kontrol negatif sebanyak 3 kali pengulangan. Perhitungan jumlah ulangan pada kelompok perlakuan dihitung dengan menggunakan rumus estimasi pengulangan (Loekito, 1998) :

$$p(n-1) \geq 15$$

$$6(n-1) \geq 15$$

$$6n-6 \geq 15$$

$$6n \geq 21$$

$$n \geq 21/6$$

$$n \geq 3,1 \text{ dibulatkan menjadi } 3$$

Jadi pada penelitian ini dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali.

keterangan:

n = jumlah pengulangan.

p = jumlah perlakuan (konsentrasi ekstrak daun babadotan dan kontrol) tiap pengulangan.

4.5 Teknik Pengolahan Data dan Analisa Data

4.5.1 Teknik Pengolahan Data

Setelah data terkumpul, maka dilakukan pengolahan data melalui tahapan *Editing*, *Coding*, *Entryng* dan *Tabulating*.

a. *Editing*

Editing yaitu upaya untuk memeriksa kembali kebenaran data yang diperoleh atau dikumpulkan. Seperti kelengkapan dan kesempurnaan data (Hidayat, 2012).

b. *Coding*

Adalah kegiatan mengubah data berbentuk kalimat atau huruf menjadi data angka atau bilangan (Notoatmodjo 2010, h. 177).

Pada penelitian ini, peneliti memberikan kode sebagai berikut:

A. Ekstrak Daun Babadotan

Ekstrak Daun Babadotan 3%	kode EB1
Ekstrak Daun Babadotan 6%	kode EB2
Ekstrak Daun Babadotan 12%	kode EB3
Ekstrak Daun Babadotan 24%	kode EB4
Kontrol Negatif	kode EB5

B. Pengulangan Uji

Ulangan ke-1	kode U1
Ulangan ke-2	kode U2
Ulangan ke-3	kode U3

C. Hasil

Negatif	kode N
Positif	kode P

c. *Entryng*

Entryng adalah proses memasukkan data ke dalam komputer sebelum pengolahan (Notoatmodjo, 2010).

d. *Tabulating*

Tabulating (pentabulasian) meliputi pengelompokan data sesuai dengan tujuan penelitian kemudian dimasukkan ke dalam tabel-tabel yang telah ditentukan yang mana sesuai dengan tujuan penelitian atau yang diinginkan oleh peneliti (Notoatmodjo, 2010). Dalam penelitian ini data disajikan dalam bentuk tabel yang menggambarkan hasil uji efektivitas antimikroba ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

4.5.2 Analisa data

Prosedur analisis data merupakan proses memilih dari beberapa sumber maupun permasalahan yang sesuai dengan penelitian yang dilakukan (Notoatmodjo, 2010).

1. Analisis *Univariate*

Analisis *univariate* bertujuan untuk menjelaskan dan mendeskripsikan karakteristik setiap variabel penelitian. Bentuk analisis *univariate* tergantung dari jenis datanya. Pada umumnya dalam analisis ini hanya menghasilkan distribusi frekuensi dan presentase dari tiap variabel (Notoatmodjo, 2010). Analisa *univariate* pada penelitian ini yaitu untuk mengidentifikasi efektivitas antimikroba ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

2. Analisis *Bivariate*

Cara analisis data yang digunakan adalah analisis *bivariate* yang dilakukan terhadap dua variabel yang diduga berhubungan atau berkorelasi (Notoatmodjo, 2010). Analisa *bivariate* pada penelitian ini adalah untuk mencari hubungan antara variabel dependen dan independen, dimana adanya perbedaan nilai KHM (Kadar Hambat Minimum) dari beberapa konsentrasi ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* dianalisis menggunakan komputer program SPSS 16 dengan menggunakan uji statistik *One-way ANOVA (Analysis of Variance)* yang digunakan untuk menganalisa data.

Metode *One-way ANOVA* dapat digunakan jika data memenuhi syarat-syarat uji parametrik sebagai berikut :

- 1 Memiliki satu variabel tergantung (simbol X) yang datanya bergejala interval/rasio.
- 2 Satu variabel bebas (simbol A) datanya bergejala nominal/ordinal.
- 3 Hanya menguji satu variabel independen saja.

4.6 Definisi Operasional Variabel

4.6.1 Variabel

Variabel adalah sesuatu yang digunakan sebagai ciri, sifat, atau ukuran yang dimiliki atau didapatkan oleh satuan penelitian tentang sesuatu konsep pengertian tertentu (Notoatmodjo 2010, h. 103). Variabel pada penelitian ini adalah uji efektifitas antimikroba ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* adalah:

1. Variabel Independen

Variabel independen adalah suatu variabel yang menjadi sebab perubahan atau timbulnya variabel dependen (Hidayat, 2012). Variabel bebas pada penelitian ini adalah beberapa konsentrasi ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) bertingkat yang sudah ditentukan. Konsentrasi yang digunakan, yaitu: 3%, 6%, 12%, dan 24%.

2. Variabel Dependen

Variabel dependen adalah variabel yang dipengaruhi atau menjadi akibat karena variabel independen (Hidayat, 2012). Variabel dependen dalam hal ini adalah isolat bakteri *Staphylococcus aureus*.

3. Variabel Penghubung/Perantara

Variabel yang menjadi penghubung antara variabel independen dan variabel dependen. Variabel penghubung dalam hal ini adalah zat flavonoid, tanin dan saponin.

4.6.2 Definisi Operasional Variabel

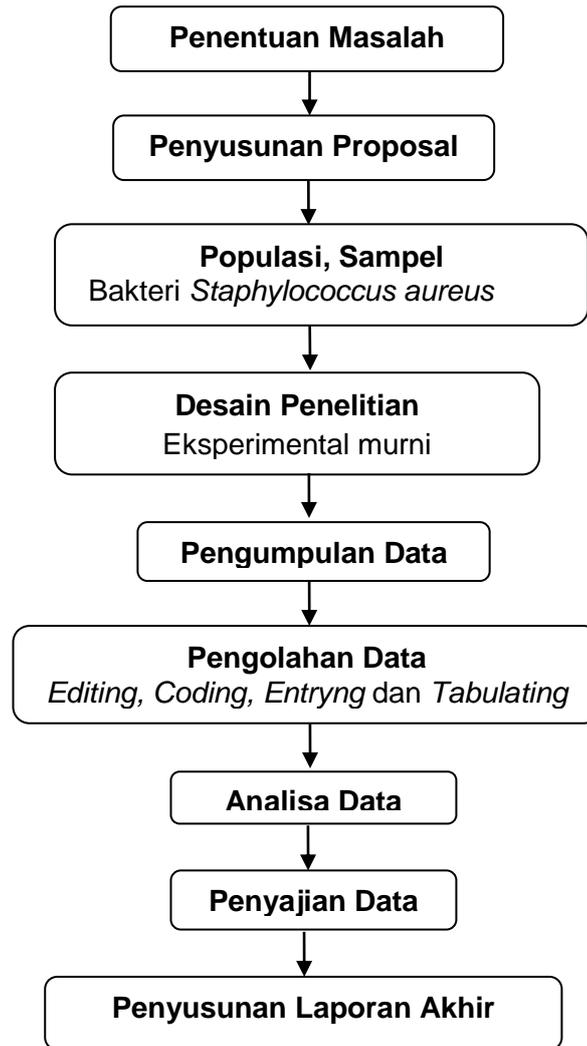
Definisi operasional variabel adalah uraian tentang batasan variabel yang dimaksud atau tentang apa yang diukur oleh variabel yang bersangkutan (Notoatmodjo 2010, h. 112). Definisi operasional variabel pada penelitian ini dapat digambarkan pada tabel 4.1

Tabel 4.1 Definisi Operasional uji efektivitas antimikroba ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

Variabel	Definisi Operasional	Parameter	Kategori	Skala Data
Konsentrasi ekstrak daun babadotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.).	Konsentrasi ekstrak daun babadotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.) adalah ekstrak daun babadotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.) yang diencerkan menggunakan aquades steril dan dinyatakan dalam %.	Perhitungan jumlah koloni bakteri menggunakan <i>colony counter</i> .	A. Positif: jumlah koloni bakteri yang dihitung \leq jumlah koloni pada kontrol negatif. B. Negatif: jumlah koloni bakteri yang dihitung \geq jumlah koloni pada kontrol negatif.	Ordinal
Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .	Jumlah bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> adalah jumlah bakteri yang dihitung dengan metode perhitungan koloni setelah diinkubasi bersama dengan ekstrak yang diuji dalam media <i>Muller Hilton Agar</i> .	Perhitungan jumlah koloni bakteri menggunakan <i>colony counter</i> .	A. Positif: jumlah koloni bakteri yang dihitung \leq jumlah koloni pada kontrol negatif. B. Negatif: jumlah koloni bakteri yang dihitung \geq jumlah koloni pada kontrol negatif.	Rasio

4.7 Kerangka Kerja (*Frame Work*)

Kerangka kerja merupakan langkah-langkah yang akan dilakukan dalam penelitian yang berbentuk kerangka atau alur penelitian, mulai dari desain hingga analisis datanya (Hidayat, 2012). Kerangka kerja penelitian tentang uji efektivitas antimikroba ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* sebagai berikut :



Gambar 4.1 Kerangka kerja penelitian tentang uji efektivitas antimikroba ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Gambaran Lokasi Penelitian

Laboratorium Mikrobiologi merupakan salah satu fasilitas yang dimiliki oleh program studi D-III Analis Kesehatan STIKes ICMe Jombang, yang berfungsi sebagai sarana penunjang pembelajaran dalam praktikum tentang bakteri, parasit dan jamur. Bahan yang digunakan dalam praktikum di Laboratorium Mikrobiologi khususnya untuk pemeriksaan bakteriologi yaitu sampel darah, urine, feces, sputum, nanah, dan lain-lain. Ruangan Laboratorium Mikrobiologi dilengkapi AC sehingga suhu ruangan tidak terlalu mempengaruhi kondisi sampel, selain itu peralatan dan reagen yang ada cukup baik dan memadai sehingga pembelajaran pemeriksaan di laboratorium ini dapat sesuai dengan standart laboratorium di lapangan.

5.2 Data Hasil Penelitian

5.2.1 Identifikasi *Staphylococcus aureus*

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini berupa satu isolat *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari *stock culture* milik Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya. Isolat bakteri diidentifikasi secara mikroskopis dengan pengecatan sederhana yaitu pewarnaan Gram, kemudian *distreaking* ulang di media *Nutrient Agar* dan diinkubasi di inkubator selama 24 jam pada suhu 37⁰C. Hasil pewarnaan Gram dan pengamatan di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000x menunjukkan gambaran sel bakteri berbentuk bulat (*coccus*) dan berwarna ungu (Gram positif). *Staphylococcus aureus* membentuk suatu kumpulan yang terdiri dari kurang lebih 8 *coccus* yang menyerupai buah anggur. Pewarnaan gram hanya

digunakan untuk mengetahui sifat bakteri tersebut apakah bersifat gram positif atau gram negatif yang ditentukan berdasarkan warna yang dihasilkan setelah pengecatan dan untuk mengetahui morfologi bakteri yang meliputi bentuk *coccus*, basil atau spiral. Secara makroskopis, koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang tumbuh di media *Muller Hilton Agar* (MHA) yaitu berwarna kuning hampir menyerupai susu, berbentuk bulat, berukuran kecil hingga sedang, tepi halus, dan elevasi cembung. Hasil identifikasi bakteri dapat dilihat pada Lampiran 5.

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat berdiameter 1 μm yang tersusun dalam bentuk rantai tidak teratur. *Staphylococcus aureus* bersifat fakultatif anaerob, non motil (tidak mempunyai kemampuan untuk berpindah karena tidak memiliki flagel) dan tidak membentuk spora. *Staphylococcus aureus* hidup bebas di lingkungan dan membentuk kumpulan yang teratur terdiri dari empat atau delapan *coccus* seperti buah anggur. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25°C). Koloni berwarna abu-abu hingga kuning emas, berbentuk bulat, halus, menonjol, dan berkilau (Brooks, Butel, Morse, 2001, h. 317).

5.2.2 Pembuatan Ekstrak Daun Babadotan (*Ageratum conyzoides* L.)

Telah diketahui sebelumnya bahwa daun dan bunga babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) mengandung saponin, minyak atsiri, flavonoid dan polifenol (Kementerian Negara Riset dan Teknologi RI, 2011). Saponin, tanin dan flavonoid inilah yang digunakan sebagai antimikroba alami. Daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) yang

digunakan pada penelitian ini berasal dari daerah Desa Drokilo, Kecamatan Kedungadem, Kabupaten Bojonegoro, Provinsi Jawa Timur.

Pembuatan ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) dimulai dari pengambilan daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) yang masih muda (± 4 helai daun di bawah pucuk tanaman sebab daun yang masih muda ini memiliki kandungan zat antimikroba yaitu flavonoid, saponin dan tanin yang lebih banyak dibandingkan daun yang sudah tua. Daun ditimbang dan diperoleh berat sebanyak 2 kg kemudian dikeringkan pada suhu kamar $\pm 25^{\circ}\text{C}$. Pengeringan daun dilakukan di suhu kamar agar kandungan zat antimikroba tersebut tidak rusak akibat pemanasan sinar matahari. Daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) yang sudah kering kemudian ditumbuk dan ditimbang berat kering untuk mendapatkan ekstrak. Serbuk daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) digunakan untuk meningkatkan luas permukaan sampel sehingga pelarut lebih mudah masuk ke dalam sel dan menarik komponen aktif yang larut untuk keluar dari dalam sel (Atikah, 2013). Serbuk babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) ditimbang dan diperoleh berat kering sebanyak 15 gram.

Serbuk babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) kemudian dimaserasi selama 3 hari dengan sekali pengadukan menggunakan pelarut etanol 96% dengan volume 1000 ml. Proses maserasi harus diletakkan pada wadah yang tertutup agar pelarut tidak mudah menguap. Prinsip maserasi adalah ekstraksi zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam serbuk dalam pelarut yang sesuai selama beberapa hari pada temperatur kamar yang terlindung dari cahaya, pelarut akan masuk ke dalam sel tanaman melewati dinding sel. Isi sel

akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh pelarut dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut akan berulang sampai terjadi keseimbangan antara larutan di dalam sel dan larutan di luar sel (Ansel, 1989 dikutip dari Natanel, 2014). Penggunaan pelarut etanol 96% yang bersifat polar untuk maserasi dimaksudkan agar zat-zat antimikroba yang dibutuhkan (flavonoid, saponin dan tanin) yang bersifat polar akan tertarik sempurna oleh pelarut yang bersifat polar. Hasil maserasi kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring agar ampas sisa maserasi tidak dapat lolos melalui kertas saring dan tidak bercampur dengan ekstrak.

Jumlah ekstrak yang didapatkan yaitu 780 ml dan kemudian diuapkan di atas penangas dengan suhu sistem yaitu 78°C. Jika suhu melebihi 78°C maka zat antimikroba yang ditarik oleh pelarut tersebut akan rusak akibat pemanasan. Proses penguapan ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) dilakukan dengan tujuan pelarut yang digunakan menguap. Ekstrak kemudian dipekatkan dengan menggunakan *centrifuge* dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Bagian ekstrak yang mengendap di dalam tabung kemudian diambil dan dimasukkan ke cawan petri. Didapatkan volume ekstrak kental daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) sebanyak 4,6 ml. Proses ekstraksi telah selesai dan kemudian melakukan uji organoleptis pada ekstrak kental daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.). Proses dan hasil ekstraksi dapat dilihat pada lampiran 6.

Ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) berwarna hijau kehitaman. Namun, pada konsentrasi yang digunakan (3%, 6%, 12% dan 24%), sebagai hasil penenceran dari konsentrasi 30% menyebabkan warna campuran ekstrak menjadi relatif lebih jernih.

Tabel 5.1 Tabel Pengamatan Pembuatan Ekstrak Daun Babadotan (*Ageratum conyzoides* L.)

No	Pengamatan	Hasil
1	Metode ekstraksi	Maserasi
2	Bobot daun segar	2 kilogram
3	Bobot sebelum diekstraksi	15 gram
4	Bobot ekstrak kental	4,6 ml
5	Jumlah cairan penyari (etanol 96%)	1000 ml
6	Jumlah ekstrak cair	780 ml

Tabel 5.2 Hasil Uji Organoleptis Ekstrak Daun Babadotan (*Ageratum conyzoides* L.)

Parameter	Hasil Pengamatan
Bentuk Ekstrak	Kental
Warna	Hijau Kehitaman
Bau	Khas Daun Babadotan

5.2.3 Data Hasil Uji Efektivitas Antimikroba Metode Dilusi Padat

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui sensitivitas ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) sebagai antimikroba terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* dan mengetahui seberapa besar pengaruh pemberian ekstrak daun babadotan terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode dilusi padat. Metode ini digunakan untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bunuh Minimum) dari antimikroba. Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar berbeda yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair maupun padat (Brooks, Butel dan Morse, 2001). Kadar Hambat Minimum (KHM) dari penelitian ini dapat ditentukan dengan melakukan pengamatan secara kuantitatif dengan cara menghitung jumlah koloni pada

masing-masing konsentrasi ekstrak dan membandingkannya dengan jumlah koloni yang tumbuh pada kontrol negatif.

Penelitian uji efektivitas antimikroba ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* ini dikerjakan di Laboratorium Mikrobiologi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Insan Cendekia Medika Jombang pada tanggal 10-14 Mei 2016. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan 4 macam konsentrasi yang berbeda dan 1 kontrol negatif dengan total 3 kali pengulangan pada masing-masing perlakuan. Konsentrasi ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) yang digunakan yaitu konsentrasi 3%, 9%, 12% dan 24% dengan kontrol negatif tanpa menggunakan antibiotik maupun ekstrak.

Pemberian ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan adanya pengaruh penurunan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. Semakin besar konsentrasi yang digunakan maka semakin sedikit jumlah koloni yang tumbuh pada media *Muller Hilton Agar*. Hasil perhitungan jumlah koloni setelah ditambahkan ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) dapat dilihat pada tabel 5.3.

Tabel 5.3 Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* pada masing-masing konsentrasi dan kontrol

No	Sampel	Pengulangan	Jumlah Koloni (koloni)	Rata-Rata (koloni)	Keterangan
1	EB1	U1	780	792	N
		U2	792		
		U3	804		
2	EB2	U1	596	566	P
		U2	540		
		U3	560		
3	EB3	U1	308	276	P
		U2	252		
		U3	268		
4	EB4	U1	4	5	P
		U2	3		
		U3	8		
5	EB5	U1	748	732	-
		U2	716		
		U3	732		

Keterangan :

EB1 : Ekstrak Daun Babadotan 3%

EB2 : Ekstrak Daun Babadotan 6%

EB3 : Ekstrak Daun Babadotan 12%

EB4 : Ekstrak Daun Babadotan 24%

EB5 : Kontrol Negatif

U1 : Pengulangan ke-1

U2 : Pengulangan ke-2

U3 : Pengulangan ke-3

N : Negatif

P : Positif

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang paling banyak terdapat pada perlakuan dengan menambahkan konsentrasi ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) 3% dikarenakan pada konsentrasi ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) 3% masih mengandung

zat antimikroba yang sangat rendah sehingga belum mampu menghambat pertumbuhan koloni bakteri. Perhitungan jumlah koloni ini dilakukan dengan menggunakan alat *Colony Counter* dan jumlah koloni yang didapatkan dibandingkan dengan jumlah koloni dari kontrol negatif.

Pada penelitian yang menggunakan antimikroba ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) menunjukkan semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka daya hambat terhadap pertumbuhan koloni bakteri juga akan meningkat. Hal ini terjadi karena semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka akan semakin tinggi pula senyawa antimikroba yang terkandung dalam ekstrak. Pada pemberian ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) dengan konsentrasi 3% dibandingkan dengan jumlah koloni yang tumbuh pada kontrol negatif menunjukkan bahwa jumlah koloni bakteri yang tumbuh lebih banyak karena kandungan zat antimikroba yang rendah pada ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) 3% sehingga bakteri menggunakan kandungan karbohidrat yang terdapat pada ekstrak sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhannya. Sejumlah organisme membutuhkan sejumlah karbon dalam bentuk senyawa karbon dioksida, tetapi kebanyakan diantaranya juga membutuhkan beberapa senyawa karbon organik, seperti gula dan karbohidrat (Lud Waluyo, 2004 dikutip dari Krisno, 2011).

Penggunaan ekstrak daun baun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) 3% belum memiliki efek penurunan jumlah koloni bakteri sehingga penggunaan ekstrak daun babadotan (*Ageratum*

conyzoides L.) 3% belum memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan dinyatakan negatif.

Perlakuan lain yang menggunakan antimikroba ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) dengan konsentrasi 6%, 12%, dan 24% apabila dibandingkan dengan jumlah koloni yang tumbuh pada kontrol negatif akan terlihat adanya penurunan jumlah koloni bakteri pada konsentrasi tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa sudah terdapat aktivitas antimikroba ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan dinyatakan positif mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Pada hasil penelitian ini telah diketahui bahwa dengan konsentrasi ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) 6% menggunakan pelarut etanol 96% sudah mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, terlihat ketika jumlah koloni pada pemberian ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) konsentrasi 6% menunjukkan adanya penurunan jumlah koloni bakteri apabila dibandingkan dengan jumlah koloni bakteri pada kontrol negatif. Data dari penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Ariesti, Yuswantina, dan Pramita (2015) juga menyatakan adanya aktivitas antimikroba ekstrak heksana daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dimulai pada konsentrasi 9%.

Perbedaan jenis pelarut pada penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan konsentrasi daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dimana dengan menggunakan pelarut etanol 96% didapatkan konsentrasi 6% sudah mulai mampu menghambat

pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* sedangkan dengan menggunakan pelarut heksana didapatkan konsentrasi 9% mulai mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Urutan pelarut yang paling sering digunakan dalam proses ekstraksi berdasarkan tingkat kepolarannya dimulai dari pelarut nonpolar (misalnya n-heksana), semipolar (diklorometana), kemudian polar (etanol dan metanol). Pemilihan pelarut dan metode ekstraksi akan mempengaruhi hasil kandungan senyawa metabolit sekunder yang dapat terekstraksi. Pemilihan pelarut ekstraksi umumnya menggunakan prinsip *like dissolves like*, senyawa yang nonpolar akan larut dalam pelarut nonpolar sedangkan senyawa yang polar akan larut pada pelarut polar (Siedel, 2008 dikutip dari Dewi, Astuti dan Warditianti, 2013).

Pelarut etanol 96% dinyatakan lebih efektif digunakan sebagai pelarut untuk bahan simplisia dari daun tanaman. Etanol 96% juga merupakan pelarut yang bersifat universal yang dapat melarutkan senyawa polar maupun nonpolar sehingga diharapkan dengan menggunakan pelarut etanol 96% zat aktif yang diperlukan dapat tertarik sepenuhnya. Sedangkan zat antimikroba pada ekstrak daun babadotan yaitu saponin, tanin dan flavonoid merupakan zat yang bersifat polar. Ketidakefektifan ekstrak heksana dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji diduga berkaitan dengan sifat heksana yang sangat tidak polar sehingga hanya sedikit komponen bioaktif yang larut di dalamnya (Naufalin, 2005 dikutip dari Nuraini, 2007).

Senyawa aktif antimikroba yang terkandung di dalam daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) yaitu saponin, tanin dan flavonoid memiliki manfaat untuk menghambat pertumbuhan bakteri

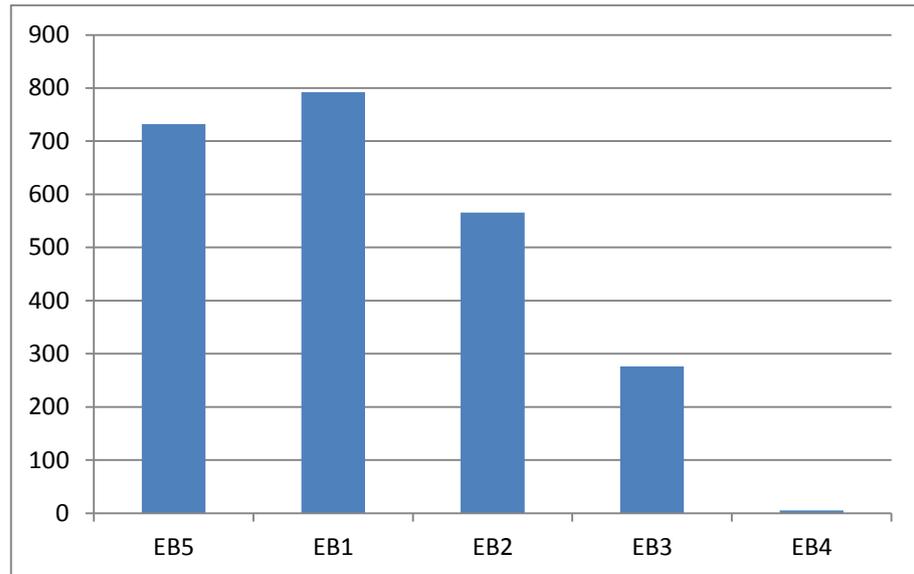
Staphylococcus aureus. Keberadaan senyawa tersebut menjadi faktor penting melalui mekanismenya terhadap bakteri. Senyawa flavonoid sebagai antibakteri membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat menyebabkan merusak sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Nuria, Faizatun dan Sumantri, 2009). Menurut Cushnie dan Lamb pada tahun 2005 (dikutip dari Sudirman, 2014) selain berperan pada inhibisi dan sintesis DNA-RNA dengan interkalasi atau ikatan hidrogen dengan penumpukan basa asam nukleat, flavonoid juga berperan dalam menghambat metabolisme energi karena untuk menyerap aktif berbagai metabolit dan untuk biosintesis makromolekul membutuhkan energi yang cukup. Mekanisme kerja tanin dalam menghambat bakteri dengan menginaktifkan adhesin sel mikroba (molekul yang menempel pada sel inang) yang terdapat pada permukaan sel dan enzim serta mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel (Ngajow M, Abidjulu J, dan Kamu V, 2013 dikutip dari Sudirman, 2014). Saponin diketahui mempunyai efek menghambat pertumbuhan mikroba secara *in vitro* melalui proses perusakan membran sel bakteri dengan cara berikatan dengan kompleks polisakarida pada dinding sel (Papadoupulou *et al.*, 1999 dikutip dari Siregar, 2010).

Dengan demikian, berdasarkan penilaian secara deskriptif terhadap rata-rata jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* pada media *Muller Hilton Agar* (MHA) pada masing-masing konsentrasi, maka dapat dikatakan bahwa pemberian perlakuan berupa berbagai konsentrasi ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) memberikan pengaruh sebagai antimikroba terhadap bakteri

Staphylococcus aureus. Efektivitas antimikroba ekstrak etanol daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dimulai pada konsentrasi ekstrak daun babadotan 6% terbukti dari mulai adanya penurunan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* pada pemberian ekstrak daun babadotan konsentrasi 6% jika dibandingkan dengan jumlah koloni pada kontrol negatif.

Kadar minimum yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri dikenal sebagai Kadar Hambat Minimum (KHM). Sedangkan kadar terendah dari suatu antimikroba yang dapat membunuh seluruh bakteri disebut Kadar Bunuh Minimum / KBM (Pelczar, 1988 dikutip dari Siregar, 2010). KHM (Kadar Hambat Minimum) pada penelitian ini terletak pada pemberian ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) 24% karena dapat diasumsikan bahwa pada konsentrasi diatas 24% merupakan KBM (Kadar Bunuh Minimum). Selain itu, jumlah koloni yang tumbuh dengan penambahan ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) 24% memiliki angka penurunan paling tinggi dibandingkan dengan kontrol negatif. Sedangkan dalam penentuan KBM (Kadar Bunuh Minimum) dapat dibuktikan berdasarkan kelipatan kekuatan zat antimikroba dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Adanya perbedaan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang tumbuh di media *Muller Hilton Agar* (MHA) pada setiap perlakuan secara keseluruhan dapat digambarkan dalam bentuk grafik seperti yang terlihat pada Gambar 5.1



Gambar 5.1 Grafik Rata-rata Jumlah Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus* dalam Kelompok Perlakuan Konsentrasi Ekstrak Daun Babadotan (*Ageratum conyzoides* L.)

Keterangan :

EB1 : Ekstrak Daun Babadotan 3%

EB2 : Ekstrak Daun Babadotan 6%

EB3 : Ekstrak Daun Babadotan 12%

EB4 : Ekstrak Daun Babadotan 24%

EB5 : Kontrol Negatif

5.3 Analisis Data

Data hasil penelitian akan dilakukan uji statistik parametrik *One-way ANOVA (Analysis of Variances)* untuk mengetahui adanya perbedaan efektivitas tiap kelompok perlakuan konsentrasi ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus*. Syarat untuk melakukan uji statistik *One Way ANOVA (Analysis of Variances)* adalah data berdistribusi normal, data memiliki varians yang sama dan data berasal dari sampel *independent*.

Data pertama kali dilakukan uji normalitas dengan menggunakan *Shapiro-Wilk* atau *Kolmogorov-Smirnov*. Pada data ini menggunakan *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel kurang dari 50 sampel. Jika jumlah

sampel melebihi 50 sampel maka menggunakan *Kolmogorov-Smirnov*. Uji normalitas bertujuan untuk menguji apakah data bahan uji ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) konsentrasi 3%, 6%, 12%, 24% dan kontrol negatif menyebar (terdistribusi) secara normal atau tidak. Dari hasil uji *Shapiro-Wilk* didapatkan bahwa data terdistribusi normal ($p > 0,05$). Data ini menunjukkan bahwa salah satu syarat uji statistik *One Way ANOVA* (*Analysis of Variances*) telah terpenuhi. Hasil uji *Shapiro-Wilk* dapat dilihat pada lampiran 9.

Data kemudian diuji menggunakan uji *Levene Test*. Uji *Levene Test* digunakan untuk mengetahui apakah varians dari data yang kita miliki berdistribusi sama atau berbeda. Bila varians data diasumsikan sama maka uji *One Way ANOVA* dapat dilanjutkan, sebaliknya bila varians data diasumsikan tidak sama maka perlu penanganan lebih lanjut terhadap data yang kita miliki tersebut seperti melakukan konfirmasi data atau bahkan mengganti uji dengan uji non parametrik. Cara menginterpretasikan uji *Levene Test* ini adalah dengan melihat nilai signifikan (p). Bila nilai $p > 0,05$ maka varians datanya diasumsikan sama, namun bila nilai $p < 0,05$ maka varians datanya diasumsikan tidak sama. Dari hasil uji *Levene Test* didapatkan bahwa data diasumsikan sama ($p > 0,05$) dengan nilai $p = 0,138$. Hasil uji *Levene Test* dapat dilihat pada lampiran 9. Data ini menunjukkan bahwa uji statistik *One Way ANOVA* (*Analysis of Variances*) dapat dilakukan.

Tabel 5.4 Hasil Analisis *One Way ANOVA* (*Analysis of Variances*) Daya Hambat Ekstrak Daun Babadotan (*Ageratum conyzoides* L.)

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1305584.267	4	326396.067	798.295	.000
Within Groups	4088.667	10	408.867		
Total	1309672.933	14			

Tabel 5.4 menunjukkan uji *One Way ANOVA* didapatkan bahwa nilai signifikansi ($p=0,000$). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan ($p<0,05$) dari berbagai konsentrasi ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. Untuk mengetahui perbedaan rata-rata daya hambat masing-masing bahan uji maka dilanjutkan dengan uji *LSD (Least Significant Difference)* .

Tabel 5.5 Ringkasan Hasil Uji *Post-Hoc LSD (Least Significant Difference)* Jumlah Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus* antara tiap Perlakuan Konsentrasi Ekstrak Daun Babadotan (*Ageratum conyzoides* L.)

Perbandingan antar Kelompok Perlakuan		Perbedaan Rata-rata	Taraf Kepercayaan 95%		P
			Min.	Maks.	
3%	6%	226.66667*	189.7366	263.5968	0.000
	12%	516.00000*	479.0699	552.9301	0.000
	24%	787.00000*	750.0699	823.9301	0.000
	Kontrol Negatif	60.00000*	18.7109	101.2891	0.005
6%	3%	-226.66667*	-263.5968	-189.7366	0.000
	12%	289.33333*	252.4032	326.2634	0.000
	24%	560.33333*	523.4032	597.2634	0.000
	Kontrol Negatif	-166.66667*	-207.9558	-125.3776	0.000
12%	3%	-516.00000*	-552.9301	-479.0699	0.000
	6%	-289.33333*	-326.2634	-252.4032	0.000
	24%	271.00000*	234.0699	307.9301	0.000
	Kontrol Negatif	-456.00000*	-497.2891	-414.7109	0.000
24%	3%	-787.00000*	-823.9301	-750.0699	0.000
	6%	-560.33333*	-597.2634	-523.4032	0.000
	12%	-271.00000*	-307.9301	-234.0699	0.000
	Kontrol Negatif	-727.00000*	-768.2891	-685.7109	0.000
Kontrol Negatif	3%	-60.00000*	-101.2891	-18.7109	0.005
	6%	166.66667*	125.3776	207.9558	0.000
	12%	456.00000*	414.7109	497.2891	0.000
	24%	727.00000*	685.7109	768.2891	0.000

* $p>0,05$ (tidak signifikan)

Hasil uji *Post-Hoc LSD (Least Significant Difference)* pada tabel di atas menunjukkan setiap kelompok perlakuan apabila dibandingkan antara satu dengan yang lain mempunyai perbedaan yang signifikan. Nilai $p<0,05$

disebut signifikan, hal ini menjelaskan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) rata-rata daya hambat masing-masing kelompok perlakuan dengan kelompok perlakuan yang lain.

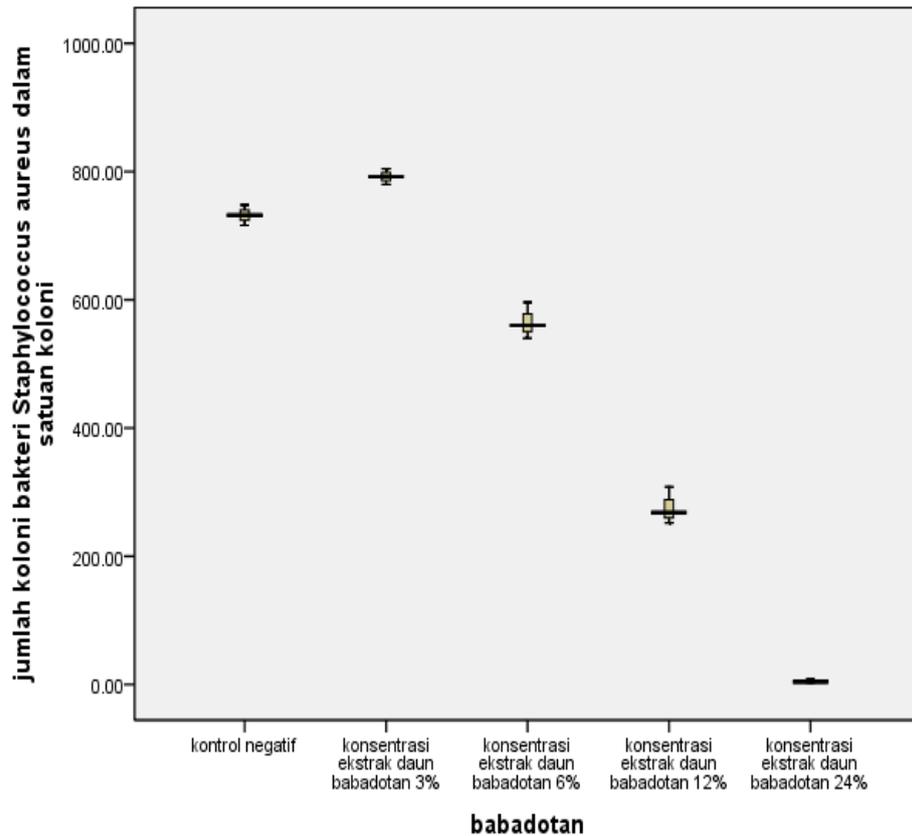
Hasil dari kontrol negatif apabila dibandingkan dengan kelompok pemberian ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) 3% akan terlihat signifikan dengan perbedaan rata-rata jumlah koloni yang tumbuh adalah sebanyak 60 koloni lebih banyak terdapat pada pemberian pemberian ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) 3%.

Hasil dari kontrol negatif apabila dibandingkan dengan kelompok pemberian ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) 6% akan terlihat signifikan dengan perbedaan rata-rata jumlah koloni yang tumbuh adalah sebanyak 167 koloni lebih banyak terdapat pada kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa sudah mulai terdapat efektivitas antimikroba pada konsentrasi 6%.

Hasil dari kontrol negatif apabila dibandingkan dengan kelompok pemberian ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) 12% akan terlihat signifikan dengan perbedaan rata-rata jumlah koloni yang tumbuh adalah sebanyak 457 koloni lebih banyak terdapat pada kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) 12% memiliki efektivitas antimikroba dua kali lipat daripada pemberian ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) 6%.

Hasil dari kontrol negatif apabila dibandingkan dengan kelompok pemberian ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) 24% akan terlihat signifikan dengan perbedaan rata-rata jumlah koloni yang tumbuh adalah sebanyak 727 koloni lebih banyak terdapat pada kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi ekstrak daun babadotan

(*Ageratum conyzoides* L.) 24% memiliki efektivitas antimikroba dua kali lipat daripada pemberian ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) 12% dan merupakan Kadar Hambat Minimum (KHM) pada penelitian ini. Hasil uji *Post-Hoc* LSD jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* antara tiap perlakuan konsentrasi ekstrak dapat dilihat pada Lampiran 9.



Gambar 5.2 Grafik Rata-rata Perbedaan Jumlah Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus* dalam Kelompok Perlakuan Konsentrasi Ekstrak Daun Babadotan (*Ageratum conyzoides* L.)

Gambar 5.2 menunjukkan bahwa adanya perbedaan yang signifikan dari masing-masing kelompok perlakuan. Pada perlakuan dengan penambahan ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) 3% memiliki perbedaan yang signifikan namun pada penelitian ini perbedaan signifikan tersebut mengarah ke arah negatif karena jumlah koloni yang tumbuh pada pemberian ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides*

L.) 3% ditumbuhi koloni bakteri yang lebih banyak dibandingkan pada jumlah koloni yang tumbuh pada kontrol negatif.

Pada pemberian ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) 6%, 12%, dan 24% memiliki perbedaan yang signifikan jika dibandingkan dengan kontrol negatif. Perbedaan yang signifikan ini terlihat dari jumlah penurunan koloni bakteri yang semakin banyak pada penggunaan ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) dengan konsentrasi yang semakin tinggi. Penurunan jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada masing-masing perlakuan rata-ratanya adalah kelipatan dua dikarenakan konsentrasi ekstrak yang digunakan juga merupakan kelipatan dua dari konsentrasi sebelumnya.

BAB VI

PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) memiliki efektivitas antimikroba yang signifikan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* adapun semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.), maka semakin sedikit jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang tumbuh.
2. Kadar Hambat Minimum (KHM) dari ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan kepadatan populasi 1×10^7 /ml terletak pada konsentrasi ekstrak daun babadotan 24% yang setara dengan 792 mg/ml ekstrak.

6.2 Saran

Adapun saran yang dapat diberikan pada penelitian ini adalah:

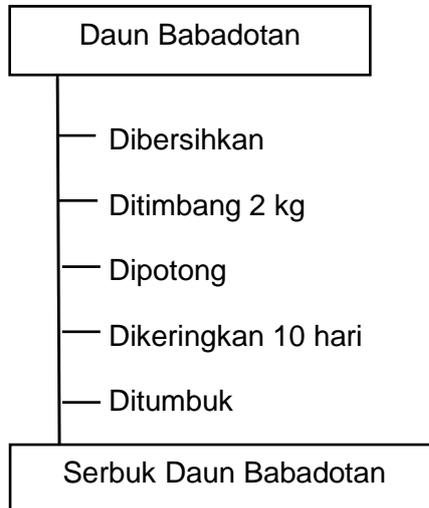
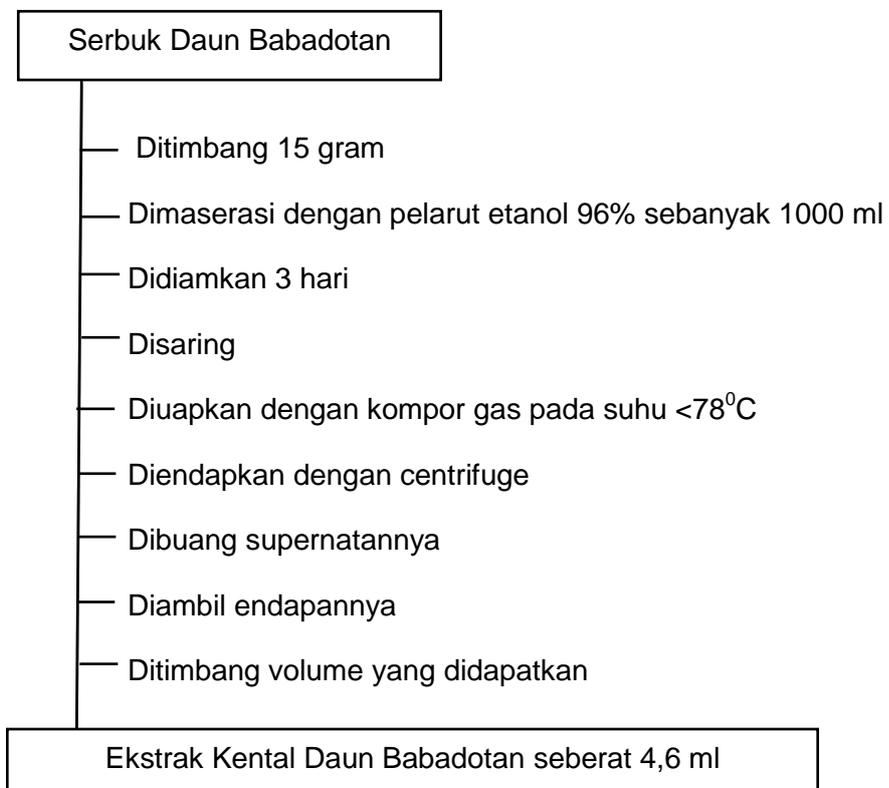
1. Untuk peneliti selanjutnya diharapkan dapat dilakukan penelitian tentang ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) sebagai antimikroba terhadap mikroba lainnya dan untuk mengetahui senyawa aktif yang paling berperan sebagai antimikroba pada ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) tersebut.
2. Untuk masyarakat maupun tenaga kesehatan lainnya diharapkan dapat dijadikan pedoman dalam pembuatan produk yang berasal dari ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) sebagai pengobatan infeksi oleh bakteri *Staphylococcus aureus* misalnya dalam bentuk salep

maupun produk lainnya, efek samping dan juga uji klinis sebagai obat oral.

DAFTAR PUSTAKA

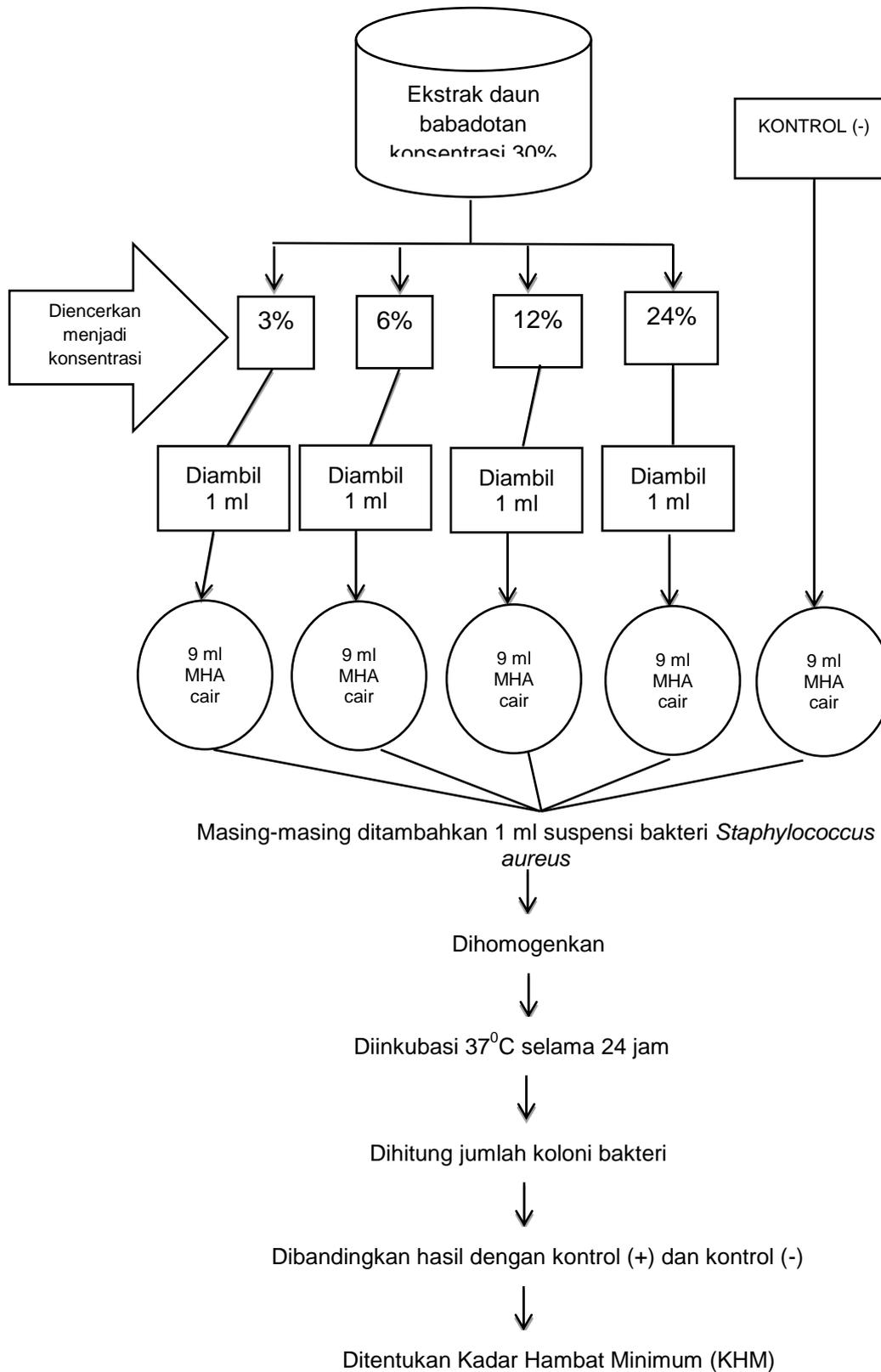
- Agromedia, R 2008, *Buku Pintar Tanaman Obat*, PT. Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Ariesti, N. D, Yuswantina, R, Pramita, N. I. K 2015. *The Antibacterial Activity Test of Hexane Extract of Babadotan Leaf (Ageratum conyzoides L.) on Resistant Staphylococcus aureus and Resistant Escherichia coli*, Prodi Farmasi, STIKES Ngudi Waluyo Ungaran, dilihat 05 Februari 2016, <perpusnwu.web.id/karyailmiah/documents/4143.pdf?>.
- Atikah, N., 2013 *Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Herba Kemangi (Ocimum americanum L.) terhadap Staphylococcus aureus dan Candida albicans*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta, dilihat pada 18 Mei 2016, <repository.uinjkt.ac.id/>.
- Brooks, G. F, Butel, J. S., Morse, S. A 2001, Jawetz, Melnick and Adelberg, *Medical Microbiology*, 22nd Ed, McGraw-Hill Companies Inc, USA.
- Dalimartha, S 2000, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*, Jilid 2, Trubus Agriwidya, Jakarta.
- Dewi, I.D.A.D.Y., Astuti, K.W., dan Warditianti, N.K. 2013, *Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak Kulit Buah Manggis (Garcinia mangostana L.)*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana Bali, dilihat pada 23 Mei 2016. <<http://ojs.unud.ac.id/>>.
- DitJen POM 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, DepKes RI.
- Fadlilah, M 2015, *Benefit of Red Betel (Piper crocatum Ruiz & Pav.) as Antibiotics*, Faculty of Medicine, University of Lampung, dilihat 10 Februari 2016, <juke.kedokteran.unila.ac.id/>.
- Hidayat, A. A. A 2012, *Riset Keperawatan dan Teknik Penulisan Ilmiah*, Edisi 2, Salemba Medika, Jakarta.
- Kementerian Negara Riset dan Teknologi RI 2001, Kementerian Negara Riset dan Teknologi RI, dilihat 13 Februari 2016, <[>http://iptek.apjii.or.id/artikel/ttg_tanaman_obat/depkes/buku1/http://www.arbec.com.my/indigenous.html](http://iptek.apjii.or.id/artikel/ttg_tanaman_obat/depkes/buku1/http://www.arbec.com.my/indigenous.html)>.
- Krisno, A 2011, *Kebutuhan Dasar Nutrisi Mikroba*, dilihat pada 23 Mei 2016. <<https://aguskrisnoblog.wordpress.com/>>.
- Loekito, H.H 1998, *Rancangan Percobaan*, IKIP Malang, Malang.

- Michael 2012, *Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Teh Hijau (Camellia Sinensis) yang Diperoleh Dengan Metode Soxhletasi terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli secara In Vitro*, Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara, dilihat pada 08 Februari 2016. <<http://id-text.123doc.org/document/13509>>.
- Natanel, A., 2014, *Maserasi*, Fakultas Farmasi, Universitas Negeri Sebelas Maret Surakarta, dilihat pada 18 Mei 2016. <http://id.mahasiswafarmasibicara.com/>.
- Notoatmodjo, S 2010, *Metodologi Penelitian Kesehatan*, Rineka Cipta, Jakarta.
- Nuraini, A. D 2007, *Ekstraksi Komponen Antibakteri dan Antioksidan dari Biji Teratai (Nymphaea pubescens Willd)*, Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, dilihat 08 Februari 2016, <repository.ipb.ac.id/bitstream/123456789/2532/4/F07adn.df>.
- Nuria, C. M, Faizatun, A, Sumantri 2009, *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (Jatropha curcas L.) terhadap Bakteri Staphylococcus aureus ATCC 25923, Escherichia coli Atcc 25922, dan Salmonella typhi ATCC 1408*, vol. 5, no. 2, dilihat 12 Februari 2016, <publikasiilmiah.unwahas.ac.id/index.php/Mediagro/article/view/559>.
- Nursalam 2011, *Konsep dan Penerapan Metodologi Penelitian Ilmu Keperawatan*, Edisi II, Salemba Medika, Jakarta.
- Plantamor 2011, *Digitaria Ascendes*, dilihat 05 Februari 2016, <<http://www.plantamor.com>>.
- Pratiwi, S. T 2008, *Mikrobiologi Farmasi*, Erlangga, Jakarta.
- Saryono 2011, *Metodelogi Penelitian Kesehatan*, Mitra Cendekia, Yogyakarta.
- Siregar, N. P. S 2010, *Uji Antimikroba Ekstrak Batang Brotowali (Tinospora crispa L. Miers) terhadap Pseudomonas aeruginosa secara In Vitro*, Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, dilihat 07 Februari 2016, <<http://www.academia.edu>>.
- Sudirman, T.A. 2014, *Uji Efektivitas Ekstrak Daun Salam (Eugenia Polyantha) terhadap Pertumbuhan Staphylococcus Aureus secara In Vitro*, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hasanuddin. Dilihat pada 17 Mei 2016, <http://www.repository.unhas.ac.id>.
- WHO 2008, *Traditional Medicine Online*, dilihat 11 Februari 2016, <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/en>>.
- Wijayakusuma, M. H 2000, *Ramuan Lengkap Herbal Taklukkan Penyakit*, Pustaka Bunda, Jakarta.

LAMPIRAN 1**SKEMA PEMBUATAN EKSTRAK DAUN BABADOTAN****A. Pembuatan Serbuk Daun Babadotan****B. Pembuatan Ekstrak Daun Babadotan**

LAMPIRAN 2

SKEMA PEMERIKSAAN SAMPEL



Keterangan :

Tiap perlakuan diulang sebanyak 3x.

LAMPIRAN 3**LEMBAR KONSULTASI**

Nama : Eriesta Dwi Estyani
 NIM : 131310053
 Judul : Uji Efektivitas Antimikroba Ekstrak Daun Babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In Vitro*.

NO	TANGGAL	HASIL KONSULTASI
1	09 Februari 2016	Judul ok; Latar belakang ok; Rumusan masalah ok; Bab II
2	10 Februari 2016	Bab III; Bab IV
3	15 Februari 2016	Bab III; Bab IV; Ralat sampel; populasi; Metode; Parameter
4	16 Februari 2016	Metode; Prosedur; Instrumen; Larutan pembanding
5	18 Februari 2016	Definisi operasional; Kerangka kerja;
6	19 Februari 2016	Rb I, II, III, IV ok
7	21 Mei 2016	Delete kontrol positif
8	23 Mei 2016	F. Tabel; Pembahasan
9	24 Mei 2016	KHM; Perbandingan 3% dengan kontrol negatif; Penjelasan tentang perbedaan tiap kelompok perlakuan
10	25 Mei 2016	Ok, kontrol negatif diletakkan di depan ralat; Kesimpulan ditambahkan mulai konsentrasi yang efektif; Ralat sampel, populasi
11	27 Mei 2016	Bab V dan VI ok; Sidang KTI
12	28 Mei 2016	Abstrak ditambahkan tujuan

Mengetahui,
 Pembimbing I

(Awaluddin Susanto, S. Pd., M. Kes.)

LEMBAR KONSULTASI

Nama : Eriesta Dwi Estyani
 NIM : 131310053
 Judul : Uji Efektivitas Antimikroba Ekstrak Daun Babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In Vitro*.

NO	TANGGAL	HASIL KONSULTASI
1	10 Februari 2016	Bab I, II
2	15 Februari 2016	Bab I, II, III, IV
3	17 Februari 2016	Bab I, II, III, IV
4	19 Februari 2016	Bab I, II, III, IV
5	23 Februari 2016	Bab I, II, III, IV
6	29 Februari 2016	Fix
7	20 Mei 2016	Bab V dan Lock Book
8	23 Mei 2016	Bab VI dan V
		Revisi
9	25 Mei 2016	Bab V dan VI
10	30 Mei 2016	Bab V dan VI fix
		Abstrak dilengkapi
		PPT dilengkapi
11	31 Mei 2016	Fix Daftar Sidang

Mengetahui,
 Pembimbing II

(Farach Khanifah, M. Si)

LAMPIRAN 4

ALAT DAN BAHAN YANG DIGUNAKAN



Gambar L4.1 Tumbuhan Babadotan.



Gambar L4.2 Cawan Petri, Tabung Reaksi, Beaker Glass, Erlenmeyer, Cat Gram, Nampan Pewarnaan, Mikropipet 1000 μL , Larutan NaCl 0,9 N.



Gambar L4.3 Cawan Petri Steril, Muller Hilton Agar Steril, Tabung Reaksi Steril. Blue Tip Steril.



Gambar L4.4 Muller Hilton Agar Steril



Gambar L4.5 Autoclave



Gambar L4.6 Hot Plate



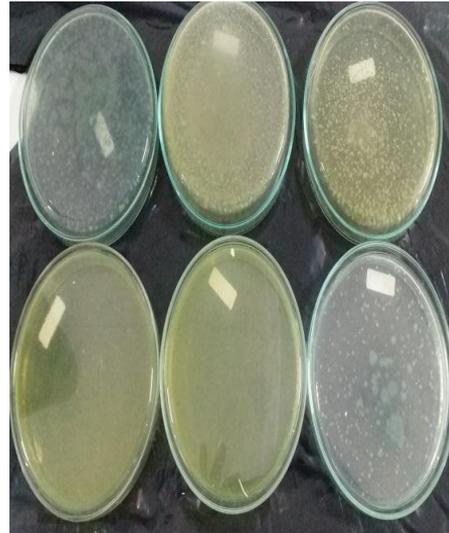
Gambar L4.7 dari Kiri: Larutan Amoxicillin 25µg, Suspensi Bakteri *Staphylococcus aureus* 1×10^8 , Ekstrak Daun Babadotan Konsentrasi 24%, 12%, 6% Dan 3%.



Gambar L4.8 Proses Pemeriksaan Efektivitas Antimikroba Metode Dilusi Padat



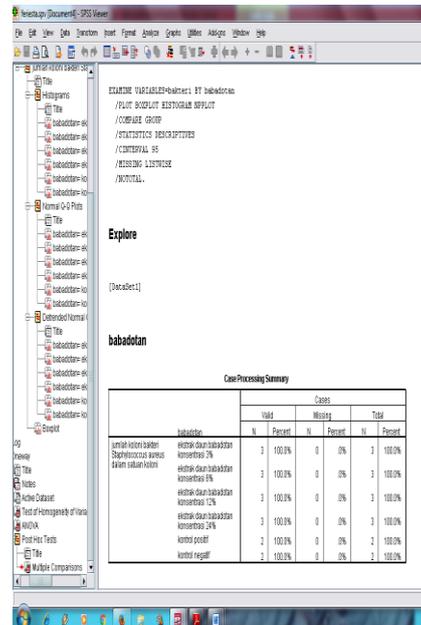
Gambar L4.9 Media yang sudah Dilakukan Uji Dilusi Padat



Gambar L4.10 Hasil Uji Dilusi Padat



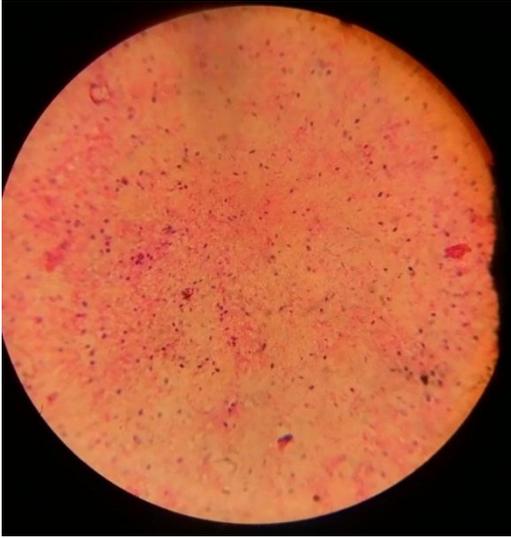
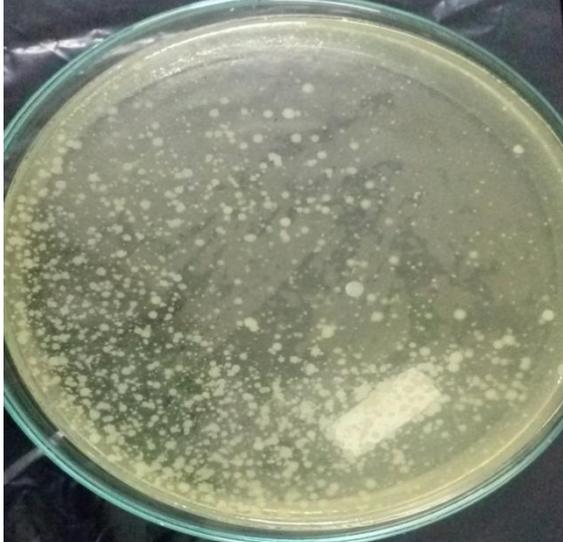
Gambar L4.11 Proses Perhitungan Jumlah Koloni menggunakan *Colony Counter*.



Gambar L4.12 Pengolahan Data di Komputer dengan Aplikasi SPSS 16

LAMPIRAN 5

**HASIL IDENTIFIKASI BAKTERI *Staphylococcus aureus* SECARA
MAKROSKOPIS DAN MIKROSKOPIS**

Gambar	Keterangan
	<p>Pemeriksaan Mikroskopis dengan perbesaran 1000x.</p> <p>Bentuk bakteri : Bulat (<i>coccus</i>), menyerupai anggur Warna bakteri : ungu Sifat : gram positif</p>
	<p>Pemeriksaan Makroskopis.</p> <p>Warna : kuning hampir menyerupai susu Bentuk : bulat kecil hingga sedang, Tepi : halus Elevasi : cembung</p>

LAMPIRAN 6

PROSES DAN HASIL EKSTRAKSI



Gambar L6.1 Tumbuhan Babadotan.



Gambar L6.2 Proses Pengeringan Daun Babadotan.



Gambar L6.3 Serbuk Daun Babadotan.

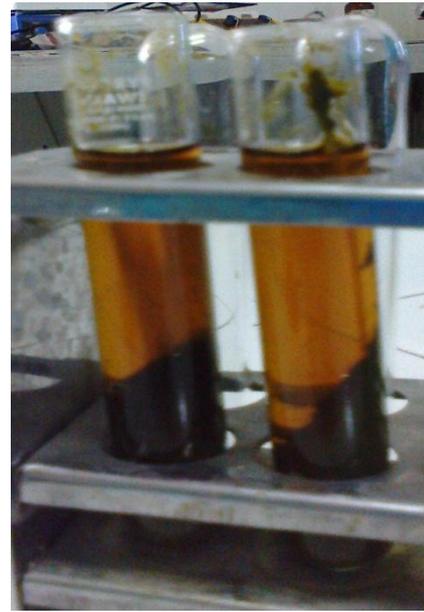


Gambar L6.4 Proses Maserasi.



Gambar L6.5

Proses Penguapan Etanol 96% dari Hasil Maserasi Daun Babadotan dan Mengontrol Suhu Penguapan dengan Termometer.



Gambar L6.6 Hasil Sentrifugasi Ekstrak Daun Babadotan.



Gambar L6.7 Ekstrak Kental Daun Babadotan sebanyak 4,6 ml.

LAMPIRAN 7

HASIL PERHITUNGAN JUMLAH KOLONI BAKTERI *Staphylococcus aureus* PADA MEDIA MULLER HILTON AGAR DENGAN MENGGUNAKAN COLONY COUNTER

No	Sampel	Pengulangan	Jumlah Koloni (koloni)	Rata-Rata (koloni)	Keterangan
1	EB1	U1	780	792	N
		U2	792		
		U3	804		
2	EB2	U1	596	566	P
		U2	540		
		U3	560		
3	EB3	U1	308	276	P
		U2	252		
		U3	268		
4	EB4	U1	4	5	P
		U2	3		
		U3	8		
5	EB5	U1	748	732	-
		U2	716		
		U3	732		

Keterangan :

EB1 : Ekstrak Daun Babadotan 3%

EB2 : Ekstrak Daun Babadotan 6%

EB3 : Ekstrak Daun Babadotan 12%

EB4 : Ekstrak Daun Babadotan 24%

EB5 : Kontrol Negatif

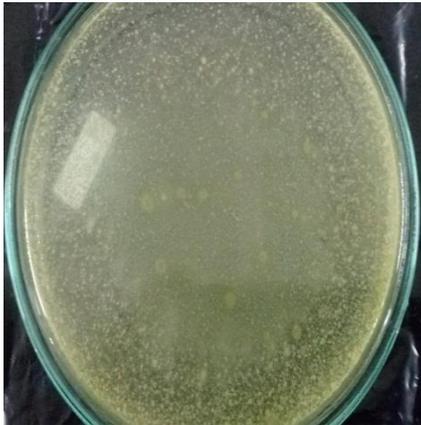
U1 : Pengulangan ke-1

U2 : Pengulangan ke-2

U3 : Pengulangan ke-3

N : Negatif

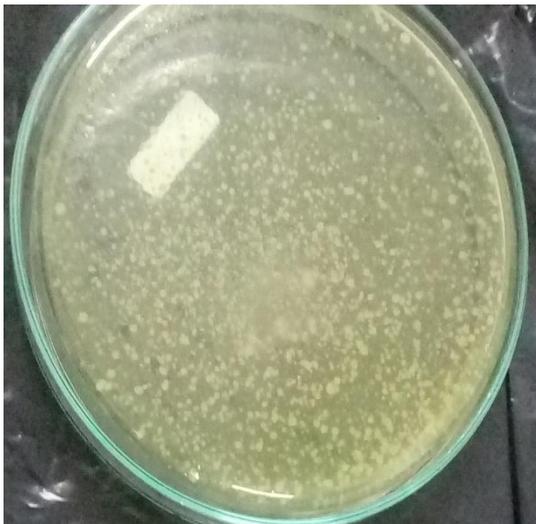
P : Positif

DOKUMENTASI

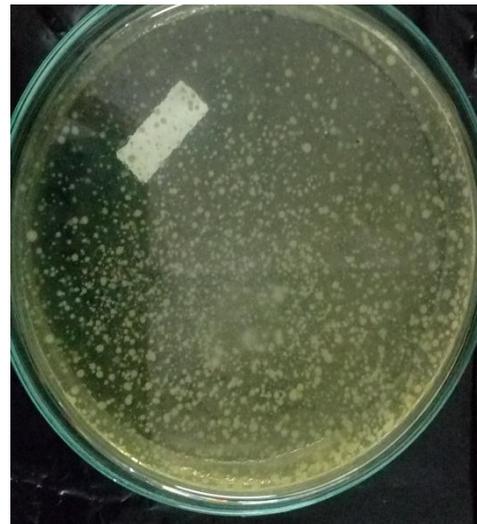
Gambar 7.1 Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Penambahan Ekstrak Daun Babadotan Konsentrasi 3% (Ulangan Ke-1)



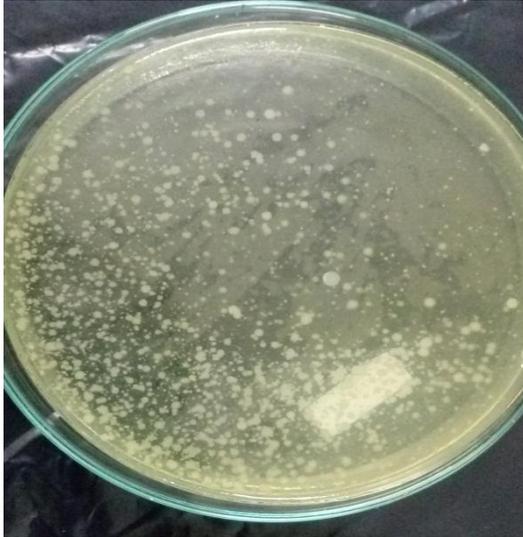
Gambar 7.2 Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Penambahan Ekstrak Daun Babadotan Konsentrasi 3% (Ulangan Ke-2)



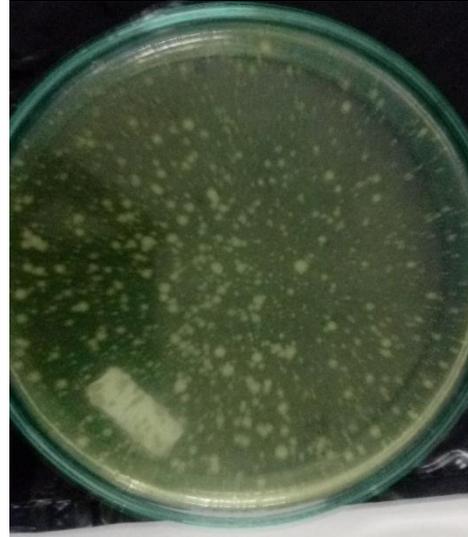
Gambar 7.3 Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Penambahan Ekstrak Daun Babadotan Konsentrasi 3% (Ulangan Ke-3)



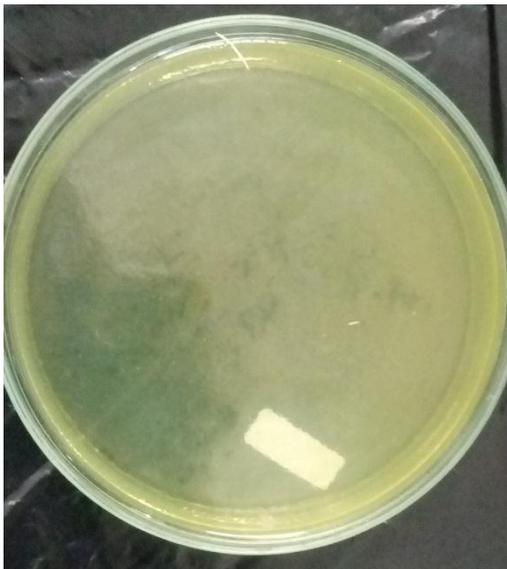
Gambar 7.4 Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Penambahan Ekstrak Daun Babadotan Konsentrasi 6% (Ulangan Ke-1)



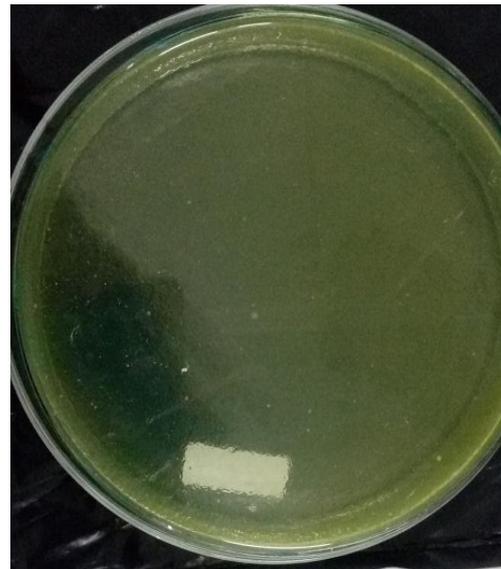
Gambar 7.5 Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Penambahan Ekstrak Daun Babadotan Konsentrasi 6% (Ulangan Ke-2)



Gambar 7.6 Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Penambahan Ekstrak Daun Babadotan Konsentrasi 6% (Ulangan Ke-3)



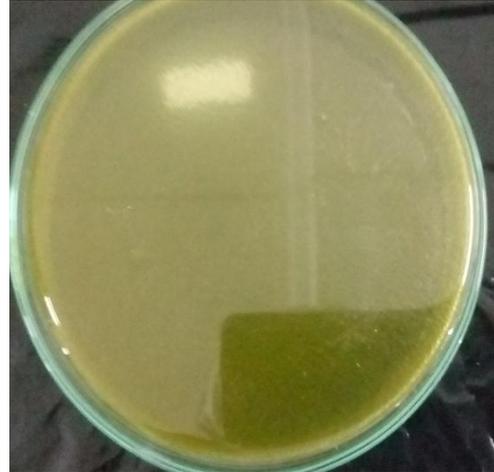
Gambar 7.7 Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Penambahan Ekstrak Daun Babadotan Konsentrasi 12% (Ulangan Ke-1)



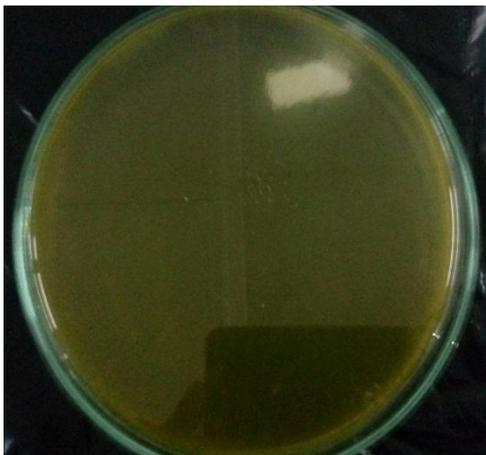
Gambar 7.8 Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Penambahan Ekstrak Daun Babadotan Konsentrasi 12% (Ulangan Ke-2)



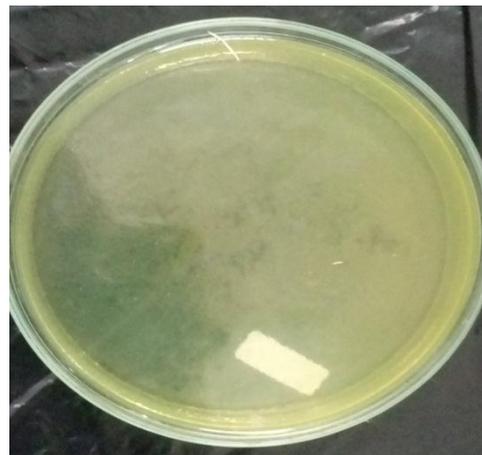
Gambar 7.9 Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Penambahan Ekstrak Daun Babadotan Konsentrasi 12% (Ulangan Ke-3)



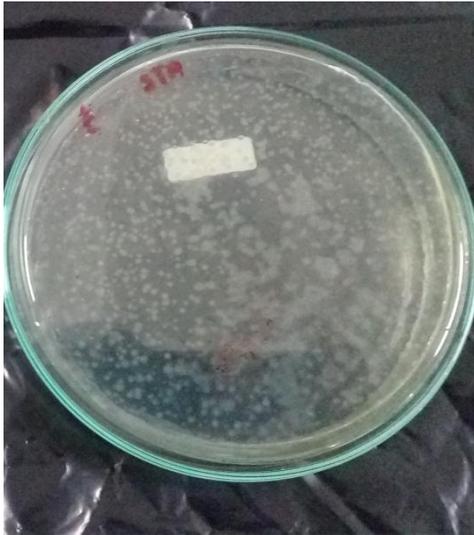
Gambar 7.10 Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Penambahan Ekstrak Daun Babadotan Konsentrasi 24% (Ulangan Ke-1)



Gambar 7.11 Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Penambahan Ekstrak Daun Babadotan Konsentrasi 24% (Ulangan Ke-2)



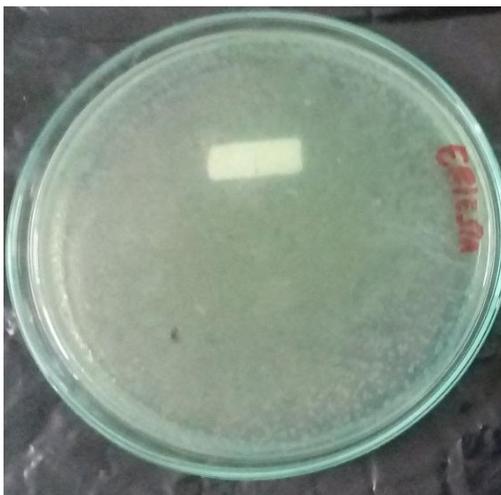
Gambar 7.12 Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Penambahan Ekstrak Daun Babadotan Konsentrasi 24% (Ulangan Ke-3)



Gambar 7.13 Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus* Tanpa Penambahan Antibiotik dan Ekstrak Daun Babadotan sebagai Kontrol Negatif (Ulangan Ke-1)



Gambar 7.14 Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus* Tanpa Penambahan Antibiotik dan Ekstrak Daun Babadotan sebagai Kontrol Negatif (Ulangan Ke-2)



Gambar 7.15 Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus* Tanpa Penambahan Antibiotik dan Ekstrak Daun Babadotan sebagai Kontrol Negatif (Ulangan Ke-3)

LAMPIRAN 8

HASIL KONVERSI PENGHITUNGAN KONSENTRASI EKSTRAK (%) DALAM SATUAN mg/ml

Ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) dibuat dengan menggunakan 15 gram daun babadotan kering yang direndam dalam larutan etanol 96% dengan volume 1000 ml. Setelah dilakukan maserasi maka dihasilkan ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) kental dengan konsentrasi 100% sebanyak 4,6 ml.

Untuk mengetahui banyaknya bahan aktif (mg) dalam 1 ml ekstrak daun babadotan tiap konsentrasi, dapat dilakukan perhitungan :

Konsentrasi ekstrak daun babadotan= 30%,

Volume ekstrak daun babadotan dengan konsentrasi 30%= 8 ml

$$N_1 \cdot V_1 = N_2 \cdot V_2$$

$$100 \cdot V_1 = 30 \cdot 8\text{ml}$$

$$V_1 = 240/100$$

$$= 2,4 \text{ ml}$$

Keterangan:

N_1 = Konsentrasi total ekstrak daun babadotan kental (100%)

N_2 = Konsentrasi ekstrak daun babadotan kental yang digunakan (30%)

V_1 = Volume ekstrak daun babadotan kental yang dibutuhkan (ml)

V_2 = Volume ekstrak daun babadotan kental dengan konsentrasi 30% (8 ml)

Dari hasil perhitungan diketahui bahwa konsentrasi ekstrak 30% dibuat dengan mengambil ekstrak dengan konsentrasi 100% sebanyak 2,4 ml. Sementara itu, ekstrak dengan konsentrasi 100% didapat dari 15 gram daun babadotan kering yang setara dengan 1 ml ekstrak, jadi tiap 1 ml ekstrak 30%

mengandung 3,3 gram bahan aktif, sehingga jumlah bahan aktif dalam konsentrasi 30 % dapat dihitung:

$$0,3/ x = 1/ 3,3$$

$$x = 0,99$$

Keterangan:

x = jumlah bahan aktif dalam konsentrasi 30% = 0,99 gr/ml = 990 mg/ml. Jadi, tiap konsentrasi 1% mengandung bahan aktif sebanyak 33 mg/ml.

Cara perhitungan yang sama juga dilakukan pada konsentrasi lainnya, sehingga didapatkan jumlah kandungan bahan aktif dalam tiap konsentrasi, seperti yang tertera pada tabel L8.1.

Tabel L8.1 Hasil Konversi Konsentrasi Ekstrak dalam Satuan mg/ml

Konversi Ekstrak Daun Babadotan (<i>Ageratum conyzoides</i> L.)	
Konsentrasi (%)	Konsentrasi (mg/ml)
3%	99 mg/ml
6%	198 mg/ml
12%	396 mg/ml
24%	792 mg/ml
30%	990 mg/ml

Dari hasil penelitian diketahui bahwa KHM (Kadar Hambat Minimum) ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* terletak pada konsentrasi ekstrak 24% yang setara dengan 792 mg/ml ekstrak. Efektivitas antimikroba ekstrak daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dimulai pada konsentrasi ekstrak 6% yang setara dengan 198 mg/ml ekstrak.

LAMPIRAN 9

HASIL ANALISIS DATA MENGGUNAKAN SPSS 16

1. Uji Normalitas *Shapiro-Wilk*

Tests of Normality

Babadotan		<i>Kolmogorov-Smirnov^a</i>			<i>Shapiro-Wilk</i>		
		<i>Statistic</i>	<i>df</i>	<i>Sig.</i>	<i>Statistic</i>	<i>df</i>	<i>Sig.</i>
Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dalam Satuan Koloni	Ekstrak Babadotan dengan Konsentrasi 3%	.175	3	.	1.000	3	1.000
	Ekstrak Babadotan dengan Konsentrasi 6%	.241	3	.	.974	3	.688
	Ekstrak Babadotan dengan Konsentrasi 12%	.276	3	.	.942	3	.537
	Ekstrak Babadotan dengan Konsentrasi 24%	.314	3	.	.893	3	.363
	Kontrol Negatif	.175	3	.	1.000	3	1.000

a. *Lilliefors Significance Correction*

2. Uji *Levene Test*

Test of Homogeneity of Variances

Bakteri *Staphylococcus aureus* dalam Satuan Koloni

<i>Levene Statistic</i>	<i>df1</i>	<i>df2</i>	<i>Sig.</i>
2.232	4	10	.138

3. Uji *One Way ANOVA*

	Sum of Squares	<i>df</i>	Mean Square	<i>F</i>	<i>Sig.</i>
Between Groups	1305584.267	4	326396.067	798.295	.000
Within Groups	4088.667	10	408.867		
Total	1309672.933	14			

4. Post Hoc Test dengan LSD (Least Significant Difference) .

Multiple ComparisonsBakteri *Staphylococcus aureus* dalam Satuan Koloni

LSD

(I) Babadotan	(J) Babadotan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Ekstrak Babadotan dengan Konsentrasi 3%	Ekstrak Babadotan dengan Konsentrasi 6%	226.66667*	16.50993	.000	189.8803	263.4531
	Ekstrak Babadotan dengan Konsentrasi 12%	516.00000*	16.50993	.000	479.2136	552.7864
	Ekstrak Babadotan dengan Konsentrasi 24%	787.00000*	16.50993	.000	750.2136	823.7864
	Kontrol Negatif	60.00000*	16.50993	.005	23.2136	96.7864
Ekstrak Babadotan dengan Konsentrasi 6%	Ekstrak Babadotan dengan Konsentrasi 3%	-226.66667*	16.50993	.000	-263.4531	-189.8803
	Ekstrak Babadotan dengan Konsentrasi 12%	289.33333*	16.50993	.000	252.5469	326.1197
	Ekstrak Babadotan dengan Konsentrasi 24%	560.33333*	16.50993	.000	523.5469	597.1197
	Kontrol Negatif	-166.66667*	16.50993	.000	-203.4531	-129.8803
Ekstrak Babadotan dengan Konsentrasi 12%	Ekstrak Babadotan dengan Konsentrasi 3%	-516.00000*	16.50993	.000	-552.7864	-479.2136
	Ekstrak Babadotan dengan Konsentrasi 6%	-289.33333*	16.50993	.000	-326.1197	-252.5469
	Ekstrak Babadotan dengan Konsentrasi 24%	271.00000*	16.50993	.000	234.2136	307.7864
	Kontrol Negatif	-456.00000*	16.50993	.000	-492.7864	-419.2136
Ekstrak Babadotan Dengan Konsentrasi	Ekstrak Babadotan dengan Konsentrasi 3%	-787.00000*	16.50993	.000	-823.7864	-750.2136

24%	Ekstrak Babadotan dengan Konsentrasi 6%	-560.33333*	16.50993	.000	-597.1197	-523.5469
	Ekstrak Babadotan dengan Konsentrasi 12%	-271.00000*	16.50993	.000	-307.7864	-234.2136
	Kontrol Negatif	-727.00000*	16.50993	.000	-763.7864	-690.2136
Kontrol Negatif	Ekstrak Babadotan dengan Konsentrasi 3%	-60.00000*	16.50993	.005	-96.7864	-23.2136
	Ekstrak Babadotan dengan Konsentrasi 6%	166.66667*	16.50993	.000	129.8803	203.4531
	Ekstrak Babadotan dengan Konsentrasi 12%	456.00000*	16.50993	.000	419.2136	492.7864
	Ekstrak Babadotan dengan Konsentrasi 24%	727.00000*	16.50993	.000	690.2136	763.7864

*. The Mean Difference Is Significant At The 0.05 Level.

LAMPIRAN 11

LOCK BOOK

NO	TANGGAL	KEGIATAN	HASIL
1	10 April 2016	Mencari Daun Babadotan	Daun Babadotan Segar
2	10-20 April 2016	Mengeringkan Daun Babadotan	Daun Babadotan Kering
3	24 April 2016	Mencari Daun Babadotan	Daun Babadotan Segar
4	24 April- 3 Mei 2016	Mengeringkan Daun Babadotan	Daun Babadotan Kering
5	3 Mei 2016	Menumbuk Daun Babadotan Kering	Serbuk Daun Babadotan
6	3-5 Mei 2016	Proses Maserasi pada Serbuk Daun Babadotan	Cairan Maserasi
7	5 Mei 2016	Menyaring Hasil Maserasi	Ekstrak Daun Babadotan Cair
8	5-9 Mei 2016	Mendiamkan Ekstrak Daun Babadotan	Ekstrak Daun Babadotan Cair
9	10-12 Mei 2016	<ol style="list-style-type: none"> 1. Membuat Ekstrak Daun Babadotan: <ol style="list-style-type: none"> a. Menguapkan diatas kompor gas b. Mencentrifuge Ekstrak Daun Babadotan c. Mengambil Ekstrak Kental Daun Babadotan 2. Membuat Media <i>Muller Hilton Agar</i> (MHA) 3. Meremajakan Bakteri 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Ekstrak Kental Daun Babadotan 2. Media <i>Muller Hilton Agar</i>(MHA)
10	13 Mei 2016	<ol style="list-style-type: none"> 1. Membuat Suspensi Bakteri 2. Melakukan Uji Efektivitas Antimikroba Ekstrak Daun Babadotan terhadap Bakteri <i>Stapylococcus aureus</i> menggunakan Metode Dilusi Padat 	Suspensi Bakteri
11	14 Mei 2016	Membaca Hasil Uji Efektivitas Antimikroba Ekstrak Daun Babadotan terhadap Bakteri <i>Stapylococcus aureus</i> menggunakan Metode	Laporan Hasil Uji Efektivitas Antimikroba Ekstrak Daun Babadotan terhadap Bakteri <i>Stapylococcus aureus</i> menggunakan Metode

		Padat	Dilusi Padat
12	15-19 Mei 2016	Membuat Laporan Hasil Uji Efektivitas Antimikroba Ekstrak Daun Babadotan terhadap Bakteri <i>Stapylococcus aureus</i> menggunakan Metode Dilusi Padat	Laporan Hasil Uji Efektivitas Antimikroba Ekstrak Daun Babadotan terhadap Bakteri <i>Stapylococcus aureus</i> menggunakan Metode Dilusi Padat
13	20 Mei 201- Selesai	Konsultasi Karya Tulis Ilmiah (KTI)	Karya Tulis Ilmiah (KTI)

LAMPIRAN 12**BERITA ACARA
REVISI KARYA TULIS ILMIAH**

Nama Mahasiswa : Eriesta Dwi Estyani

Nama Penguji : 1. dr. Heri Wibowo, M. Kes
2. Awaluddin S, S.Pd., M.Kes
3. Farach Khanifah, M.Si

No	Hasil Revisi
1	Abstrak
2	Kesimpulan
3	Saran

Jombang, 28 Juli 2016

Mengetahui,
Penguji Utama

(dr. Heri Wibowo, M.Kes)

BERITA ACARA
REVISI KARYA TULIS ILMIAH

Nama Mahasiswa : Eriesta Dwi Estyani
Nama Penguj i : 1. dr. Heri Wibowo, M. Kes
2. Awaluddin S, S.Pd., M.Kes
3. Farach Khanifah, M.Si

No	Hasil Revisi
1	Abstrak
2	Kesimpulan

Jombang, 28 Juli 2016

Mengetahui,
Pembimbing I

(Awaluddin S, S.Pd., M.Kes)

BERITA ACARA
REVISI KARYA TULIS ILMIAH

Nama Mahasiswa : Eriesta Dwi Estyani
Nama Penguji : 1. dr. Heri Wibowo, M. Kes
2. Awaluddin S, S.Pd., M.Kes
3. Farach Khanifah, M.Si

No	Hasil Revisi
1	Penulisan

Jombang, 28 Juli 2016

Mengetahui,
Pembimbing II

(Farach Khanifah, M.Si)

