

**Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat
Daun Tanaman Bandotan (*Ageratum conyzoides L*)**

Anti Bacteria Activity of Ethyl Acetate Fraction Bandotan leaf
(*Ageratum conyzoides L*)

Taufan H. Sugara*, Tun Tedja Irawadi, Irma Herawati Suprpto,
Muhammad Hanafi

Dosen Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Mataram,
Dosen Departemen Kimia IPB,
Peneliti Kimia, LIPI.

taufan_sehab@yahoo.com

Abstrak

Pemanfaatan tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) untuk penyembuhan luka dan gangguan pencernaan seringkali dikaitkan dengan aktivitas antibakteri yang dimiliki. Namun demikian, informasi tentang aktivitas antibakteri tanaman ini masih sebatas pada fraksi polar dan non polar saja. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi semi polar daun tanaman bandotan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat daun tanaman bandotan mengandung senyawa flavonoid, steroid, p-hidrokuinon dan terpenoid. Fraksinasi ekstrak etil asetat dengan eluen kloroform : metanol (9:1) menghasilkan 8 fraksi dengan jumlah rendemen berturut-turut sebanyak 15,14g; 22,21g; 21,19g; 20,44g; 5,79g; 4,50g; 1,40g; 1,43g; dan 0,93g. Ekstrak etil asetat dan seluruh fraksi yang terkandung di dalamnya menunjukkan aktivitas antibakteri berspektrum luas dengan daya hambat yang tergolong dalam kategori kuat. Rata-rata daya hambat ekstrak etil asetat dan fraksi 1-8 terhadap *S. aureus* berturut-turut sebesar 14mm; 12mm; 12,5mm; 15,5mm; 16mm; 12mm; 11,5mm; 10mm; 9,5mm. Sedangkan rata-rata daya hambat ekstrak etil asetat dan fraksi 1-8 terhadap *E. coli* berturut-turut sebesar 11mm; 11,5mm; 11mm; 11,5mm; 13mm; 14mm; 10,5mm; 10mm; 9,5mm.

Kata kunci: Daun tanaman bandotan, ekstrak etil asetat, antibakteri.

Abstract

Utilization of *Ageratum conyzoides* L. leaf for wound healing and digestion disorders are often associated with its antibacterial activities. However, information of this plant as antibacterial agent still limited on the polar and non polar fraction. Therefore, the objective of this study was to identify the antibacterial activity of semipolar fraction extract of *Ageratum conyzoides* L. leaves to *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Phytochemical test results showed that the ethyl acetate extract of bandotan leaves contains flavonoids, steroids, p-hydroquinone and terpenoids. Fractionation of ethyl acetate extract with eluent chloroform: methanol (9:1) produced 8 fractions by the number of consecutive yield as much 15,14g; 22,21g; 21,19g; 20,44g; 5,79g; 4,50g; 1,40g; 1,43g; and 0,93g. Overall antibacterial activity result of ethyl acetate extract and fraction 1-8 showed broad-spectrum antibacterial activity with inhibition of belonging to the strong category. The average inhibition of ethyl acetate extracts and fractions 1-8 against *S. aureus* in a row amounted to 14mm; 12mm; 12,5mm; 15,5mm; 16mm; 12mm; 11,5mm; 10mm; 9,5mm. While, the average inhibition of ethyl acetate extracts and fractions 1-8 against *E. coli* in a row amounted to 11mm; 11,5mm; 11mm; 11,5mm; 13mm; 14mm; 10,5 mm; 10mm; 9,5mm.

Keywords: *Ageratum conyzoides* leaf, ethyl acetate fraction, antibacterial.

PENDAHULUAN

Salah satu tanaman obat yang cukup dikenal di masyarakat adalah tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides* L). Tanaman bandotan umumnya digunakan oleh masyarakat untuk obat luka dan gangguan pencernaan. Khasiat herba bandotan antara lain untuk pengobatan luka, gatal-gatal, flu, demam, diare, radang usus, dan rematik (Sukanto, 2007; Hasim, 2005). Penggunaan daun tanaman ini pada luka dipercaya dapat menghentikan pendarahan dan mempercepat proses penyembuhan. Oladejo *et al.* (2003) mengemukakan bahwa salah satu cara untuk

mempercepat proses penyembuhan pada luka adalah dengan mencegah terjadinya infeksi yang disebabkan oleh bakteri.

Tanaman bandotan mengandung senyawa-senyawa metabolit sekunder seperti terpena, sterol, flavonoid, alkaloid, benzofuran, chromen, chromon, kumarin, minyak atsiri, dan tanin sehingga tanaman ini dipercaya memiliki banyak manfaat dan salah satunya adalah sebagai antibakteri (Ming, 1999; Kamboj & Saluja, 2008). Kajian aktivitas antibakteri dari ekstrak polar dan non polar tanaman bandotan telah

dilaporkan oleh beberapa peneliti sebelumnya. Ekstrak polar dari seperti ekstrak metanol (Almagboul *et al.*, 1985; Oladejo *et al.*, 2003), ekstrak etanol (Widodo *et al.*, 2007), dan ekstrak air (Yamamoto *et al.*, 1991; Okwori *et al.*, 2007; Mustafa *et al.*, 2005) diketahui memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri yang diujikan. Sedangkan dari ekstrak non polar, Okwori *et al.*, (2007) melaporkan bahwa ekstrak heksana tanaman bandotan memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji.

Pengembangan penelitian tentang aktivitas antibakteri dari tanaman bandotan sangatlah penting dan dapat dikaitkan dengan pemanfaatannya sebagai obat luka secara tradisional. Sampai saat ini, pencarian senyawa aktif antibakteri dari tanaman bandotan hanya terbatas pada fraksi polar dan non polar saja sehingga pencarian senyawa aktif dari fraksi semipolarnya perlu dilakukan. Secara ilmiah, fraksi semipolar juga mengandung senyawa-senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Etil asetat adalah salah satu pelarut

semipolar yang paling sering digunakan dan diketahui mampu memisahkan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang tidak dapat larut dalam pelarut polar dan nonpolar. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antibakteri senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak etil asetat daun tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides L.*).

METODOLOGI PENELITIAN

Sebanyak 1,5 kg simplisia daun tanaman bandotan dimaserasi dengan pelarut heksana untuk menghilangkan kandungan lemak dan minyak yang terdapat dalam sampel. Setelah dilakukan penyaringan, residu yang dihasilkan dimaserasi kembali dengan pelarut etil asetat sehingga diperoleh ekstrak etil asetat. Daun tanaman bandotan dan ekstrak kasar yang diperoleh kemudian diuji aktivitas antibakteri dan kandungan fitokimianya. Ekstrak kasar etil asetat kemudian ditentukan eluen terbaiknya yang akan digunakan dalam proses fraksinasi. Setelah penentuan eluen terbaik dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Ekstrak etil asetat kemudian difraksinasi dengan kromatografi

kolom sehingga diperoleh beberapa fraksi. Masing-masing fraksi diuji aktivitas antibakterinya dengan metode (tripton Soy Agar) TSA untuk mendapatkan fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri paling tinggi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

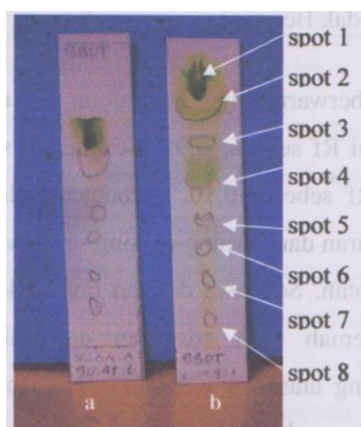
Ekstraksi maserasi simplisia daun tanaman bandotan menggunakan pelarut heksana dan etil asetat diperoleh ekstrak heksana sebanyak 75,95 g dan ekstrak etil asetat sebanyak 71,50 g. Simplisia dan ekstrak etil asetat yang diperoleh kemudian dilakukan uji fitokimia untuk membandingkan kandungan senyawa metabolit sekunder sebelum dan setelah proses ekstraksi maserasi dilakukan. Hasil uji fitokimia daun tanaman bandotan dan ekstrak etil asetat disajikan pada Tabel 1 berikut ini.

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Daun Bandotan dan Ekstrak etil Asetat

Jenis Metabolit Sekunder	Daun Bandotan	Ekstrak Etil Asetat
Alkaloid	-	-
Flavonoid	++	++
<i>p</i> -hidrokuinon	++	++
Terpenoid	++	+
Steroid	++	++++
Saponin	-	-
Tanin	++++	-

Hasil analisis fitokimia terhadap daun bandotan menunjukkan adanya senyawa-senyawa flavonoid, steroid, *p*-hidrokuinon, terpenoid dan tanin. Senyawa-senyawa tersebut juga terdapat pada ekstrak etil asetat, kecuali senyawa tanin yang menunjukkan hasil negatif. Senyawa tanin merupakan senyawa polifenol yang bersifat polar dan hanya dapat larut dalam pelarut dengan tingkat kepolaran yang sesuai. Perbedaan tingkat kepolaran etil asetat dan senyawa tanin menyebabkan senyawa ini tidak dapat larut dalam pelarut etil asetat.

Sebelum fraksinasi dilakukan, terlebih dahulu ditentukan eluen yang menghasilkan pola pemisahan terbaik untuk digunakan dalam proses fraksinasi. Kombinasi pelarut yang digunakan sebagai eluen adalah kloroform : asam asetat : air (90:45:6) dan kloroform : etanol (9:1). Hasil pengamatan penentuan eluen terbaik dengan metode KLT disajikan pada Gambar 1 berikut ini.



Gambar 1. Hasil Analisis KLT (a) kloroform : asam asetat : air (90:45:6) dan (b) kloroform : etanol (9:1)

Hasil pengamatan bahwa eluen kloroform :asam asetat : air (90:45:6) hanya menghasilkan 6 spot dengan pola pemisahan yang kurang baik. Eluen kloroform : etanol (9:1) menghasilkan pola pemisahan yang lebih baik dengan jumlah spot yang dihasilkan sebanyak 8. Jumlah dan pola pemisahan yang dihasilkan dipengaruhi oleh sifat kepolaran senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak etil asetat daun bandotan. Senyawa tersebut kemungkinan memiliki tingkat

kepolaran yang tidak terlalu tinggi sehingga sesuai dengan tingkat kepolaran yang dihasilkan oleh eluen kloroform : etanol (9:1).

Setelah diketahui eluen terbaiknya, proses selanjutnya yaitu fraksinasi dengan metode kromatografi kolom. Fraksi-fraksi yang keluar dari kromatografi kolom ditampung pada tabung reaksi dengan jumlah 5 ml untuk masing-masing tabung reaksi. Jumlah tabung yang diperoleh dari hasil kromatografi kolom adalah sebanyak 150 tabung. Tabung-tabung yang memiliki kesamaan pola spot kemudian digabungkan sehingga diperoleh total 8 fraksi. Masing-masing fraksi kemudian diuapkan pelarutnya dengan *rotary evaporator*. Nilai R_f , warna dan jumlah rendemen yang dihasilkan dari masing-masing spot untuk eluen kloroform : etanol (9:1) disajikan pada Tabel 2 berikut ini.

Tabel 2. Nilai R_f , warna jumlah rendemen yang dihasilkan dari masing-masing spot pada eluen kloroform : etanol (9:1)

No	Warna pada cahaya tampak	Warna pada UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$)	R_f	Rendemen (g)
1	Hijau kehitaman	Merah kehitaman	0,95	15,14
2	Hijau tua	Merah kehitaman	0,84	22,21
3	Hijau muda	Hijau tua	0,73	21,19
4	Hijau muda	Hijau tua	0,59	20,44
5	Kuning muda	Hijau muda	0,44	5,79
6	Tidak berwarna	Kuning	0,33	4,50
7	Hijau muda	Kuning muda	0,23	1,43
8	Hijau muda	Kuning muda	0,10	0,93

Fraksi 1-4 memiliki jumlah rendemen yang lebih tinggi dibandingkan dengan 4 fraksi lainnya. tingginya rendemen fraksi 1-4 menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat lebih banyak mengandung senyawa-senyawa dengan tingkat kepolaran yang cenderung rendah. Fraksi 1-4 memiliki tingkat kepolaran yang lebih rendah dibandingkan dengan fraksi 5-8. Tingkat kepolaran yang rendah menyebabkan senyawa

tersebut terabsorpsi lebih lemah oleh absorben sehingga akan keluar lebih dahulu dari kolom kromatografi.

Uji aktivitas antibakteri dilakukan terhadap pelarut etil asetat, ekstrak etil asetat, serta 8 fraksi yang diperoleh dari proses fraksinasi. Sebagai antibakteri standar, digunakan kloramfenikol dengan konsentrasi 0,4 mg/ml. Hasil uji aktivitas antibakteri disajikan pada Tabel 3 berikut ini.

Tabel 3. Hasil uji aktivitas antibakteri

Sampel	Zona Hambat (mm)					
	<i>S. aureus</i>			<i>E. coli</i>		
	Pengulangan		Rata-rata	Pengulangan		Rata-rata
	1	2		1	2	
Pelarut etil asetat	-	-	-	-	-	-
Ekstrak etil asetat	14,0	14,0	14,0	11,0	11,0	11,0
Fraksi 1	12,0	12,0	12,0	11,0	12,0	11,5
Fraksi 2	13,0	12,0	12,5	11,0	11,0	11,0
Fraksi 3	15,0	16,0	15,5	11,0	12,0	11,5
Fraksi 4	16,0	16,0	16,0	13,0	13,0	13,0
Fraksi 5	12,0	12,0	12,0	14,0	14,0	14,0
Fraksi 6	11,0	12,0	11,5	11,0	10,0	10,5
Fraksi 7	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Fraksi 8	10,0	9,0	9,5	10,0	9,0	9,5
Kloramfenikol (0,4 mg/ml)	18,0	19,0	18,5	20,0	20,0	20,0

Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak kasar etil asetat dan fraksi-fraksi yang terkandung di dalamnya memiliki aktivitas antibakteri seperti ekstrak polar dan non polarnya. Diameter zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak kasar etil asetat terhadap bakteri *S. aureus* sebesar 14 mm dan

terhadap *E. coli* sebesar 11 mm. Besarnya diameter zona hambat ekstrak etil asetat hampir sama dengan diameter zona hambat ekstrak air, metanol dan heksana. Okwori *et al.*, (2007) menyebutkan bahwa diameter zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak air, metanol dan heksan daun tanaman bandotan

terhadap *S. aureus* berturut-turut dalam kisaran 7-15 mm, 10-14 mm, 9-16 mm, sedangkan terhadap *E. coli* sebesar 6-12 mm, 10-16 mm, 7-16 mm.

Hasil uji aktivitas antibakteri juga menunjukkan bahwa rata-rata zona hambat yang dihasilkan terhadap *S. aureus* cenderung lebih besar dibandingkan dengan *E. coli*. Hal ini menunjukkan bahwa sampel yang diujikan memiliki sensitivitas yang lebih baik terhadap bakteri uji. Perbedaan sensitivitas bakteri gram positif dan negatif diduga berasal dari perbedaan morfologi struktur dinding sel keduanya. Hodges (2002) menerangkan bahwa bakteri gram negatif memiliki membran fosfolipida bagian luar yang menjaga struktur komponen lipopolisakarida nya sehingga dinding sel menjadi *impermeable* terhadap senyawa antibakteri. Hal ini menyebabkan dinding sel bakteri gram negatif dapat bertindak sebagai penghalang terjadinya difusi dan membuatnya kurang sensitif terhadap senyawa antibakteri dibandingkan bakteri gram positif.

Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat daun bandotan dan semua fraksi didalamnya memiliki spektrum luas karena mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif. Dari hasil penelitian juga diperoleh informasi bahwa ekstrak etil asetat dan fraksi 1-6 tergolong sebagai antibakteri yang memiliki aktivitas kuat karena menghasilkan rata-rata diameter zona hambat diatas 10 mm. Stout dalam Maryuni (2008) menjelaskan pengelompokan anti-bakteri berdasarkan luasan daya hambatnya ke dalam 4 kelompok, yaitu antibakteri dengan aktivitas rendah (<5 mm), sedang (6-10 mm), kuat (11-20 mm) dan sangat kuat (>20 mm). Namun demikian, zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak etil asetat dan fraksi yang terkandung didalamnya tidak sebesar daya hambat yang dihasilkan oleh kloramfenikol sebagai antibakteri standar. Kloramfennikol merupakan antibiotik aminoglikosida yang bersifat bakteriostatik dan berspektrum luas dengan mekanisme kerja yaitu mengganggu sintesis

protein pada bakteri (Schunack, 1990).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, diketahui bahwa ekstrak etil asetat dan fraksi-fraksi yang terkandung didalamnya memiliki aktivitas antibakteri berspektrum luas namun cenderung

lebih sensitif terhadap bakteri gram positif. Meskipun aktivitas anti-bakteri yang ditunjukkan lebih rendah dari kloramfenikol sebagai antibakteri standar, namun demikian ekstrak etil asetat dan sebagian besar fraksi-fraksi yang terkandung di dalamnya termasuk sebagai anti-bakteri dengan kategori aktivitas kuat.

DAFTAR PUSTAKA

- Almagboul *et al.*, 1985, antimicrobial activity of certain sudanese plant used in forcloric medicine: screening for antibacterial activity, part II, *Fitoterapia* 56:103-109.
- Hasim, 2005, Mengembangkan potensial bakteri bandotan. <http://www.kompas.com> [23 mei 2005].
- Hodges S, 2002, *Pharmaceutical aplication of microbiological techniques in: Pharmaceutics: The science of dosage desaign*, Aulton ME, Ed. 2nd. Edn. Harcourt Publisher Ltd. London.pp:606.
- Kamboj A, Saluja AK, 2008, *Ageratum conyzoides* L: A review on its phytochemical and pharmacological profile. *International journal of green pharmacy*: 59-68.
- Maryuni AE, 2008, Isolasi dan identifikasi senyawa antibakteri minyak atsiri daun zodia (*Evodia sp*) [tesis]. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Ming LC, 1999, *Ageratum conyzoides*: A trapiical source of medicinal and agricultural product. J.Janick, ASHS Press, Alexandria, VA.
- Mustafa *et al.*, 2005, Evaluation of wound healing of *Ageratum conyzoides* L. Extratct in combination with honey in rats as animal model. *International J of molecular and advance science* (1):406-410.
- Okwori *et al.*, 2007, Antibacterial activities of *Ageratum conyzoides* extract on selected baterial pathogens, *The internet journal of microbiology*TM ISSN:1937-8289.
- Oladejo OW *et al.*, 2003, Enhancemen of cutaneous wound healing by methanolic extract of *Ageratum conyzoides* in the wistar rat, *African Journal of biomedical research*, vol 6:27-31.

- Schunack W *et al.*, 1990, *Senyawa Obat* Ed.2, penerjemah: Watimena Jr & Soebito S, Yogyakarta: UGM Press.
- Sukamto, 2007, Bandotan *Ageratum conyzoides* tanaman multi fungsi yang menjadi inang potensial virus tanaman, Warta Puslitbangbun 13: Desember 2007.
- Widodo *et al.*, 2007, Isolation of antifungal and antibacterial compounds from etanol extract of *Ageratum conyzoides* Leaves (*Ageratum conyzoides* L), *Acta pharmaceutica* 31(2):86-88.
- Yamamoto *et al.*, 1991, Pharmacological sreening of *Ageratum conyzoides* L. (Mentrasto), *Mem Inst Oswaldo Cruz* (86):145-147.