

Testing of Antioxidant and Antibacterial Activity of Extracts and Fractions from Bandotan Leaves (*Ageratum conyzoides* L.) on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*

Uji Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak dan Hasil Fraksinasi Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*

Sumiyarni Harahap ^a, Ridwanto ^{a*}, Ainil Fithri Pulungan ^a, Zulmai Rani ^a

^a Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah, Medan, Sumatera Utara, Indonesia.

*Corresponding Authors: ridwanto@umnaw.ac.id

Abstract

Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) is a plant distributed worldwide, especially in tropical and subtropical regions. Bandotan can be used as a traditional medicine because it contains beneficial phytochemical compounds such as terpenoids, alkaloids, essential oils, saponins, and phenolics that play a role in inhibiting bacterial growth and serving as natural antioxidants. The objective of this research was to determine the antioxidant and antibacterial activity of the extract, n-hexane fraction, and ethyl acetate fraction from bandotan leaves. This research used an experimental method. It included antioxidant testing of the ethanol extract fractions of bandotan leaves (*Ageratum conyzoides* L.) using the DPPH method and antibacterial testing using *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria. The phytochemical screening results showed that bandotan leaves contain alkaloids, saponins, tannins, flavonoids, and glycosides. The antioxidant testing for DPPH radical scavenging revealed that the bandotan leaf extract had an IC₅₀ value of 499.3633 µg/ml, the n-hexane fraction had an IC₅₀ value of 945.7837 µg/ml, and the ethyl acetate fraction had an IC₅₀ value of 382.9216 µg/ml, all categorized as very weak antioxidants. Antibacterial testing indicated that the extract, n-hexane fraction, and ethyl acetate fraction of bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) exhibited antibacterial activity, inhibiting the growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, with strong activity at the highest concentration of 40% and moderate activity at the lowest concentration of 10%. In conclusion, bandotan leaves have very weak antioxidant activity due to the low content of flavonoids and strong antibacterial activity at 40% concentration and weak activity at 10% concentration.

Keywords: Bandotan Leaves, Extract, Fractionation, Antioxidant, Antibacterial.

Abstrak

Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) merupakan tanaman yang tersebar di seluruh dunia, khususnya daerah tropis dan subtropis. Bandotan dapat digunakan sebagai obat tradisional karena mengandung senyawa fitokimia yang bermanfaat seperti terpenoid, alkaloid, minyak atsiri, saponin dan fenolik yang berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan sebagai antioksidan alami. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ada aktivitas antioksidan dan antibakteri pada ekstrak, fraksi N-heksan dan etil asetat daun bandotan. Metode penelitian ini adalah eksperimental. Penelitian ini meliputi uji antioksidan hasil fraksi ekstrak etanol daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) dengan menggunakan metode dpph dan uji antibakteri dengan menggunakan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa daun bandotan mengandung golongan senyawa alkaloid, saponin, tanin, flavonoid dan glikosida. Hasil pengujian antioksidan dalam meredam radikal bebas DPPH menunjukkan bahwa ekstrak daun bandotan mempunyai nilai IC₅₀ sebesar 499,3633 µg/ml, fraksi n-heksan sebesar 945,7837 µg/ml dan hasil IC₅₀

pada etil asetat sebesar 382,9216 µg/ml dengan kategori antioksidan sangat lemah. Sedangkan hasil pengujian antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) memiliki aktivitas antibakteri karna dapat menghambat pertumbuhan bakteri *escherichia coli* dan *staphylococcus aureus* dengan kategori kuat pada konsentrasi paling tinggi yaitu 40% dan konsentrasi paling rendah 10% dengan kategori sedang. Kesimpulan daun bandotan memiliki aktivitas antioksidan dalam kategori sangat lemah dikarenakan senyawa flavonoid yang dikandung daun bandotan sangat sedikit dan memiliki aktivitas antibakteri dengan kategori kuat pada konsentrasi 40% dan kategori lemah pada konsentrasi 10%.

Kata Kunci: Daun Bandotan, Ekstrak, Fraksinasi, Antioksidan, Antibakteri.



Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **Adapt** (remix, transform, and build upon the material) under the following terms: **Attribution** — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; **NonCommercial** — You may not use the material for commercial purposes; **ShareAlike** — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. Content from this work may be used under the terms of the [Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International \(CC BY-NC-SA 4.0\) License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Article History:

Received: 07/09/2025,
Revised: 11/11/2025
Accepted: 12/11/2025
Available Online: 12/11/2025

QR access this Article



<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v8i4.1060>

Pendahuluan

Penyakit degeneratif sering dikaitkan dengan paparan radikal bebas pada tubuh manusia. Seiring dengan perkembangan penggunaan antioksidan yang pesat pada saat ini, tanaman yang mengandung fenolat yang memiliki aktivitas antioksidan banyak diteliti. Kandungan antioksidan pada tanaman bertindak sebagai radikal scavenger yang dapat membantu mengubah radikal bebas yang kurang reaktif. Antioksidan alami yang terdapat pada tanaman dapat berupa karotenoid, vitamin, flavonoid, dan fenol. Antioksidan tersebut saat ini menarik perhatian para peneliti karena adanya potensi dan efek terapi yang dimilikinya. Selain penyakit degeneratif, dunia juga dihadapkan pada tingginya tingkat resistensi mikroba patogen terhadap obat-obat antimikroba (*antimicrobial resistance*, AMR) yang telah menjadi masalah kesehatan mendunia dengan berbagai dampak merugikan dan menurunkan mutu pelayanan kesehatan [1]. Senyawa radikal bebas secara umum masuk kedalam tubuh dan menyerang senyawa nonradikal dan merusak sel-sel yang netral menjadi senyawa yang radikal. Kerusakan yang disebabkan oleh senyawa radikal tersebut bisa menyebabkan stress oksidatif yang berkontribusi terhadap beberapa penyakit seperti diabetes, kanker dan tumor. Selain itu juga menyebabkan penuaan dini [1].

Antioksidan dalam pangan berperan penting untuk mempertahankan mutu produk, mencegah ketengikan, perubahan nilai gizi, perubahan warna dan aroma, serta kerusakan fisik lain yang diakibatkan oleh reaksi oksidasi. Antioksidan yang dihasilkan tubuh manusia tidak cukup untuk melawan radikal bebas, untuk itu tubuh memerlukan asupan antioksidan dari luar. Selain mengandung antioksidan S. Cinereum memiliki sifat antibiotik atau antibakteri karena sebagian besar flavonoid yang terkandung dalam tanaman seperti epigalokatekin, katekin, miristin, dan kuersetin juga mempunyai aktivitas antimicrobial [2].

Infeksi bakteri dapat terjadi karena adanya bakteri yang masuk ke dalam aliran darah melalui mulut atau kulit. Sistem imunitas tubuh dapat dengan cepat bertindak ketika jumlah koloni bakteri yang masuk hanya sedikit dan dalam keadaan normal. Namun, infeksi serius bisa terjadi apabila jumlah koloni bakteri yang masuk ke dalam aliran darah dalam jumlah yang banyak dan bisa menyebabkan infeksi serius. Di Indonesia, jumlah penderita penyakit. infeksi bakteri masih cukup tinggi, yakni mencapai 50-70 %. Penyakit infeksi bakteri yang paling banyak disebabkan oleh bakteri gram positif yaitu 54,4% [3].

Bakteri *Escherichia coli* adalah bagian flora normal gastrointestinal manusia. Bakteri ini juga merupakan gram negatif yang bersifat pathogen. Bakteri *Escherichia coli* mempunyai peranan penting dalam tubuh manusia terutama di dalam usus besar yaitu dapat menghasilkan kolisin yang dapat melindungi saluran

pencernaan dari patogenik. *Escherichia coli* akan berubah menjadi pathogen apabila berpindah dari tempat habitat normalnya ke bagian lain dalam inangnya. Bakteri *Escherichia coli* juga dapat menyebar melalui debu yang terkontaminasi atau melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi dengan feses. *Escherichia coli* yang terdapat pada makanan dan minuman yang masuk ke dalam tubuh manusia dapat berbagai penyakit salah satunya penyakit diare. Bakteri yang sering menginfeksi dan termasuk penyebab penyakit menular tersering yakni diare yaitu *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* juga termasuk flora normal yang biasa ditemukan di daerah hidung dan kulit yang termasuk dalam bakteri gram positif. Beberapa penyakit karena *S. aureus* selain diare adalah impetigo, mastitis, meningitis dan pneumonia [4].

Metode DPPH (2,2-Diphenyl-1- Picrylhydrazyl) merupakan salah satu metode pengujian antioksidan dengan mengukur kapasitas antioksidan yang bereaksi langsung dengan radikal DPPH dengan melihat penurunan absorbansi pada panjang gelombang maksimum yang didapat dari reduksi oleh antioksidan. Metode ini memiliki kelebihan antara lain, mudah, cepat, dan hanya memerlukan sampel yang sedikit [5].

Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) merupakan tanaman yang tersebar di seluruh dunia, khususnya daerah tropis dan subtropis. Bandotan merupakan tanaman herba tahunan yang dapat tumbuh hingga satu meter. Batang dan daun tanaman ditutupi oleh bulu putih halus. Selain itu, bandotan memiliki banyak efek yang bermanfaat dalam pengobatan dan dapat digunakan dalam pencarian obat baru dari herba (Ashande et al. 2015). Tanaman ini juga kerap digunakan sebagai bahan pengobatan tradisional oleh masyarakat. Berdasarkan penelitian uji fitokimia pada daun, batang dan akar tanaman bandotan diketahui mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, triterpenoid, steroid, dan fenolik [6]. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Melissa & Muchtaridi (2020) daun, batang dan akar bandotan memiliki potensi sebagai antioksidan alami. Fenolik dan flavonoid merupakan senyawa antioksidan alami, semakin banyak senyawa tersebut maka aktivitas antioksidan akan semakin tinggi [6].

Bandotan dapat digunakan sebagai obat tradisional karena mengandung senyawa fitokimia yang bermanfaat seperti terpenoid, alkaloid, minyak atsiri, saponin dan fenolik yang berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Bandotan diketahui mempunyai aktivitas antihemorragik, antiseptik dan haemostatik. Beberapa penelitian lain menunjukkan bahwa bandotan dapat dijadikan bahan pengobatan untuk demam, rematik, sakit kepala, sakit perut, obat pneumonia, obat diare, diabetes, dan HIV/AIDS. Cara pemakaian tumbuhan ini biasanya dengan dikeringkan atau direbus jika untuk diminum. Cara lainnya dengan ditumbuk, lalu diperas dan diminum airnya. Jika ingin menggunakannya sebagai obat luar, herba segar bandotan dapat ditumbuk hingga halus, dicampurkan dengan sedikit minyak sayur dan dibubuhkan pada bagian yang luka. Air seduhan dari daun segar bandotan juga dapat digunakan untuk membasil mata, sakit perut dan mencuci luka [7].

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Sukandar 2022, mengidentifikasi senyawa fitokimia, sifat antioksidan dan sifat antibakteri pada rumput laut *Sargassum cinereum* terhadap bakteri patogen *Salmonella Thypi* dan *Staphylococcus Aureus* menggunakan pelarut yang berbeda kepolarannya yaitu heksana, etil asetat dan butanol [8]. Dimana hasil dari penelitian yang dilakukan adalah *S. Cinereum* mengandung komponen fitokimia seperti alkaloid, flavonoid, steroid dan triterpenoid, saponin dan fenolik, yang cukup tinggi. *S. Cinereum* mampu menjadi antioksidan alami dengan nilai IC_{50} fraksi etil asetat $129,682 \pm 0,80$, fraksi heksana $194,797 \pm 0,26$ dan fraksi butanol $400,535 \pm 0,75$ dan mampu menjadi antibakteri bagi bakteri patogen *Salmonella Thypi* pada fraksi butanol $26,5 \pm 3,53$ dan *Staphylococcus Aureus* pada fraksi etil asetat $21 \pm 2,82$. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Rajagukguk, W.N. (2021) skrining fitokimia dan uji antioksidan menggunakan air rebusan segar, sari segar, dan ekstrak etanol segar daun [9] bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) dengan metode DPPH menunjukkan hasil skrining fitokimia daun bandotan mengandung golongan senyawa alkaloid, saponin, tanin, flavonoid dan glikosida. Hasil pengujian antioksidan dalam meredam radikal bebas DPPH menunjukkan bahwa rebusan segar daun bandotan mempunyai nilai IC_{50} sebesar 443,704 ppm, sari segar dan bandotan mempunyai nilai IC_{50} sebesar 880,507 ppm, dan ekstrak etanol segar daun bandotan mempunyai nilai IC_{50} sebesar 379,381 ppm. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Farida Aryani, (2021) aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun bandotan (*ageratum conyzoides* L.) terhadap *escherichia coli*, *propionibacterium acnes*, dan *streptococcus sobrinus* menunjukkan hasil metabolit sekunder golongan flavonoid, saponin, tannin, dan steroid. Ekstrak etanol daun bandotan berpotensi sebagai bahan antibakteri dengan KHM pada *E. coli* antara 100-200 µg/well dan pada *P. acnes* dan *S. Sobrinus* di bawah 100 µg/well [10].

Berdasarkan latar belakang diatas maka, peneliti tertarik untuk menguji aktivitas antioksidan yang terkandung didalam daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) tersebut menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) dan menguji aktivitas antibakteri dengan menggunakan bakteri *Escherichia coli* dan

Staphylococcus aureus dari hasil ekstrak daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) dan hasil fraksinasi n-heksan dan etil asetat.

Metode Penelitian

Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan studi eksperimental in vitro yang dilaksanakan di Laboratorium Farmasi Terpadu, Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah, Medan. Kegiatan penelitian mencakup uji aktivitas antioksidan fraksi ekstrak etanol daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) menggunakan metode DPPH dan uji aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* serta *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi agar.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu bejana maserasi, gelas ukur (Pyrex), batang pengaduk, *waterbath* (maskot), timbangan analitik (vibra, vernier), oven, ayakan, vortex (B-one), autoklaf (B-one), *rotary evaporatory* (Eyela osb-2100, ser. No. 61012144), kurs porselin, tanur, incubator (memmert no seri 4040831), aluminium foil, kertas saring, corong (Pyrex), objek glass, corong pisah (Pyrex), botol steril, jangka sorong, kaki tiga, spirtus, cawan petri, *cotton bud*, mikropipet, jarum ose, kain kasa steril, kapas steil, *handscoon*, kertas label, tabung reaksi (Pyrex), rak tabung reaksi, beaker glass (Pyrex), Erlenmeyer (Pyrex), pipet tetes, belender, dan spektrofotometer UV-Vis (Thermo evolution 201).

Bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu , ekstrak etanol daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.), etanol 96% (Merck), n-Heksan (Merck), etil asetat (Merck), methanol (Merck), DMSO (*dimethyl sulfoxide*) (Merck), *Chloramphenicol* (Merck), *Nutrient agar* (NA) (Merck), *Muller Hinton Agar* (MHA) (Merck), iodium (Merck), kalium iodida (Merck), Raksa (II) klorida (Merck), bismut nitrat (Merck), asam nitrat P (Merck), asam klorida (Merck), alfa-nafto (Merck), asam asetat anhidrida (Merck), timbal (II) asetat (Merck), besi (III) klorida (Merck), kristal murni natrium hidroksida (Merck), asam sulfat (Merck), amil alcohol (Merck), isopropanol (Merck), aquadest, etanol p.a, Vitamin C p.a dan DPPH (Merck).

Pengumpulan dan Pengolahan Bahan Tumbuhan

Sampel daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) diperoleh secara purposif dari Desa Padang Hasior, Kecamatan Sihapas Barumun, Kabupaten Padang Lawas, Sumatera Utara, dan telah diidentifikasi di Herbarium Medanense (MEDA), Universitas Sumatera Utara. Daun yang terkumpul disortasi, dicuci dengan air mengalir, kemudian dikeringkan hingga kadar air berkurang. Sampel kering ditimbang, dihaluskan menggunakan blender, dan disimpan dalam wadah tertutup rapat yang terlindung dari paparan sinar matahari langsung [11].

Pembuatan Ekstrak Daun Bandotan

Sebanyak 1000 gram sampel daun bandotan dimaserasi dengan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1: 10. Masukkan serbuk simplisia dalam bejana dan dilarutkan dengan 75 bagian etanol didiamkan 5 hari dan dilakukan pengadukan disetiap harinya. Kumpulkan maserat I, endap tuang ampas dengan 25 bagian etanol lalu gabungkan maserat I dan II, diamkan selama 2 hari. Sampel kemudian disaring untuk mendapatkan filtrat setelah itu diuapkan dengan *rotary evaporatory* untuk mendapatkan ekstrak pekat. Timbang serta catat rendemen yang diperoleh. Penggunaan pelarut etanol 96% sebagai pelarut polar dikarenakan lebih aman dalam penanganan dibandingkan pelarut organik lainnya seperti aseton. Etanol terbukti memiliki aktivitas yang tinggi dalam menarik flavonoid dan fenolik, serta memiliki kandungan air yang lebih sedikit yaitu 4% sehingga memudahkan proses penguapan, dengan 5 kali pengulangan selama 1 × 24 jam [12].

Fraksinasi Pelarut n-Heksan

Ekstrak sebanyak 30 gram dimasukkan ke dalam gelas beaker dan dilarutkan dengan menambahkan 100 ml aquadest, dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan pelarut n-Heksan sebanyak 100 ml dan dikocok sampai merata dengan sekali-sekali membuka kran corong pisah. Selanjutnya didiamkan sampai terjadi pemisahan dari fase air dan fase n-Heksan. Fase air dan fase n-Heksan yang diperoleh kemudian ditampung dalam wadah terpisah. Fase air dimasukkan kembali ke dalam corong pemisah dan diekstraksi lagi

dengan n-Heksan sebanyak 100 ml dan dilakukan hingga jernih, kemudian diuapkan sampai diperoleh ekstrak kental [13].

Fraksinasi Pelarut Etil Asetat

Lapisan air dari hasil ekstraksi n-Heksan dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan dengan pelarut etil asetat sebanyak 100 ml dan dikocok sampai merata dengan sekali-sekali membuka kran corong pisah. Selanjutnya didiamkan sampai terjadi pemisahan dari fase air dan fase etil asetat. Fase air dan fase etil asetat yang diperoleh ditampung dalam wadah yang terpisah. Lalu lakukan hal yang sama seperti pada pelarut n- Heksan untuk memperoleh ekstrak kental [13].

Pembuatan Larutan Pereaksi

Berbagai pereaksi yang digunakan dalam uji fitokimia disiapkan sesuai prosedur standar yang tercantum dalam Farmakope Indonesia [12]. Pereaksi tersebut meliputi Bouchardat, Mayer, dan Dragendorff untuk identifikasi alkaloid; pereaksi Molisch untuk uji karbohidrat; pereaksi Liebermann-Burchard untuk sterol dan triterpenoid; serta larutan asam klorida 2 N, asam sulfat 2 N, asam nitrat 0,5 N, natrium hidroksida 2 N, timbal (II) asetat 0,4 M, dan besi (III) klorida 1% sebagai pereaksi pendukung. Semua larutan disiapkan dengan pelarut akuades bebas CO₂ dan disimpan dalam wadah tertutup untuk menjaga stabilitasnya.

Karakterisasi Simplisia

Karakterisasi simplisia daun bandotan dilakukan berdasarkan parameter standar yang meliputi penetapan kadar air, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut dalam air, dan kadar sari larut dalam etanol [12]. Penetapan kadar air dilakukan dengan metode azeotropi, sedangkan kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam ditentukan melalui proses pengabuan bertingkat. Penetapan kadar sari larut dalam air dan etanol dilakukan dengan metode maserasi dan penguapan hingga bobot tetap. Hasil penetapan tiap parameter dinyatakan dalam persen terhadap simplisia kering.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan terhadap simplisia, ekstrak, dan fraksi daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) untuk mengetahui kandungan metabolit sekundernya. Pemeriksaan alkaloid dilakukan menggunakan pereaksi Mayer, Bouchardat, dan Dragendorff, sedangkan flavonoid diuji dengan metode penambahan serbuk Mg dan HCl pekat. Kandungan tanin ditentukan menggunakan pereaksi FeCl₃, sementara saponin diuji melalui pembentukan busa yang stabil. Identifikasi steroid dan triterpenoid dilakukan dengan pereaksi Liebermann–Burchard, sedangkan glikosida diuji menggunakan pereaksi Molisch dengan penambahan asam sulfat pekat. Seluruh prosedur skrining dilakukan berdasarkan metode standar dari Depkes RI (1995) [12].

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Bandotan dengan Metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-picrylhidrazil) dengan prinsip penangkapan radikal bebas, diukur menggunakan spektrofotometri sinar tampak pada panjang gelombang 400–800 nm. Metode ini didasarkan pada pengukuran absorbansi larutan DPPH dalam metanol sebelum dan sesudah penambahan sampel uji, sehingga diperoleh persen inhibisi sebagai indikator kemampuan meredam radikal bebas. Nilai IC₅₀ (konsentrasi sampel yang mampu meredam 50% radikal bebas) digunakan sebagai parameter aktivitas antioksidan [14]. Larutan induk DPPH dibuat dengan melarutkan 10 mg DPPH dalam metanol hingga 50 ml (200 ppm) [15]. Selanjutnya, penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan mengukur absorbansi larutan DPPH 40 ppm pada panjang gelombang 400–800 nm untuk memperoleh panjang gelombang maksimum [16]. Penentuan operating time dilakukan dengan mengukur absorbansi larutan DPPH 40 ppm pada panjang gelombang maksimum setiap menit hingga 60 menit, untuk menentukan waktu pengukuran yang stabil [16].

Sebagai larutan pembanding, vitamin C digunakan karena memiliki aktivitas antioksidan tinggi akibat keberadaan dua gugus hidroksil. Sebanyak 25 mg vitamin C dilarutkan dalam metanol hingga 25 ml (1000 ppm), kemudian diencerkan bertingkat menjadi 200 ppm dan selanjutnya dibuat seri pengenceran pada konsentrasi 1–5 ppm [15]. Larutan sampel ekstrak, fraksi n-heksan, dan fraksi etil asetat dibuat dengan melarutkan 50 mg masing-masing sampel dalam metanol hingga 50 ml (1000 ppm), lalu diencerkan menjadi seri konsentrasi 100–500 ppm. Dari masing-masing pengenceran diambil 1–5 ml, ditambahkan 2 ml larutan DPPH 200 ppm, dan dicukupkan dengan metanol hingga 10 ml. Campuran diinkubasi pada suhu 37°C selama

30 menit, kemudian absorbansi diukur pada panjang gelombang 515 nm untuk menghitung persen inhibisi dan memperoleh nilai IC_{50} [15]. Persentase inhibisi dihitung dengan rumus $\% \text{ inhibisi} = (A_0 - A_s)/A_0 \times 100\%$, di mana A_0 adalah absorbansi DPPH tanpa sampel dan A_s adalah absorbansi DPPH dengan sampel. Nilai IC_{50} diperoleh dari persamaan regresi linear $Y = a + bx$ dengan Y sebagai persen inhibisi, x konsentrasi sampel ($\mu\text{g/ml}$), a gradien, dan b konstanta. Nilai IC_{50} dihitung dengan persamaan $x = (50 - a)/b$, yang menunjukkan konsentrasi sampel yang mampu meredam radikal bebas sebesar 50%.

Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan metode difusi cakram. Seluruh peralatan gelas disterilisasi menggunakan oven pada suhu 170°C selama ± 2 jam, sedangkan media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Jarum ose dan pinset disterilisasi melalui pembakaran langsung [17]. Media Nutrient Agar (NA) disiapkan dengan melarutkan 23 g serbuk NA dalam 1 L akuades, kemudian disterilisasi dalam autoklaf [16]. Standar kekeruhan dibuat menggunakan larutan McFarland dengan mencampurkan 99,5 ml H_2SO_4 0,36 N dan 0,5 ml larutan $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1,175% hingga terbentuk suspensi keruh [18].

Isolat bakteri diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara. Stok kultur bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dibuat dengan menginokulasi koloni tunggal pada media NA, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C [19]. Suspensi bakteri kemudian dibuat dalam larutan NaCl fisiologis 0,9% dan disesuaikan kekeruhannya dengan standar McFarland [19].

Uji antibakteri dilakukan menggunakan ekstrak etanol, fraksi n-heksana, dan fraksi etil asetat daun bandotan dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, dan 40%. Sebagai kontrol negatif digunakan DMSO, sedangkan kontrol positif berupa antibiotik kloramfenikol. Media Mueller Hinton Agar (MHA) dituangkan ke dalam cawan petri (20 ml), dibiarkan memadat, kemudian diinokulasi dengan suspensi bakteri menggunakan *cotton swab* steril.

Sebanyak 20 μL dari masing-masing larutan sampel (dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, dan 40% b/v dalam DMSO) diimpregnasi secara aseptik ke cakram kertas steril berdiameter 6 mm. Cakram kemudian dikeringkan pada suhu ruang sebelum ditempatkan di atas permukaan media menggunakan pinset steril. Kontrol positif menggunakan cakram kloramfenikol 30 $\mu\text{g/disk}$, sedangkan kontrol negatif berupa DMSO. Seluruh perlakuan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18–24 jam. Aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat di sekitar cakram, yang kemudian diukur menggunakan jangka sorong [19].

Hasil Dan Pembahasan

Hasil Identifikasi Tumbuhan

Tanaman daun bandotan yang digunakan dalam penelitian ini di determinasi di Herbarium Medanese Universitas Sumatera Utara, Medan. Hasil determinasi tanaman dari Herbarium Medanese diketahui bahwa jenis tanaman daun bandotan adalah family *Asteraceae*, genus *Ageratum* dan spesies *Ageratum conyzoides* L.

Hasil Ekstraksi dan Fraksinasi

Penelitian ini menggunakan metode maserasi satu tahap dengan pelarut organik. Metode maserasi dipilih karena dapat mengekstraksi senyawa aktif dengan baik melalui perendaman tanpa pemanasan sehingga dapat menghindari kerusakan komponen senyawa yang labil dan tidak tahan panas. Adanya sistem perendaman ini maka pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam sel yang mengandung zat aktif. Maka zat aktif yang terdapat dalam sel akan larut dalam pelarut. Pelarut etanol digunakan karena etanol merupakan pelarut yang mampu mengikat semua komponen kimia yang terdapat pada tumbuhan bahan alam, baik yang bersifat non polar, semi polar, dan polar. Etanol adalah pelarut yang bersifat universal, merupakan cairan penyari yang mudah masuk kedalam sel melewati dinding sel bahan, sehingga metabolit sekunder yang terdapat dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut dan senyawa akan terekstraksi sempurna [20]. Hasil ekstraksi daun bandotan menghasilkan 51,611 gram ekstrak dengan rendemen sebesar 5,16% dari 1000 gram sampel. Rendemen yang relatif rendah ini diduga disebabkan oleh tingginya kandungan serat pada daun bandotan sehingga jumlah senyawa yang terekstraksi terbatas [13]. Ekstrak etanol selanjutnya difraksinasi cair-cair menggunakan pelarut non-polar (n-heksan) dan semi-polar (etil asetat) untuk memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya [13]. Hasil fraksinasi menunjukkan bahwa rendemen fraksi n-heksan lebih tinggi (80,63%) dibandingkan fraksi etil asetat (34,61%). Perbedaan ini

disebabkan oleh dominasi senyawa non-polar dalam daun bandotan yang lebih mudah larut dalam pelarut n-heksan dibandingkan dengan etil asetat yang bersifat semi-polar [13].

Hasil Karakterisasi Simplisia Daun Bandotan

Karakterisasi suatu simplisia perlu dilakukan karena untuk menjamin mutu dari simplisia tersebut. Karakterisasi simplisia ini meliputi makroskopik, mikroskopik, kadar air, kadar sari larut dalam etanol, kadar sari larut air, kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam. Karakterisasi ini dilakukan sesuai prosedur yang ditetapkan dalam literatur *Materia Medika Indonesi (MMI)* edisi V. Hasil pemeriksaan karakterisasi simplisia daun bandotan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengamatan Makroskopik Daun Bandotan

No	Parameter Organoleptis	Keterangan
1	Bentuk	Menyirip bergerigi, Panjang 6,2 cm
2	Warna	Hijau
3	Bau	Khas
4	Rasa	Agak pahit

Hasil uji mikroskopik pada serbuk simplisia daun bandotan didapatkan adanya fragmen yang ditemukan seperti, stomata, mesofil, sel sekresi, rambut penutup, tetes minyak, xylem, floem, parenkim, pembuluh kayu dan epidermis atas dan epidermis bawah. Hasil uji mikroskopik dapat dilihat pada Lampiran 21.

Hasil karakterisasi simplisia daun bandotan dapat dilihat pada table berikut :

Tabel 2. Hasil Karakterisasi Simplisia daun bandotan

No	Parameter	Rata-rata (%)	Persyaratan MMI (%)
1	Kadar air	6	≤10
2	Kadar sari larut dalam air	79,5	≥27
3	Kadar sari larut dalam etanol	62,87	≥41
4	Kadar abu total	11	≤13
5	Kadar abu tidak larut asam	0,816	≤2,5

Pada tabel 2 menunjukkan hasil penetapan kadar air dilakukan bertujuan untuk memberikan batasan maksimal atau rentang besarnya kadungan air yang terdapat di serbuk simplisia tersebut. Kadar air yang diperoleh telah memenuhi persyaratan FHI edisi II, yakni tidak lebih dari 10%. Apabila kadar air simplisia lebih besar dari 10% maka simplisia tersebut akan mudah ditumbuhi jamur atau kapang pada saat penyimpanan sehingga mutu simplisia yang dihasilkan akan lebih cepat menurun. Hasil rata-rata dari penetapan kadar air simplisia daun bandotan diperoleh 6% , sehingga nilai ini sesuai dengan literatur *Farmakope Herba Indonesia* edisi II yaitu tidak lebih dari 10% yang merupakan nilai maksimal yang diperoleh terkait dengan kemurnian dan kontaminasi yang mungkin terjadi.

Pada pengujian kadar sari larut dalam air serbuk simplisia daun bandotan didapatkan rata-rata persentase kadar 79,5%, sedangkan pada pengujian kadar sari larut dalam etanol didapatkan rata-rata persentase kadar 62,87%. Hasil pengujian kadar sari menunjukkan bahwa simplisia daun bandotan lebih banyak mengandung senyawa yang larut dalam air daripada larut dalam etanol. Penetapan kadar sari larut dalam air dilakukan untuk mengetahui kadar senyawa yang bersifat polar sedangkan kadar sari larut dalam etanol untuk mengetahui senyawa yang terlarut dalam etanol baik polar maupun non polar. Kadar sari yang larut dalam air lebih besar daripada kadar sari larut dalam etanol karena senyawa polar lebih banyak terlarut dalam air.

Pada pengujian kadar abu total serbuk simplisia daun bandotan diperoleh persentase kadar sebesar 11% dan pada pengujian kadar abu tidak larut asam diperoleh persentase kadar sebesar 0,816%. Penetapan kadar abu total bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal (abu fisiologis) dan eksternal dari proses awal hingga terbentuknya ekstrak berasal dari jaringan tanaman itu sendiri, dan eksternal (abu non-fisiologis) yang merupakan residu dari luar seperti pasir dan tanah yang terdapat didalam sampel (Ditjen POM; WHO, 1992). Sedangkan penetapan kadar abu tidak larut asam bertujuan untuk mengetahui

besarnya tingkat zat pengotor yang tercampur pada serbuk saat preparasi simplisia khususya pasir yang ada pada simplisia dengan cara melarutkan abu total dalam asam klorida (Hanjdayani dkk, 2017).

Hasil Skrining Serbuk Simplisia, Ekstrak, dan Fraksi Daun Bandotan

Pengujian ini dilakukan di Laboratorium Botani UMN Al-Washliyah Medan untuk mengetahui senyawa atau metabolit sekunder yang terdapat dalam sampel dengan cara menambahkan beberapa bahan kimia sehinggadapat diidentifikasi dengan adanya perubahan warna pada sampel. Hasil skrining fitokimia serbuk simplisia, ekstrak, dan fraksi daun bandotan dapat di lihat dari Table 5 berikut:

Tabel 3. Hasil Skrining Fitokimia Daun Bandotan

No	Parameter	Hasil			
		Simplisia	Ekstrak	N-Heksan	Etil Asetat
1	Alkaloid	+	+	+	+
2	Flavonoid	+	+	+	+
3	Tanin	+	+	+	+
4	Saponin	+	+	+	+
5	Steroid/Triterpenoid	+	+	+	+
6	Glikosida	+	+	+	+

Keterangan: (+) mengandung senyawa
(-) tidak mengandung senyawa

Berdasarkan tabel 3, menunjukkan hasil dari skrinning fitokimia serbuk simplisia, ekstrak, fraksi n-heksan dan etil asetat daun bandotan terdapat adanya golongan senyawa kimia metabolit sekunder yang sama. Pada pengujian senyawa alkaloid pada serbuk simplisia, ekstrak, fraksi n-heksan dan etil asetat daun bandotan menunjukkan hasil positif karena terbentuk endapan menggumpal berwarna putih pada pereaksi mayer, sedangkan pada pereaksi bouchardat terbentuk endapan berwarna hitam, dan pada pereaksi dragendroff tidak terbentuk endapan merah-jingga. Hal ini menunjukkan bahwa serbuk simplisia, ekstrak, fraksi n-heksan dan etil asetat daun bandotan memiliki senyawa golongan alkaloid.

Pada pemeriksaan senyawa golongan flavonoid pada penambahan asam klorida pekat pada serbuk Mg dan amil alkohol terbentuk warna merah-jingga pada serbuk simplisia, ekstrak, fraksi n-heksan dan etil asetat daun bandotan menunjukkan adanya pembentukan warna merah-jingga pada lapisan alkohol. Hal ini menunjukkan pada serbuk simplisia, ekstrak, fraksi n-heksan dan etil asetat daun bandotan terdapat flavonoid. Perubahan warna yang terjadi disebabkan adanya reaksi reduksi oleh Mg yang dilakukan pada suasana asam dengan penambahan HCl (Leonardy et al., 2015). Pada pemeriksaan senyawa golongan tanin pada serbuk simplisia, ekstrak, fraksi n-heksan dan etil asetat daun bandotan terdapat adanya perubahan warna hijau kehitaman. Hal ini menunjukkan bahwa pada serbuk simplisia, ekstrak, fraksi n-heksan dan etil asetat daun bandotan positif terdapat senyawa tannin. Pada pemeriksaan senyawa golongan saponin pada serbuk simplisia, ekstrak, fraksi n-heksan dan etil asetat daun bandotan terlihat adanya busa yang stabil setelah pemberian asam klorida, yang tidak hilang kurang dari 10 menit, dan setinggi 1-10 cm.

Pada pemeriksaan senyawa golongan tritepernoid/steroid pada serbuk simplisia dan fraksi n-heksan daun bandotan menunjukkan hasil positif dengan ditandai dengan terbentuknya warna biru hijau pada steroid dan terbentuk warna ungu sampai merah ungu pada triterpenoid, sedangkan ekstrak dan fraksi etil asetat daun bandotan hanya positif triterpenoid dengan terbentuknya warna ungu sampai merah ungu.

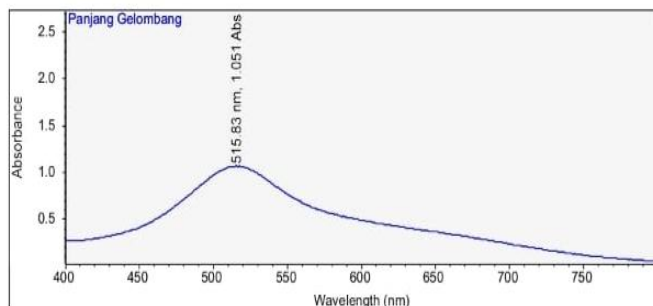
Pada pemeriksaan senyawa golongan glikosida pada serbuk simplisia, ekstrak, fraksi n-heksan dan etil asetat daun bandotan menunjukkan hasil yang positif, yaitu ditandai dengan terbentuknya cincin berwarna ungu. Hal ini menunjukkan bahwa pada serbuk simplisia, ekstrak, fraksi n-heksan dan etil asetat daun bandotan terdapat golongan senyawa glikosida.

Hasil Analisis Aktivitas Daun Bandotan Metode DPPH

Hasil uji aktivitas antioksidan daun bandotan dengan metode pemerangkapan 2,2-difenil-1-picrylhidrazil (DPPH) secara spektrofotometer Visibel dilakukan pengukuran pada Panjang gelombang 515 nm, termasuk dalam kisaran Panjang gelombang sinar tampak (400-800).

Hasil Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum

Pengukuran serapan maksimum larutan DPPH dengan konsentrasi 40 ppm dalam metanol menggunakan spektrofotometri Visibel. Kurva serapan panjang gelombang maksimum dapat dilihat pada gambar 1.

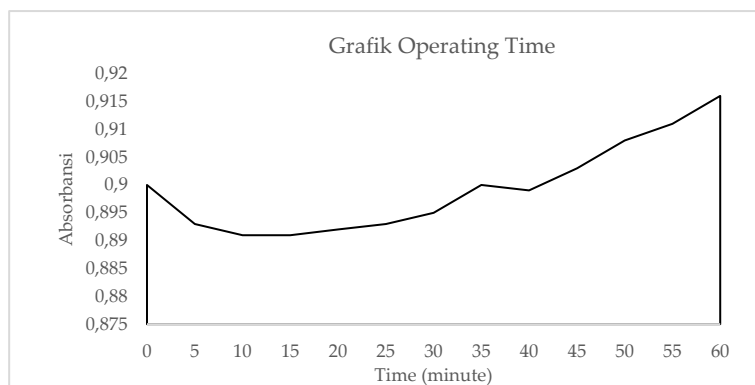


Gambar 1. Kurva serapan maksimum DPPH (40 ppm)

Hasil pengukuran menunjukkan bahwa larutan DPPH 40 ppm dalam metanol menghasilkan serapan maksimum pada Panjang gelombang 515 nm. Panjang gelombang 515 nm, termasuk dalam kisaran Panjang gelombang sinar tampak 400-800 nm, serta termasuk dalam rentang Panjang gelombang DPPH yang berkisar antara 515-520 nm.

Hasil Penentuan *Operating Time*

Operating time adalah waktu yang tepat untuk mengetahui serapan larutan yang diperiksa pada saat serapan stabil pada kurva *operating time*. Sampel yang digunakan berwarna sehingga dapat diketahui pada menit beberapa terjadi kestabilan yaitu pada saat perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning, dengan menggunakan larutan DPPH 2 ml dalam metanol dengan konsentrasi 40 ppm diukur selama 60 menit sudah menunjukkan kestabilan pada menit ke 10 sampai dengan menit ke 15.



Gambar 2. Grafik *Operating Time* DPPH

Hasil Analisis Aktivitas Antioksidan

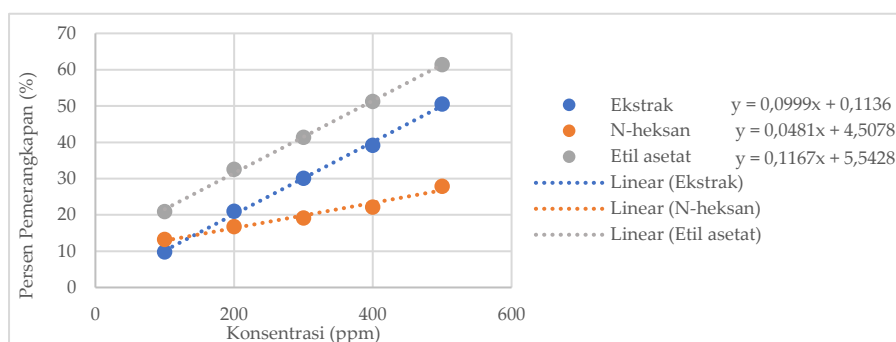
Kemampuan antioksidan diukur pada menit ke-10 penurunan serapan larutan DPPH (peredaman radikal bebas) akibat penambahan larutan uji dengan konsentrasi 100 ppm, 100 ppm, 300 ppm, 400 ppm dan 500 ppm yang dibandingkan dengan kontrol DPPH. Pada hasil analisis aktivitas antioksidan terlihat adanya penurunan nilai absorbansi DPPH sebanding dengan peningkatan konsentrasi larutan uji ekstrak, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat. Penurunan absorbansi DPPH dan persen pemerangkapan dengan penambahan ekstrak, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4 dapat dilihat bahwa adanya kenaikan persen pemerangkapan pada DPPH yang diberi ekstrak, fraksi n-heksan dan etil asetat daun bandotan sebagai pembanding dalam metanol pada setiap kenaikan konsentrasi. Persen perendaman terjadi karena adanya senyawa yang bereaksi sebagai penangkal radikal yang akan mereduksi DPPH yang tereduksi. Reaksi ini diamati dengan adanya perubahan warna pada DPPH dari ungu menjadi kuning Ketika elektron ganjil dari radikal DPPH telah berpasangan dengan hidrogen dari senyawa penangkap radikal bebas. Keberadaan antioksidan dalam tumbuhan akan menetralkan radikal

DPPH dengan memberikan elektron kepada DPPH, menghasilkan perubahan warna dari ungu menjadi kuning atau intensitas warna ungu larutan jadi berkurang. Penghilang warna akan sebanding dengan jumlah elektron yang diambil oleh DPPH sehingga dapat diukur secara spektrofotometri. Demikian pula dengan pembanding vitamin C, memiliki nilai absorbansi yang lebih kecil dibandingkan nilai absorbansi ekstrak, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat daun bandotan, hal ini dikarenakan vitamin C merupakan senyawa antioksidan kuat, sehingga nilai absorbansi yang diperoleh juga semakin kecil seiring dengan bertambahnya konsentrasi vitamin C. Hasil pada gambar 4 terdapat hubungan antara konsentrasi vitamin C dengan DPPH yang menghasilkan persen pemerangkapan pada vitamin C.

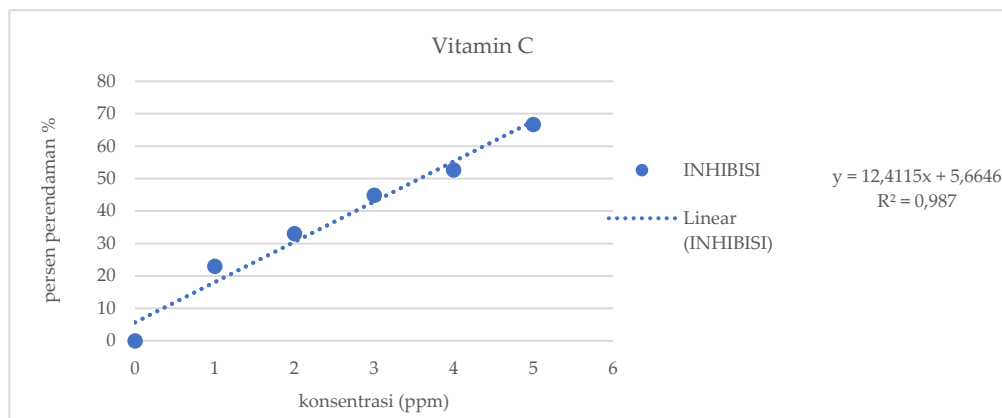
Tabel 4. Persen Pemerangkapan DPPH oleh Ekstrak, Fraksi N-heksan dan Fraksi Etil Asetat Daun Bandotan dan Kontrol Positif Vitamin C

Larutan Uji	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Pemerangkapan
Ekstrak Daun Bandotan	0	0,940	0
	100	0,848	9,7872
	200	0,743	20,9574
	300	0,657	30,1063
	400	0,572	39,1489
	500	0,465	50,5319
Fraksi N-heksan Daun Bandotan	0	0,997	0
	100	0,865	13,2397
	200	0,830	16,7502
	300	0,806	19,1574
	400	0,776	22,1664
	500	0,719	27,8836
Fraksi Etil Asetat Daun Bandotan	0	0,999	0
	100	0,790	20,9209
	200	0,674	32,5325
	300	0,586	41,3413
	400	0,487	51,2512
	500	0,386	61,3613
Vitamin C	0	0,997	0
	1	0,768	22,9689
	2	0,668	32,9989
	3	0,550	44,8345
	4	0,472	52,6579
	5	0,332	66,7001



Gambar 3. Hubungan antara konsentrasi dengan persen perendaman pada ekstrak, fraksi n-heksan dan etil asetat daun bandotan

Hasil data yang diperoleh menunjukkan bahwa nilai absorbansi DPPH semakin berkurang seiring dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat daun bandotan. Hal ini dapat dilihat pada Gambar Hubungan Absorbansi DPPH Dengan Konsentrasi Ekstrak, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat daun bandotan dan Vitamin C hal ini terjadi oleh karena adanya reduksi radikal DPPH oleh antioksidan, semakin tinggi konsentrasi ekstrak, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat daun bandotan maka partikel-partikel senyawa antioksidan yang terkandung akan semakin banyak sehingga semakin besar pula aktivitas antioksidannya dan menyebabkan absorbansinya semakin berkurang [21].



Gambar 4. Hubungan antara konsentrasi dengan persen pemerangkapan pada vitamin C.

Hasil Analisis Nilai IC₅₀ (*Inhibitory Concentration*)

Nilai IC₅₀ diperoleh berdasarkan perhitungan persamaan regresi dengan cara memplot konsentrasi larutan uji dan % perdaman DPPH sebagai parameter aktivitas antioksidan, konsentrasi sampel (ppm) sebagai absis (sumbu X) dan nilai % inhibisi sebagai ordinat (sumbu Y). Hasil persamaan regresi linear dan hasil analisis nilai IC₅₀ yang diperoleh dari ekstrak, fraksi n-heksan dan etil asetat daun bandotan dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil Persamaan Regresi Linier dan Hasil Analisis IC₅₀ dari Ekstrak, Fraksi N-heksan, Etil asetat Daun Bandotan dan Vitamin C

Larutan Uji	Persamaan Regresi	IC ₅₀ (µg/ml)
Ekstrak Daun Bandotan	$Y = 0,0999X + 0,1136$	499,3633
Fraksi N-heksan Daun Bandotan	$Y = 0,0481X + 4,5078$	945,7837
Fraksi Etil Asetat Daun Bandotan	$Y = 0,1161X + 5,5428$	382,9216
Vitamin C	$Y = 12,4115X + 5,6646$	3,5721

Hasil tabel 5, menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ ekstrak, fraksi n-heksan dan etil asetat daun bandotan memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori sangat lemah. nilai yang diperoleh fraksi etil asetat lebih baik dari pada ekstrak dan fraksi n-heksan, dengan persamaan regresi fraksi etil asetat $y = 0,0481x + 4,5078$ dan nilai IC₅₀ sebesar 382,9216 µg/ml, dengan kategori antioksidan sangat lemah. Kontrol positif yang digunakan adalah vitamin C dengan persamaan regresi $y = 12,4115x + 5,6646$ dan nilai IC₅₀ yang didapatkan 3,5721 µg/ml dengan kategori sangat kuat.

Hasil uji aktivitas antioksidan dari ekstrak daun bandotan bahwa nilai IC₅₀ pada ekstrak, fraksi n-heksan dan etil asetat daun bandotan menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat lemah dibandingkan dengan asam askorbat (vitamin C) karena aktivitas antioksidan dilihat dari nilai IC₅₀, semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin besar aktivitas antioksidannya Berdasarkan nilai IC₅₀ yang diperoleh dapat dijelaskan bahwa ekstrak, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat daun bandotan termasuk antioksidan sangat lemah dibandingkan dengan vitamin C yang digunakan sebagai kontrol positif. Senyawa flavonoid yang terdapat pada ekstrak, fraksi n-heksan dan etil asetat daun bandotan sangat sedikit. Hal ini bisa dilihat dari nilai IC₅₀ untuk ekstrak daun bandotan yang diperoleh yaitu 499,3633 µg/ml, nilai IC₅₀ untuk fraksi n-heksan daun bandotan yang diperoleh yaitu 945,7837 µg/ml, dan nilai IC₅₀ fraksi etil asetat daun bandotan yang diperoleh yaitu 382,9216 µg/ml. Hal ini juga menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan lebih baik jika dibandingkan

ekstrak etanol dan fraksi lain yang mana kemungkinan senyawa yang berperan sebagai antioksidan lebih bersifat semi polar sehingga lebih banyak terekstrak pada pelarut etil asetat. Hasil uji skrining fitokimia pada fraksi etil asetat yang diketahui positif adalah flavonoid. Pada penelitian yang dilakukan Wijayanti et al (2023) bahwa ekstrak etanol batang bandotan (*Ageratum conyzoides*) mengandung senyawa flavonoid dan fenolik. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol batang bandotan (*Ageratum conyzoides*) sangat lemah dengan nilai IC_{50} sebesar 237.096 ppm.

Pada penelitian yang dilakukan Rajagukguk, W.N. (2021) bahwa hasil skrining fitokimia daun bandotan mengandung golongan senyawa alkaloid, saponin, tanin, flavonoid dan glikosida. Hasil pengujian antioksidan dalam meredam radikal bebas DPPH menunjukkan bahwa rebusan segar daun bandotan mempunyai nilai IC_{50} sebesar 443,704 ppm, sari segar dan bandotan mempunyai nilai IC_{50} sebesar 880,507 ppm, dan ekstrak etanol segar daun bandotan mempunyai nilai IC_{50} sebesar 379,381 ppm.

Senyawa flavonoid bertindak sebagai antioksidan karena mereka memiliki gugus hidroksil yang dapat melepaskan proton dalam bentuk ion hidrogen. Ion hidrogen hanya memiliki satu proton dan tidak memiliki elektron, sehingga atom nitrogen dalam senyawa DPPH akan berikatan dengan ion hidrogen yang disumbangkan dari senyawa flavonoid sampel. Aktivitas antioksidan yang ditunjukkan oleh ekstrak dan fraksi n-heksan lebih rendah jika dibandingkan dengan aktivitas antioksidan fraksi etil asetat. Senyawa flavonoid juga terdapat dalam ekstrak namun tidak sebanyak pada fraksi etil asetat. Fraksi n-heksan dengan nilai IC_{50} paling rendah mengandung senyawa flavonoid juga, namun senyawa yang paling banyak larut pada n-heksan adalah jenis senyawa non polar seperti lemak, lilin dan minyak [13].

Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

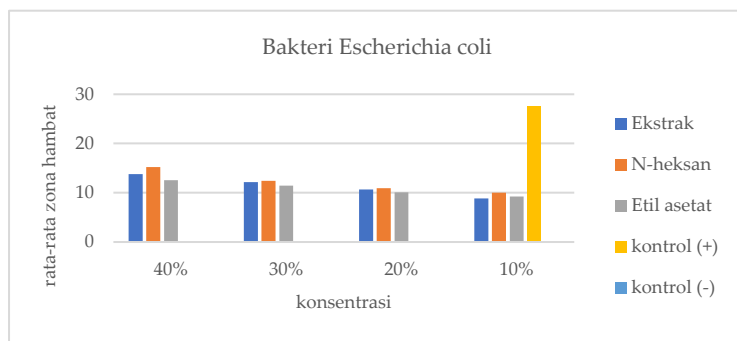
Pengujian antibakteri ekstrak, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram. Hal ini untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh ekstrak, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Media agar yang digunakan dalam penelitian ini adalah media *Muller Hinton Agar* (MHA) karena media ini telah terbukti memberikan hasil yang baik. Media *Muller Hinton Agar* (MHA) mempunyai kandungan pepton kasein, pati dimana Muller Hinton adalah media uji sensitivitas antibiotik untuk bakteri-bakteri yang mudah tumbuh seperti bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Tabel 6. Hasil Uji Antibakteri Ekstrak, Fraksi n-heksan dan Etil asetat terhadap bakteri *Escherichia coli*

Sampel uji	Konsentrasi (%)	Zona hambat (mm) pengulangan			Rata-rata (mm)	kategori
		1	2	3		
Ekstrak	40	13,9	12,7	14,8	13,8	Kuat
	30	11,3	12,4	12,8	12,16	Kuat
	20	11	10,2	10,8	10,66	Kuat
	10	9,6	8,8	8,2	8,86	Sedang
Fraksi n-heksan	40	16,1	13,7	15,9	15,23	Kuat
	30	12,6	11,2	13,4	12,4	Kuat
	20	9,7	11	12	10,9	Kuat
	10	9,2	10,5	10,3	10	Kuat
Fraksi etil asetat	40	12,5	12,3	12,9	12,56	Kuat
	30	11,8	11,2	11,5	11,43	Kuat
	20	10,2	10,1	10	10,1	Kuat
	10	9,5	9,2	9	9,23	Sedang
Kontrol positif Kloramfenikol	30	27,3	28,1	27,1	27,5	Sangat kuat
Kontrol negatif DMSO	10	0	0	0	0	Lemah

Pada pembuatan media agar miring digunakan media *Nutrien Agar* (NA). Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* ditumbuhkan pada media agar miring *Nutrien Agar* (NA) yang selanjutnya digunakan untuk pembuatan suspensi bakteri. Bakteri diinokulasi pada media agar *Nutrien Agar* (NA). Pengujian aktivitas antibakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* terhadap ekstrak, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat daun bandotan dilakukan dengan empat konsentrasi yaitu konsentrasi 10%, konsentrasi 20%,

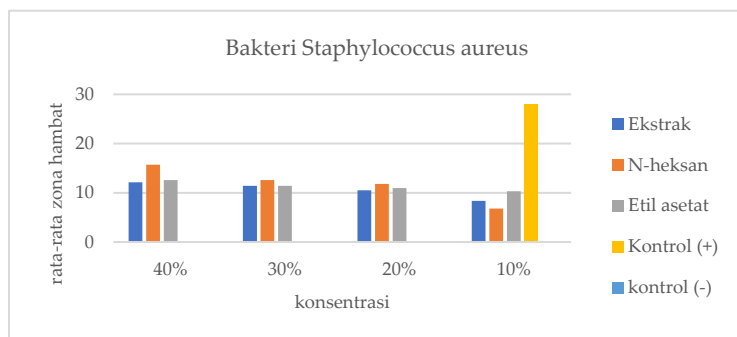
konsentrasi 30%, dan konsentrasi 40% dengan dua kontrol sebagai pembanding yaitu kontrol positif menggunakan khloramphenikol karena termasuk dalam golongan antibiotik berspektrum luas yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif [22]. Hasil pengukuran zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada (Tabel 6) dan hasil pengukuran zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada (Tabel 7) sebagai berikut:



Gambar 5. Kurva Antibakteri Terhadap *Escherichia coli*.

Tabel 7. Hasil Uji Antibakteri Ekstrak, Fraksi n-heksan dan Etil asetat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Sampel uji	Konsentrasi (%)	Zona hambat (mm) pengulangan			Rata-rata (mm)	kategori
		1	2	3		
Ekstrak	40	10,3	13,5	12,7	12,16	Kuat
	30	9,3	12,9	12,1	11,43	Kuat
	20	8,4	11,6	11,6	10,53	Kuat
	10	7,8	8,4	8,9	8,36	Sedang
Fraksi n-heksan	40	14,2	17,1	15,8	15,7	Kuat
	30	12,31	12,5	13	12,6	Kuat
	20	11,7	11,5	12,3	11,83	Kuat
	10	6,8	7	6,7	6,83	Sedang
Fraksi etil asetat	40	12,8	12,2	12,7	12,56	Kuat
	30	11	11,6	11,7	11,43	Kuat
	20	10,5	11,11	11,3	10,96	Kuat
	10	10	10,7	10,2	10,3	Kuat
Kontrol positif Kloramfenikol	30	27,4	27,6	28,9	27,96	Sangat kuat
Kontrol negatif DMSO	10	0	0	0	0	Lemah



Gambar 5. Kurva Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus*

Hasil pengujian yang tercantum dalam tabel 6 dan 7 menunjukkan bahwa ekstrak, fraksi n-heksan dan etil asetat dari daun bandotan memiliki aktivitas antibakteri terhadap dua jenis bakteri, yaitu bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*) dan bakteri gram negatif (*Escherichia coli*). Dalam penelitian ini, digunakan ekstrak, fraksi n-heksan dan etil asetat, ketiga larutan ini memiliki tingkat polaritas yang berbeda. Sebagai

kontrol negatif, digunakan DMSO karena DMSO tidak memiliki efek antibakteri. DMSO memiliki kemampuan larut baik untuk senyawa polar maupun nonpolar, serta dapat melarutkan dalam berbagai jenis pelarut organik. Kontrol positif yang digunakan adalah kloramfenikol, antibiotik spektrum luas yang bersifat bakteristatik. Kloramfenikol bekerja dengan cara menghambat sintesis protein melalui peningkatan subunit 50S pada ribosom [19].

Berdasarkan hasil penelitian di atas, terlihat bahwa fraksi n-heksan memiliki efek penghambatan yang lebih kuat dibandingkan fraksi etil asetat, meskipun perbedaan dalam efek penghambatan ini tidak terlalu signifikan. Faktor ini mungkin disebabkan oleh kandungan senyawa yang lebih melimpah dalam fraksi n-heksan. Munculnya zona hambat pada fraksi n-heksan kemungkinan diakibatkan oleh kehadiran senyawa flavonoid, saponin, tanin, dan steroid yang berhasil diekstraksi selama proses fraksinasi. Sedangkan pada ekstrak dan fraksi etil asetat, dugaan munculnya efek ini mungkin karena adanya senyawa flavonoid, saponin, dan tanin yang berhasil ditarik selama proses fraksinasi. Zona hambat yang muncul disebabkan oleh adanya senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak dan fraksi daun bandotan. yang memiliki sifat antibakteri, seperti Saponin, flavonoid, tanin, dan steroid. Variasi dalam ukuran zona hambat pada berbagai konsentrasi mungkin disebabkan oleh beberapa faktor, termasuk perbedaan dalam konsentrasi senyawa aktif antimikroba di dalam fraksi, laju difusi senyawa antimikroba ke dalam medium, sensitivitas pertumbuhan bakteri, suhu dan waktu inkubasi, serta aktivitas metabolik mikroorganisme [19].

Efek penghambatan paling kuat diamati pada konsentrasi 40%, sementara efek penghambatan paling lemah terlihat pada konsentrasi 10%. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel, semakin kuat efek penghambatan terhadap kedua jenis bakteri, karena jumlah zat aktif dalam sampel menjadi lebih banyak. Konsentrasi yang tinggi berbanding lurus dengan kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri, yang tercermin dalam zona hambat yang lebih besar.

Pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang mengalami penghambatan mungkin disebabkan oleh penghambatan pada sintesis dinding sel. Efek penghambatan ini lebih kuat pada bakteri *Staphylococcus aureus* jika dibandingkan dengan *Escherichia coli*. Faktor ini mungkin terkait dengan perbedaan dalam komposisi dinding sel antara bakteri gram positif (seperti *Staphylococcus aureus*) dan gram negatif (seperti *Escherichia coli*). Bakteri gram negatif memiliki dinding sel yang lebih kompleks, dengan struktur lapisan ganda yang memberikan ketahanan lebih terhadap bahan kimia asing. Di sisi lain, bakteri gram positif memiliki dinding sel yang lebih sederhana. Perbedaan ini mungkin menyebabkan dinding sel bakteri gram positif lebih mudah terpengaruh oleh senyawa antibakteri dibandingkan dengan dinding sel bakteri gram negatif [19].

Keberadaan metabolit sekunder dalam ekstrak, dan fraksi menjadi faktor yang penting dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak dan fraksi etil adalah alkaloid, flavonoid, tannin, saponin dan terpenoid. Sedangkan metabolit sekunder yang terkandung dalam fraksi n-heksan adalah alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, steroid dan terpenoid. Mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara menghambat komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga dinding sel tidak terbentuk utuh. Hal tersebut menyebabkan kematian sel. Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut yang mengakibatkan fosfolipid tidak mampu mempertahankan bentuk membran sel bakteri, akibatnya membran sel bakteri akan menjadi bocor dan bakteri mengalami hambatan pertumbuhan bahkan kematian. Mekanisme tanin sebagai antibakteri adalah mengganggu sintesa peptidoglikan sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Keadaan tersebut menyebabkan keadaan sel menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri menjadi mati. Mekanisme saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri, sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar. Mekanisme terpenoid sebagai antibakteri yaitu dengan cara merusak membran [22]. Mekanisme steroid sebagai antibakteri, berhubungan erat dengan membran lipid serta reseptivitas terhadap komponen steroid. Hal ini mengakibatkan terjadinya kebocoran pada lisosom, mempengaruhi integritas membran, dan akhirnya menghasilkan efek antibakteri [19].

Fraksi n-heksan menunjukkan aktivitas antibakteri paling kuat dibandingkan fraksi etil asetat dan ekstrak kasar. Perbedaan ini bukan semata karena jumlah senyawa yang lebih banyak, melainkan karena senyawa aktif utama bersifat non-polar dan lebih mudah terekstrak dalam pelarut n-heksan. Senyawa seperti precocene, flavonoid teralkilasi, dan terpenoid non-polar memiliki afinitas tinggi terhadap lipid membran bakteri, sehingga dapat merusak struktur membran dan meningkatkan permeabilitas sel.

Selain itu, kombinasi dan rasio senyawa dalam fraksi n-heksan menciptakan efek sinergis yang memperkuat aktivitas antibakteri, misalnya melalui mekanisme ganda: gangguan membran dan inhibisi

enzim vital. Dengan demikian, keunggulan fraksi n-heksan berasal dari selektivitas pelarut non-polar, komposisi senyawa yang sinergis, dan mekanisme aksi yang efektif, bukan sekadar karena kelimpahan senyawa.

Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak, fraksi n-heksan, dan fraksi etil asetat daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori sangat lemah. Nilai IC₅₀ yang diperoleh adalah 499,36 µg/ml untuk ekstrak, 945,78 µg/ml untuk fraksi n-heksan, dan 382,92 µg/ml untuk fraksi etil asetat. Rendahnya aktivitas antioksidan ini diduga disebabkan oleh kadar flavonoid yang rendah serta kemungkinan terjadinya degradasi senyawa flavonoid selama proses fraksinasi. Selain itu, ekstrak, fraksi n-heksan, dan fraksi etil asetat daun bandotan terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Aktivitas tersebut ditunjukkan dengan daya hambat kuat pada konsentrasi 40% dan daya hambat sedang pada konsentrasi 10%.

Conflict of Interest

Penelitian ini dilakukan secara mandiri dan objektif tanpa konflik kepentingan atau pengaruh eksternal.

Acknowledgment

Penelitian ini berhasil dilaksanakan berkat dukungan berbagai pihak. Ucapan terima kasih khusus kami sampaikan kepada Universitas Muslim Nusantara atas bantuan dan fasilitas yang diberik.

Supplementary Materials

Referensi

- [1] Husni E, Dachriyanus D, Saputri VW. Penentuan Kadar Fenolat Total, Uji Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri dari Ekstrak dan Fraksi Kulit Batang Bintangor (*Calophyllum soulattri* Burm. F). *Jurnal Sains Farmasi & Klinis* 2020;7:92. <https://doi.org/10.25077/jsfk.7.1.92-98.2020>.
- [2] Sukandar TK, Sinaga I, Santikawati S. Fraksi Aktif Rumpun Laut Cokelat (*Sargassum cinereum*) Sebagai Antioksidan dan Antibakteri. *Jurnal Penelitian Terapan Perikanan Dan Kelautan* 2022;4:66–74.
- [3] Situmeang B, Ilham I, Ibrahim AM, Amin F, Mahardika M, Bialangi N, et al. Aktivitas Antioksidan Dan Antibakteri Dari Fraksi Ekstrak Metanol Kulit Batang Kesambi (*Shleichera Oleosa*). *Jurnal Kimia* 2022;16:53. <https://doi.org/10.24843/jchem.2022.v16.i01.p07>.
- [4] Putri M, Samiha YT, Riswanda J, Hapida Y. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumpun Mutiara (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.) terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi* 2020;2020:65–70.
- [5] Muttaqin MuhR, Rotinsulu DJ, Sulistiawati. Jurnal Sains dan Kesehatan. *Jurnal Sains Dan Kesehatan* 2021;3:586–92.
- [6] Wijayanti S, Putra RA, Amin F, Widiyanto H. Antioksidan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Batang Bandotan (*Ageratum conyzoides*) dengan DPPH (1,1 Diphenil-1-picrylhydrazyl). *Jurnal Medika & Sains [J-MedSains]* 2023;3:1–11. <https://doi.org/10.30653/medsains.v3i1.482>.
- [7] Hilaliyah R. Pemanfaatan Tumbuhan Liar Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) sebagai Obat Tradisional dan Aktivitas Farmakologinya. *Bioscientiae* 2021;18:28. <https://doi.org/10.20527/b.v18i1.4065>.
- [8] Sukandar TK, Sinaga I, Santikawati S. Fraksi Aktif Rumpun Laut Cokelat (*Sargassum cinereum*) Sebagai Antioksidan dan Antibakteri. *Jurnal Penelitian Terapan Perikanan Dan Kelautan* 2022;4:66–74.
- [9] Satira G, Laila I, Vidiapuri P, Supriatna A. Identifikasi Keanekaragaman Tumbuhan Obat–obatan di Kawasan Desa Pataruman, Kecamatan Cihampelas, Kabupaten Bandung Barat. *Mikroba: Jurnal Ilmu Tanaman, Sains Dan Teknologi Pertanian* 2024;1:16–28.

- [10] Farida Aryani. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Bandotan (*Ageratum Conyzoides* Lin) Terhadap *Escherichia Coli*, *Propionibacterium Acnes*, dan *Streptococcus Sobrinus*. Buletin Poltanesa 2021;22:182–7. <https://doi.org/10.51967/tanesa.v22i2.891>.
- [11] Depkes RI. Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat : Jakarta Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Edisi IV 2000.
- [12] RI D. Farmakope Indonesia Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 1995.
- [13] Trijuliamos Manalu R, Herdini H, Danya F. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Gedi hijau (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) Dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). *Pharmaceutical Journal of Indonesia* 2022;8:17–23. <https://doi.org/10.21776/ub.pji.2022.008.01.3>.
- [14] Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J Sci Technol* 2004;26:211–9.
- [15] Adri TA, Setiawan P, Irma I. Formulasi Dan Uji Aktivitas Antioksidan Sediaan Krim Ekstrak Anggur Laut (*Caulerpa* sp) DENGAN METODE DPPH (1,1-diphenyl-2-pikrilhidrazil). *Jurnal Ilmiah JOPHUS : Journal Of Pharmacy UMUS* 2023;4:38–48. <https://doi.org/10.46772/jophus.v4i02.972>.
- [16] Suena NMDS, Antari NPU. Uji Aktivitas Antioksidan Maserat Air Biji Kopi (*Coffea canephora*) Hijau Pupuan Dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Jurnal Ilmiah Medicamento* 2020;6:111–7. <https://doi.org/10.36733/medicamento.v6i2.1106>.
- [17] Fiana FM, Kiromah NZW, Purwanti E. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia* 2020;10–20. <https://doi.org/10.23917/pharmacon.v0i0.10108>.
- [18] Hutahean H. Original Articel. *Juornal Economic and Strategy (JES)* 2020;1:1–10.
- [19] Nasution AW, Nasution HM, Lubis MS, Rahayu YP. Uji aktivitas antibakteri fraksi n-heksana dan etil asetat daun kecombrang (*Etlingera elatior*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Journal of Pharmaceutical and Sciences* 2023;6:1488–97. <https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v6i4.228>.
- [20] Farida Aryani. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Bandotan (*Ageratum Conyzoides* Lin) Terhadap *Escherichia Coli*, *Propionibacterium Acnes*, dan *Streptococcus Sobrinus*. Buletin Poltanesa 2021;22:182–7. <https://doi.org/10.51967/tanesa.v22i2.891>.
- [21] Wijayanti S, Putra RA, Amin F, Widiyanto H. Antioksidan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Batang Bandotan (*Ageratum conyzoides*) dengan DPPH (1,1 Diphenil-1-picryhydrazyl). *Jurnal Medika & Sains [J-MedSains]* 2023;3:1–11. <https://doi.org/10.30653/medsains.v3i1.482>.
- [22] Pertiwi FD, Rezaldi F, Puspitasari R. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Biosaintropis (Bioscience-Tropic)* 2022;7:57–68. <https://doi.org/10.33474/e-jbst.v7i2.471>.