

## KLT BIOAUTOGRAFI HASIL PARTISI EKSTRAK ETANOL HERBA BANDOTAN (*Ageratum conyzoides* L.) TERHADAP *Shigella* *dysenteriae*

Surya Sumantri Abdullah<sup>1</sup>, Natsir Djide<sup>2</sup>, Sartini Natsir<sup>2</sup>,

<sup>1</sup>Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi  
Manado

<sup>2</sup>Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, Makassar  
Email: suryasumantri@unsrat.ac.id

### ABSTRAK

Penelitian uji daya hambat dan analisis KLT bioautografi hasil partisi ekstrak etanol herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap *Shigella dysenteriae* telah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan ekstrak tersebut dalam menghambat pertumbuhan *S.dysenteriae* dan membandingkan daya hambat ekstrak dengan tingkat kepolaran yang berbeda yaitu pada ekstrak n-heksana, larut etil asetat, dan tidak larut etil asetat berdasarkan pengukurandiameter hambatan yang terbentuk. Herba tersebut diekstraksi dengan etanol dengan metode maserasi, lalu dipartisi dengan pelarut n-heksana dan etil asetat. Pengukuran dilakukan menggunakan metode difusi pada medium Miller Hinton Agar (MHA) dengan waktu inkubasi 24 jam pada suhu 37°C dan memberikan diameter daerah hambatan terbesar pada ekstrak tidak larut etil asetat herba bandotan yaitu 9,3 dan 10,3 mm. Pemisahan secara KLT pada ekstrak n-heksana, ekstrak etil asetat, dan ekstrak tidak larut etil asetat dengan cairan pengelusi berturut-turut, n-heksana:etil asetat (3:1), n-heksana:etil asetat (1:1), dan etil asetat:etanol (10:1) dengan jumlah bercak noda berturut-turut 4, 5, dan 2. Nilai Rf pada ekstrak n-heksana 0.25, 0.41, 0.52, dan 0.71 sedangkan pada ekstrak etil asetat 0.34, 0.53, 0.65, 0.81, dan 0.92 pada ekstrak tidak larut etil asetat 0.33 dan 0.64. Hasil KLT bioautografi diperoleh komponen antibakteri yang diidentifikasi ekstrak n-heksana adalah golongan steroid dan pada tidak larut etil asetat golongan polifenol

Kata kunci: *Ageratum conyzoides*, *Shigella dysenteriae*, KLT Bioautografi

### ABSTRACT

Inhibition test research and TLC bioautographic bioassay method of the partition results of the ethanol extract of bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) herb against *Shigella dysenteriae* have been conducted. This study aims to determine the ability of these extracts to inhibit *S.dysenteriae* growth and to compare the inhibition of extracts with different polarity levels, n-hexane soluble, ethyl acetate soluble, and ethyl acetate insoluble extracts based on the diameter measurement of the formed resistance. The herbs were extracted with ethanol using the maceration method, then partitioned with n-hexane and ethyl acetate solvents. Measurements were carried out using the diffusion method on Miller Hinton Agar (MHA) medium with an incubation time of 24 hours at 37°C and gave the largest diameter area of resistance to the ethyl acetate insoluble extract of bandotan herb, value 9.3 and 10.3 mm. Separation by TLC on n-hexane extract, ethyl acetate extract, and ethyl acetate insoluble extract with elusive liquid respectively, n-hexane: ethyl acetate (3: 1), n-hexane: ethyl acetate (1: 1), and ethyl acetate: ethanol (10: 1) with the number of stains 4, 5, and 2, respectively. 0.81, and 0.92 in ethyl acetate insoluble extracts 0.33 and 0.64. The results of the bioautography TLC bioassay method showed that the antibacterial component identified in the n-hexane extract was a steroid compound and ethyl acetate insoluble was a polyphenol compound.

Keywords: *Ageratum conyzoides*, *Shigella dysenteriae*, TLC bioautographic

### PENDAHULUAN

Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.), merupakan tanaman liar yang digunakan untuk pengobatan tradisional. Suku Asteraceae yang merupakan tanaman yang banyak tumbuh di Indonesia (Tjitrosoepomo, 1993) Bagian yang

digunakan untuk obat adalah herba (bagian di atas tanah) dan akar. (Heyne, 1987) menyatakan bahwa setiap komponen mempunyai khasiat yang berbeda, seperti herba yang dimanfaatkan secara empirik salah satunya dalam pengobatan penyakit disentri (Wijakusuma, 2000).

Hasil penelitian terhadap ekstrak etanol dari daun bandotan pada bakteri uji *Sarcina lutea*, *Bacillus circulans*, dan *Salmonella sp.* menunjukkan nilai Kadar Hambat Minimum berturut-turut 187,5, 750 dan 375 mg/ml (Simanjuntak, 2008). Ekstrak etanol daun bandotan memberikan nilai MIC berturut-turut 50 dan 100 mg/ml untuk *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* (Widodo, 2007). Penelitian Ayu Wandryani dengan ekstrak dietil eter daun bandotan diperoleh nilai MIC 25 mg/mL dengan metode dilusi cair mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa* yang diidentifikasi mengandung senyawa flavanoid (Wandryani, 2009).

Di Indonesiadilaporkan angka disenteri basiler 5% dari 3848 pasien penderita diare berat. Di dunia sekurangnya ada 200 juta kasus dan 650.000 kematian terjadi akibat disenteri basiler pada anak dibawah umur 5 tahun. Penyakit ini 60% disebabkan oleh *Shigella dysentriae* dan merupakan jenis disenteri berat (Simanjuntak, 2008).

Menurut pedoman WHO infeksi berat *Shigella* dapat diobati dengan menggunakan antibiotika ampisilin, trimethoprim-sulfamethoxazole, dan ciprofloxacin. Namun, beberapa *Shigella* telah menjadi kebal terhadap antibiotika, ini terjadi karena penggunaan antibiotika yang sering untuk melawan *shigellosis* ringan juga sebagai akibat pemakaian antibiotika yang tidak rasional (Simanjuntak, 2008).

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode difusi agar dengan pemberian ekstrak sampel pada medium yang telah ditumbuhkan *Shigella dysentriae* dengan hipotesis bahwa pemberian ekstrak herba bandotan pada konsentrasi tertentu akan memberikan aktivitas penghambatan terhadap *Shigella dysentriae*. Kemudian untuk mengetahui senyawa aktif yang bersifat sebagai antibakteri digunakan metode KLT bioautografi. Berdasarkan uraian diatas, maka telah dilakukan penelitian tentang uji daya hambat dan analisis KLT bioautografi hasil partisi ekstrak etanol herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap *Shigella dysentriae*, dengan tujuan untuk mengetahui kemampuan daya hambat ekstrak etanol herba bandotan terhadap *Shigella dysentriae* dan mengidentifikasi senyawa yang dapat menghambat bakteri tersebut.

## BAHAN DAN METODE

Bahan-bahan yang digunakan adalah herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L.). Bahan kimia seperti etanol, n-heksana, etil asetat, natrium fosfat, natrium klorida, asam klorida, dimetil sulfoksida, KLT silika gel 60 F<sub>254</sub>, Muller Hilton Agar, Medium NA diperoleh dari Merck (Damstadt, Germany), sedangkan biakan murni *Shigella dysentriae* diperoleh dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Farmasi UNHAS.

### Penyiapan sampel penelitian

Sampel penelitian yang digunakan berupa herba bandotan diperoleh dari Kelurahan Maccorawalie, Kecamatan Pancarijang, Kabupaten Sidrap, Sulawesi Selatan.

### Pengolahan sampel

Sampel herba bandotanyang telah dikumpulkan dibersihkan dan dicuci dengan air. Setelah itu sampel dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa dikenai sinar matahari langsung, kemudian dirajang dan dihaluskan dengan derajat halus 4/18, selanjutnya sampel siap untuk diekstraksi dengan cara maserasi.

### Ekstraksi sampel

Sampel diekstraksi dengan maserasi menggunakan cairan penyari etanol, namun dilakukan pembasahan sebelumnya dengan cairan penyari sebanyak 2 kali bobot sampel. Sebanyak 500 g sampel dimasukkan ke dalam bejana maserasi lalu ditambahkan etanolditambahkan sampai 2 liter. Wadah maserasi ditutup rapat dibiarkan selama 3 hari, disimpan ditempat yang tidak terkena sinar matahari langsung sambil sering diaduk. Setelah 3 hari sari diserukai dan ampasnya diperas. Kemudian dilakukan maserasi ulang sebanyak 2 kali dengan penyari yang sama. Ekstrak etanol yang diperoleh dikumpulkan, diuapkan dengan menggunakan rotavapor kemudian diangin-anginkan sampai diperoleh ekstrak etanol kental dan diperoleh ekstrak kental sebanyak 11,085 g.

### Partisi ekstrak etanol

Ekstrak etanol herba bandotan dipartisi dengan cara ekstraksi cair-padat, dengan penyari n-heksana dan etil asetat. Ekstrak etanol dilarutkan dengan n-heksana kemudian dimasukkan ke dalam tabung sentrifus untuk memisahkan antara bagian larut dan tidak larut n-heksana. Kemudian bagian tidak larut dipartisi lanjutan dengan etil asetat, kemudian disentrifugasi sampai diperoleh bagian larut dan tidak larut etil asetat. Ekstrak larut n-heksana, larut dan tidak larut etil asetat diuapkan pelarutnya sampai diperoleh ekstrak kental. Kemudian diperoleh masing-masing 4,833 g ekstrak larut n-heksana, 1,43 g larut etil asetat, dan 3,308 g tidak larut etil asetat.

### Pembuatan larutan ekstrak n-heksana, ekstrak etil-asetat dan tidak larut etil-asetat

Dibuat larutan masing-masing ekstrak dengan konsentrasi 30% b/v, dengan menimbang masing-masing 300 mg ekstrak n-heksana, ekstrak larut etil asetat, dan ekstrak tidak larut etil asetat herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L.), kemudian dilarutkan dengan DMSO dan dicukupkan volumenya hingga 1 mL.

### Sterilisasi alat

Alat-alat gelas direndam dalam larutan  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  1% selama 10 menit, kemudian cuci dengan air sampai bersih dan keringkan. Alat-alat gelas disterilkan dengan menggunakan oven pada suhu 180°C selama 2 jam. Alat-alat plastik (tidak tahan terhadap pemanasan tinggi) dan alat gelas berskala disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C tekanan 2 atm. Alat-alat logam disterilkan dengan pemanasan langsung pada lampu spiritus hingga memijar.

### Pembuatan medium

Bahan-bahan yang digunakan untuk pembuatan medium ditimbang dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, kemudian dilarutkan dengan air suling hingga 800 mL, lalu dicek dan ditetapkan pH dengan indikator universal pada pH 7,0, lalu dicukupkan volumenya dengan air suling hingga 1000 mL. Setelah itu, disterilkan pada autoklaf dengan suhu 121 °C tekanan 2 atm selama 15 menit.

### Penyiapan bakteri uji

#### Peremajaan bakteri

*Shigella dysenteriae* yang berasal dari biakan murni diambil satu ose lalu diinokulasikan dengan cara digoreskan dengan medium NA miring, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam.

#### Pembuatan suspensi bakteri

*Shigella dysenteriae* yang telah diremajakan disuspensikan dengan larutan NaCl 0,9% steril kemudian diukur transmittannya pada 25% menggunakan spektrofotometer, sebagai blanko digunakan larutan NaCl 0,9%.

#### Pengujian daya hambat

Suspensi *Shigella dysenteriae* sebanyak 0,2 mL dimasukkan kedalam cawan petri kemudian medium MHA steril pada suhu sekitar 40-45 °C dituang secara aseptis ke dalam cawan petri sebanyak 15 mL dan dihomogenkan, kemudian dibiarkan memadat. Paper disc ditetesi 20 µL larutan masing-masing ekstrak dan larutan DMSO sebagai kontrol negatif lalu diletakkan di atas medium, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam lalu diukur diameter zona hambatan yang terbentuk (Djide, 2006)

#### Pemisahan senyawa secara kromatografi lapis tipis (KLT)

Ekstrak herba bandotan yang memiliki zona hambatan kemudian dipisahkan secara KLT. Ekstrak herba bandotan tersebut ditotolkan pada KLT ukuran 8 x 3 cm, kemudian dielusi di dalam chamber yang sudah jenuh dengan cairan pengelusi hingga batas 1 cm dari tepi atas lempeng. Lempeng dikeluarkan dari chamber dan diangin-anginkan hingga cairan pengelusi menguap. Selanjutnya diamati di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm dan dihitung nilai Rf nodanya (Djide, 2006)

#### Pengujian KLT bioautografi

Medium MHA sebanyak 15 mL yang telah dicampur dengan 0,2 mL suspensi *Shigella dysenteriae* dituang ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan memadat. Setelah media memadat, lempeng KLT yang telah dielusi diletakkan di atas permukaan media agar. Setelah 30 menit lempeng tersebut diangkat dan dipindahkan, kemudian medium

yang telah ditempati lempeng KLT diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam, diamati zona hambatan yang terbentuk (Djide, 2006)

### Identifikasi senyawa kimia

Noda yang membentuk zona hambatan pada lempeng KLT disemprot dengan pereaksi semprot untuk menentukan jenis senyawa yang menghambat pertumbuhan *Shigella dysenteriae*.

### Pengumpulan dan analisis data

Data dikumpulkan dengan mengukur diameter zona hambatan, menentukan Rf noda dan jenis senyawa yang menghambat pertumbuhan *Shigella dysenteriae*. Selanjutnya kesimpulan diambil berdasarkan analisis data dan pembahasan hasil.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Ekstraksi

Hasil ekstraksi 500 g herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) yang dilakukan dengan metode maserasi dengan menggunakan etanol diperoleh 11,085 g ekstrak etanol kental. Sehingga diperoleh rendamen yakni 2,36%. Etanol dipertimbangkan sebagai pelarut, karena merupakan turunan alkohol, yang bersifat semipolar, dimana diketahui memiliki gugus hidrokarbon sehingga mampu menolak molekul-molekul air (nonpolar), namun juga memiliki gugus hidroksil sehingga mampu menarik senyawa-senyawa polar. Semakin

panjang rantai karbon maka semakin bersifat agak nonpolar (Fessenden, 1986).

### Partisi cair-padat

Selanjutnya dilakukan partisi teknik cair-padat, karena jumlah yang dipartisi lebih banyak dalam sekali pengerjaan dibandingkan teknik cair-cair dan untuk menghindari adanya kerusakan akibat reaksi hidrolisis dengan air (Wandryani, 2009). Dari hasil partisi ekstrak etanol, jumlah ekstrak yang larut dalam n-heksana sebagai pelarut nonpolar lebih banyak dibanding larut etil asetat dan tidak larut etil asetat. Hal ini disebabkan karena kemampuan heksana sebagai pelarut nonpolar yang mampu menarik senyawa-senyawa yang bersifat lipofilik, seperti minyak esensial dan menguap, hasil ekstraksi juga mampu mengangkat senyawa lainnya seperti pigmen tanaman seperti klorofil yang mendominasi dalam jumlah besar di dalam tanaman (Sarker, 2006). Hasil partisi ekstrak etanol 11,085 g yang dilakukan melalui ekstraksi cair padat, yakni: 4,833 g larut heksana, 1,43 g larut etil asetat, dan 3,308 g tidak larut etil asetat.

### Pengujian daya hambat

Hasil pengukuran daya hambat ekstrak n-heksana, ekstrak larut etil asetat, dan ekstrak tidak larut etil asetat dari herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) serta DMSO dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengukuran diameter hambatan hasil partisi ekstrak etanol herba bandotan terhadap *Shigella dysenteriae* dengan konsentrasi 30%.

Replikasi	Diameter daya hambat			
	Ekstrak n-heksana (mm)	Ekstrak larut etil asetat (mm)	Ekstrak tidak larut etil asetat (mm)	DMSO
1	6,5	8,0	9,3	-
2	6,7	8,7	10,3	-
3	6,6	8,35	9,8	-
Rata-rata	6,6	8,35	9,8	-

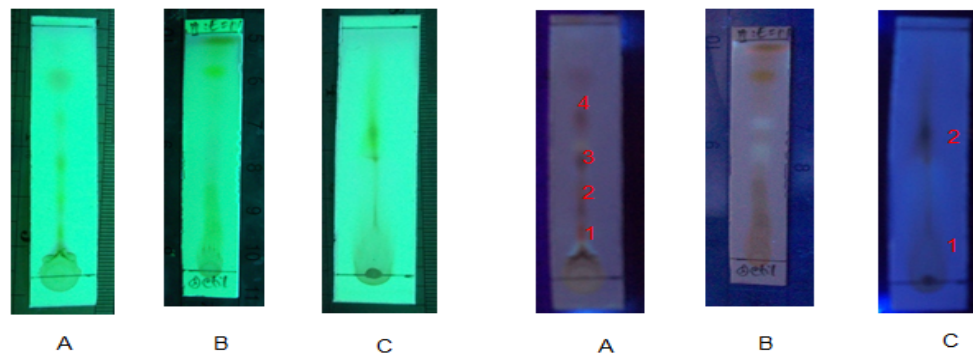
Hasil pengukuran menunjukkan bahwa ekstrak yang tidak larut etil asetat memiliki diameter penghambatan terbesar, dan yang terkecil terdapat pada ekstrak n-heksana. Hal ini disebabkan karena senyawa yang terlarut

dalam ekstrak n-heksana mengandung senyawa pigmen klorofil dalam jumlah besar yang kemungkinan menutupi senyawa antibakteri seperti turunan terpen dan minyak-minyak atsiri tadi.

### Pemisahan senyawa secara KLT

Selanjutnya dilakukan KLT, teknik ini didasarkan pada prinsip partisi dan absorpsi (Khophar, 1999), hingga diperoleh profil KLT yang bagus dari ketiga ekstrak yang diperoleh. Kelebihan metode ini adalah penggunaan pelarut dan cuplikan yang jumlahnya sedikit. Jarak tempuh keatas (noda) lempeng merupakan cerminan polaritas senyawa (Bresnick, 1996). Ekstrak n-heksana dipartisi dengan eluen heksana:etil asetat (3:1) dengan

penampak noda sinar UV 254 nm dan 366 nm diperoleh 4 noda dengan Rf 0,25, 0,41, 0,52, dan 0,71. Ekstrak larut etil asetat dengan menggunakan eluen heksana:etil asetat (1:1) dengan penampak noda sinar UV 254 nm dan 366 nm diperoleh 5 noda dengan Rf 0,34, 0,53, 0,65, 0,81, dan 0,92. Ekstrak tidak larut etil asetat dengan menggunakan eluen etil asetat:etanol (10:1) dengan penampak noda sinar UV 254 nm dan 366 nm diperoleh 2 noda dengan Rf 0,33 dan 0,64.

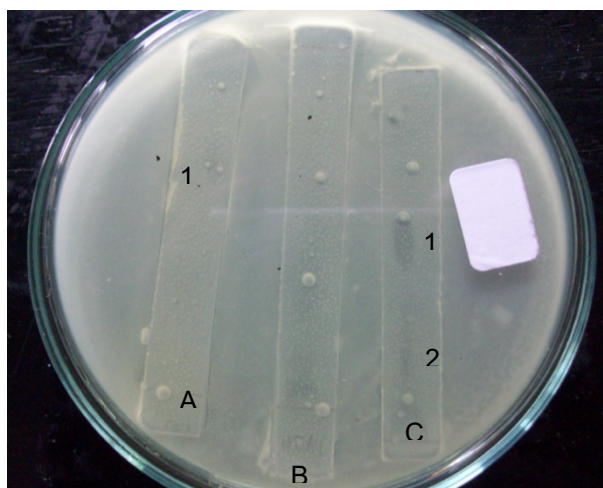


Gambar 1. Profil KLT hasil partisi ekstrak etanol herba bandotan. Keterangan: A=ekstrak n-heksan, B=ekstrak etil asetat, dan C=ekstrak tidak larut etil asetat.

Prinsip penampakan noda pada lampu UV adalah karena adanya daya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat oleh ausokrom yang ada pada noda tersebut. Fluorosensi cahaya yang tampak merupakan emisi cahaya yang dipancarkan oleh komponen tersebut ketika elektron yang tereksitasi dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi kemudian kembali ke keadaan semula sambil melepaskan energi. Energi inilah yang menyebabkan perbedaan fluoresensi warna yang dihasilkan oleh tiap noda. Pada UV<sub>254</sub> yang berfluorosensi adalah lempeng dan pada UV<sub>366</sub> yang berfluorosensi adalah noda (Maptuhah, 2004).

### Pengujian KLT bioautografi

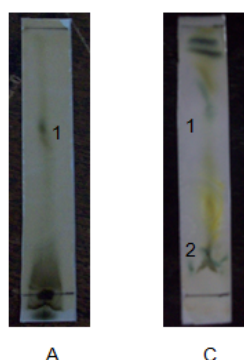
Selanjutnya dilakukan teknik KLT Bioautografi, Ciri khas dari metode ini, didasarkan atas teknik difusi agar, dimana senyawa antibakterinya dipindahkan dari lapisan KLT ke medium agar yang telah diinokulasikan dengan merata bakteri uji yang peka. Dari hasil inkubasi diperoleh zona hambatan disekeliling dari spot dari KLT yang telah ditempelkan pada media agar (Djide, 2009), dimana pada ekstrak heksana diperoleh 2 noda yang menghambat yaitu noda dengan Rf 0,25 dan 0,52. Ekstrak larut etil asetat tidak ada noda yang menghambat. Ekstrak tidak larut etil asetat diperoleh 1 noda yang menghambat yaitu noda dengan Rf 0,64.



Gambar 2. KLT bioautografi hasil partisi ekstrak etanol herba bandotan. Keterangan A=ekstrak tidak larut etil asetat, B=ekstrak larut etil asetat, dan C=ekstrak n-heksan.

### Identifikasi senyawa kimia

Selanjutnya dilakukan penyemprotan pada ekstrak yang memiliki zona bening, dimana pada ekstrak n-heksana disemprot dengan pereaksi liebermen-buchardat dan tampak warna hijau-biru, sesuai literatur dimana menandakan positif mengandung steroid dan pada bagian ekstrak tidak larut etil asetat disemprot dengan  $\text{FeCl}_3$  berwarna hijau kehitaman, sesuai literatur dimana menandakan positif mengandung senyawa polifenol. ini sesuai dengan referensi sebelumnya (Widodo, 2007) terhadap pengujian antibakteri dari tumbuhan bandotan ini, dan hasilnya dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Hasil Penyemprotan lempeng KLT hasil partisi ekstrak etanol herba bandotan A= ekstrak n-heksan, C= ekstrak tidak larut etil asetat)

Steroid merupakan senyawa lipid yang mempunyai struktur dasar yang sama yakni siklopentanoperhidrofenantren. Senyawa ini dapat diisolasi dari sel dan larut dalam pelarut organik nonpolar (heksana, dietil eter). Pereaksi spesifik untuk identifikasi steroid adalah liebermen-buchardat yang memberikan warna hijau-biru (Bresnick, 1996). Kelompok polifenol termasuk flavonoid, tannin, dan fenol lainnya. Karena adanya fungsi lingkaran teroksidasi, kebanyakan senyawa ini dapat bereaksi sebagai ligan-ligan untuk ion besi. Jadi ketika ion feri ditambahkan pada larutan

fenol akan menghasilkan warna hijau gelap, biru atau kompleks biru-hitam (Tobo, 2001).

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak hasil partisi n-heksane, hasil partisi tidak larut etil asetat dan larut etil asetat herba bandotan mempunyai kemampuan penghambatan terhadap bakteri uji sehingga bersifat anti-*Shigella dysentriae*. Hasil KLT bioautografi diperoleh komponen antibakteri yang

diidentifikasi pada ekstrak hasil partisi n-heksana adalah senyawa golongan steroid dan pada tidak larut etil asetat adalah senyawa golongan polifenol.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adorjan, A. & David F. 1975. Thin layer chromatography of antibiotics. *Methods in Enzymology*. 42(1), 172-213.
- Ahmad, I. 2015. Aktivitas antibakteri dari fraksi daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) secara kromatografi lapis tipis bioautografi. *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry*. 3(1). 29-36
- Archana, B. & Anubha, K. 2011. An overview of thin layer chromatography. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2011(2), 256-267.
- Betina, V. 1972. *Pharmaceutical Application of Thin Layer and Paper Chromatography*. Amsterdam: Elsevier Publishing Company.
- Bresnick, 1996. *Intisari Kimia Organik*. Hipokrates. Jakarta.
- Chunli, S., Zhengshuang, W., Ziyang, W. & Hongcheng, Z. 2015. Effect of ethanol/water solvents on phenolic profiles and antioxidant properties of beijing propolis extracts. *Hindawi Publishing Corporation*. 2015(1). 1-9.
- Dalimartha, S., 2000, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Jilid 2*. Tribus Agriwidya. Jakarta.
- Demetrio, V., Juliana, P., Esperanza, C. & Windell, R. 2016. Thin layer chromatography-bioautography and gas chromatography-mass spectrometry of antimicrobial leaf extracts from Philippine Piper betle L. against multidrug-resistant bacteria. *Hindawi Publishing Corporation* 2016(1). 1-7.
- Dissanayake, M., Shin, I. & Yoshihiko A. 2015. TLC bioautography guided detection and biological activity of antifungal compounds from medicinal plant *Acorus calamue* L. *Asian Journal of Plant Pathology*. 9(1), 16-26.
- Djide, N. & Sartini, 2006. *Mikrobiologi Farmasi Dasar*. Makassar: Penerbitan Unhas.
- Djide, N., Sartini & Kadir, S. 2009. *Analisis Mikrobiologi Farmasi*. Makassar: Penerbitan Unhas
- Fessenden R.J. & Fessenden, J.S. 1986. *Kimia Organik. Jilid 1*. Jakarta: Erlangga.
- Godfred F., Daniel, B., Dominic, E., Offori L. & Mark, A. 2015. Screening of *Ageratum conyzoides* Linn. and *Alchornea cordifolia* (Schumacher & Thonn.) extracts for antibacterial activity. *European Journal of Medicinal Plants*. 10(4). 1-7.
- Györgyi, H., Noémi, J., Erika, K., Andrea, B., Krisztina, K. & Béla, K. 2011. Role of direct bioautographic method for detection of antistaphylococcal activity of essential oils. *Natural Product Communications*. 6(9), 1379-1384.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Bandung: ITB.
- Junairiah, Ni'matuzahroh, Nabilah, Z. & Lilis, S. 2018, Isolation and identification of secondary metabolites of black betel (*Piper betle* L.). *Jurnal Kimia Riset*. 3(2), 131-138.
- Khopkar, S.M. 1990. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press.
- Maptuhah, A. 2004. *Uji daya hambat dan analisis KLT-Bioautografi ekstrak etanol daun sambiloto (Andrographis paniculata Ness) terhadap beberapa bakteri Penyebab Disentri*. Makassar: Penerbitan Unhas.
- Mardiyah, M., Natsir, D., Ilham, M. & Nursiah, H. 2011. Uji daya hambat dan analisis KLT-bioautografi perasan buah sawo Manila (*Achras Zapota* Linn) terhadap bakteri uji *Salmonella Thyposa*. *Jurnal MKMI*. 7(1), 25-27.
- Qing, Z., Gen, L. & Wen Y. 2018. Techniques for extraction and isolation of natural products. *Chinese Medicine*. 13(1). 1-26.
- Rajmani, P., Sunita, R., Sudeep, M. & Raza. 2014. Formulation development, standardization and antimicrobial activity of *Ageratum conyzoides* extracts and their formulation. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 6(2). 369-374.
- Sarker, D.S., Zahid, L. & Gray, A.I. 2006. *Natural Products Isolation. Second Edition*. New Jersey: Humana Press.
- Simanjuntak, H. 2008. *Epidemiologi Disentri. Pusat Penelitian Penyakit Menular*. Jakarta: Bagian Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan R.I.

- Tjitrosoepomo, G.J. 1993. *Taksonomi Tumbuhan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Tobo, F. 2001. *Laboratorium Fitokimia I*. Makassar: Laboratorium Fitokimia Farmasi Unhas.
- Wandryani, A. 2009. *Uji aktivitas antibakteri dan analisis KLT bioautografi ekstrak dietil eter daun tanaman bandotan terhadap beberapa bakteri uji*. Makassar: Universitas Muslim Indonesia.
- Widodo, P., Elin, S., Sukrasno, & Ketut. A. 2008. Coumarin from *Ageratum conyzoides* L.). *International Journal of Pharmacology*. 4(1), 56-59.