

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Determinasi Tanaman

Daun pandan wangi diambil di Jopa Green Jalan Pasir Luhur, Desa Sukoharjo, Kec. Ngaglik, Kab. Sleman, DIY. Determinasi daun pandan wangi dilakukan di Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta (Laboratorium Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Terapan) pada tanggal 7 Mei 2024 dengan nomor surat keterangan hasil determinasi : 237/Lab. Bio/B/V/2024.

2. Preparasi Sampel

Hasil penyerbukan daun pandan wangi didapatkan sebanyak 435,65 gram. Hasil rendemen ekstrak etanol daun pandan wangi dapat dilihat pada **Tabel 3.**

Tabel 3. Hasil Rendemen Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi		
Berat Simplisia (gram)	Berat Ekstrak (gram)	Hasil Rendemen (% b/b)
400	72,89	18,22

3. Uji Organoleptik

Uji organoleptik yaitu mengamati warna, bau, rasa, dan tekstur dari ekstrak etanol daun pandan wangi. Hasil organoleptik dapat dilihat pada **Tabel 4.**

Tabel 4. Hasil Uji Organoleptik		
Pengamatan	Ekstrak Etanol daun Pandan Wangi	Literatur (Utami & Yunilda, 2021)
Tekstur	Kental	Kental
Bau	Khas daun pandan wangi	Khas daun pandan wangi
Rasa	Agak pahit	Agak pahit
Warna	Hijau pekat	Hijau pekat

Hasil pengujian organoleptik pada **Tabel 4** menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pandan wangi bertekstur kental, berbau khas daun pandan wangi, memiliki rasa agak pahit dan berwarna hijau pekat.

4. Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia yaitu untuk melihat zat aktif pada ekstrak etanol daun pandan wangi. Hasil pengujian fitokimia dapat dilihat pada **Tabel 5**.

Tabel 5. Hasil Skrining Fitokimia

Golongan senyawa	Pereaksi	Keterangan
Alkaloid	Mayer	-
	Wagner	-
	Dragendroff	-
Flavonoid	Magnesium + HCl Pekat	+
Saponin	Aquadest + HCl 2N	+
Tanin	Aquadest + FeCl ₃	+
Steroid	Kloroform + Asam Sulfat Pekat + asam asetat anhidrat	+
	Kloroform + Asam Sulfat Pekat + asam asetat anhidrat	-
Terpenoid		

Keterangan :

(+): Mengandung metabolit sekunder

(-): Tidak mengandung metabolit sekunder

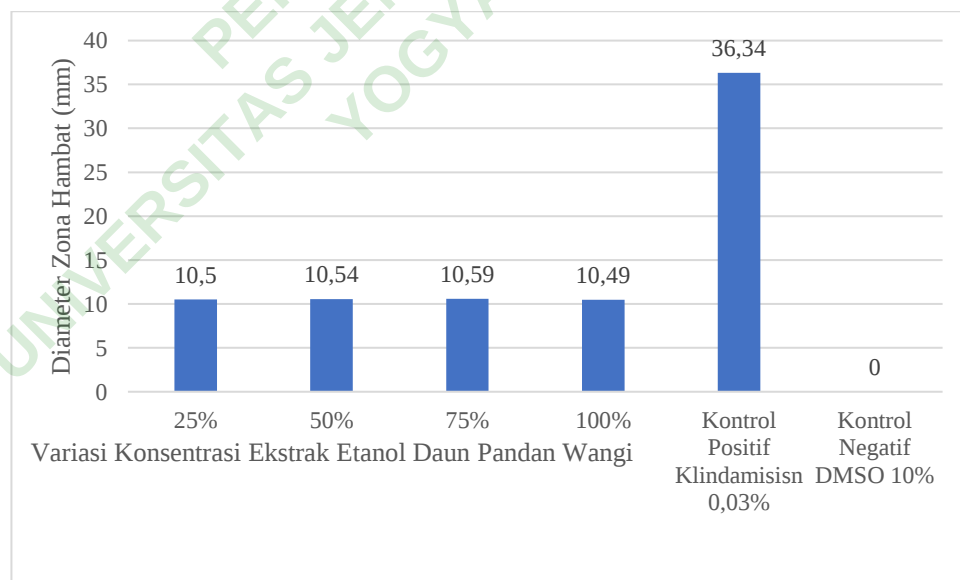
Hasil pengujian **Tabel 5** menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pandan wangi mengandung metabolit sekunder flavonoid, saponin, tanin, dan steroid.

5. Uji Aktivitas Antibakteri

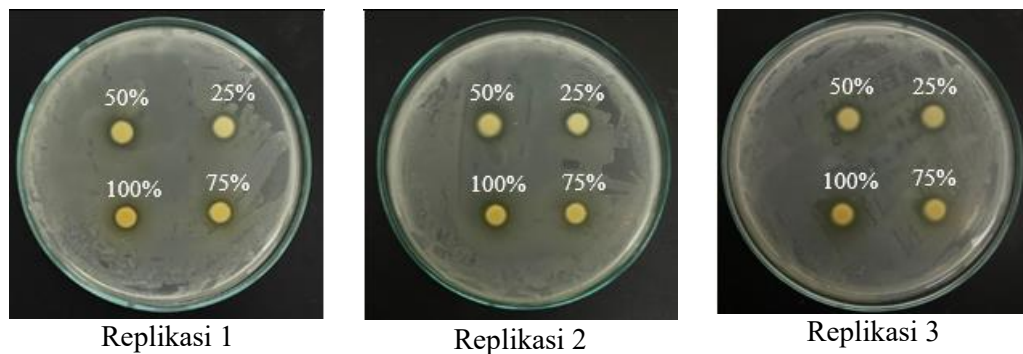
Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun pandan wangi terhadap bakteri *S. epidermidis* ATCC 12228 dengan menggunakan metode cakram pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Kelompok perlakuan yaitu pengujian ekstrak etanol daun pandan wangi dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%. Kelompok kontrol positif yaitu klindamisin 0,03% dan kelompok kontrol negatif yaitu dimetil sulfoksida 10%. Hasil pengujian diameter zona hambat dapat lihat pada **Tabel 6**.

Tabel 6. Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi Terhadap Bakteri *Staphylococcus Epidermidis* ATCC 12228

Kelompok	Konsentrasi (%)	Vertikal (mm)	Diagonal (mm)	Horizontal (mm)	Zona Hambat (mm)	Rata-Rata $\pm$ SD	Kekuatan Daya Hambat
Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi	25	10,9	10,3	10	10,4	10,50 $\pm$ 0,14	Sedang
		10,5	10,8	10	10,43		
		10,7	10,7	10,6	10,66		
	50	10,8	10,3	10,2	10,43	10,54 $\pm$ 0,22	Sedang
		10,4	10,4	10,4	10,4		
		10,9	10,7	10,8	10,8		
	75	10,3	10,3	10,7	10,43	10,59 $\pm$ 0,21	Sedang
		10,5	10,5	10,5	10,5		
		10,9	10,8	10,8	10,83		
	100	10	10,5	10	10,16	10,49 $\pm$ 0,32	Sedang
		10,7	10,3	10,3	10,4		
		10,9	10,6	10,9	10,8		
Kontrol Positif Klindamisin	0,03	39,9	38,9	39,2	39,1	36,34 $\pm$ 2,52	Sangat Kuat
		34	33,8	34,6	34,13		
		36,4	36	35	35,8		
Kontrol Negatif DMSO	10	0	0	0	0	0	Tidak Ada
		0	0	0	0		
		0	0	0	0		



Gambar 6. Diagram Diameter zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi Terhadap Bakteri *Staphylococcus Epidermidis* ATCC 12228



Gambar 7. Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228

Keterangan:

25% : konsentrasi ekstrak etanol daun pandan wangi

50% : konsentrasi ekstrak etanol daun pandan wangi

75% : konsentrasi ekstrak etanol daun pandan wangi

100%: konsentrasi ekstrak etanol daun pandan wangi



Gambar 8. Diameter Zona Hambat Kontrol Positif dan Kontrol Negatif Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228

Keterangan:

K+: Kontrol Positif Klindamisin 0,03%

K-: Kontrol Negatif DMSO 10%

Berdasarkan nilai diameter zona hambat pada **Gambar 8** menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pandan wangi dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. epidermidis* ATCC 12228 dengan kategori daya hambat sedang.

6. Analisis Data

Data zona hambat yang didapat lalu dianalisis secara statistika dengan aplikasi SPSS. Tujuan dilakukannya analisis tersebut untuk membandingkan antar kelompok perlakuan. Hasil analisis statistika dapat dilihat pada **Tabel 7**.

Tabel 7. Hasil Analisis Statistika Zona Hambat Bakteri *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228

Konsentrasi (%)	Uji <i>Shapiro-wilk</i> (Normalitas)	Uji <i>Levene's</i> (Homogenitas)	Uji <i>One Way ANOVA</i>
25	0,202	0,539	0,906
50	0,129		
75	0,314		
100	0,726		

Hasil pada **Tabel 7** membuktikan bahwa tidak memberikan perbedaan yang signifikan tiap variasi konsentrasi yang diujikan.

B. Pembahasan

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun pandan wangi terhadap pertumbuhan bakteri *S. epidermidis* ATCC 12228. Langkah pertama yang dilakukan yaitu determinasi tanaman. Tujuan determinasi yaitu memastikan keaslian pada tanaman yang digunakan sebagai sampel, agar menghindari terjadinya kesalahan dalam pengambilan sampel (Sentat, 2016). Berdasarkan hasil determinasi membuktikan bahwa benar tanaman tersebut merupakan tanaman pandan wangi dengan nama latin *Pandanus amaryllifolius* Roxb.

Proses pengambilan senyawa aktif pada daun pandan wangi digunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Dipilihnya metode maserasi yaitu karena metode tersebut baik digunakan untuk menarik senyawa aktif yang tidak tahan terhadap pemanasan dan sederhana dalam proses pengerjaannya (Utami & Yunilda, 2021). Daun pandan wangi diketahui mengandung senyawa aktif flavonoid, saponin, tanin, dan terpenoid (Rahmasiahi *at al.*, 2023). Senyawa aktif tersebut memiliki kemampuan dalam membunuh bakteri serta dapat menghentikan

pertumbuhan bakteri (Bhuyan & Sonowal, 2021). Alasan digunakan pelarut etanol 70% pada proses ekstraksi yaitu dikarenakan etanol 70% bersifat polar sehingga dapat melarutkan senyawa polar yang terkandung pada daun pandan wangi (Rahayu *et al.*, 2021).

Hasil ekstrak kental yang diperoleh dari proses maserasi, selanjutnya dilakukan perhitungan % rendemen. Hasil nilai rendemen ekstrak etanol daun pandan wangi yang diperoleh memenuhi syarat $>10\%$ (Depkes, 2000). Ekstrak etanol daun pandan wangi berwarna hijau pekat, bertekstur kental, berbau khas daun pandan wangi, dan memiliki rasa agak pahit. Hasil pengujian tersebut selaras dengan penelitian Utami & Rosa (2021) yang menyatakan bahwa ekstrak etanol daun pandan wangi berwarna hijau pekat, bertekstur kental, berbau khas daun pandan dan memiliki rasa agak pahit.

Ekstrak kental kemudian dilakukan pengujian secara kualitatif dengan tujuan untuk mengidentifikasi senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak etanol daun pandan wangi. Hasil pengujian senyawa alkaloid pada penelitian ini menunjukkan hasil yang negatif. Namun pada penelitian Nurdianti *et al.*, (2017) dan Mursyida *et al.*, (2021) membuktikan bahwa ekstrak etanol daun pandan wangi mengandung alkaloid. Perbedaan hasil tersebut dapat disebabkan karena adanya perbedaan jumlah alkaloid yang terkandung dalam daun pandan wangi, sehingga hal tersebut menjadi faktor yang menyebabkan terjadinya perbedaan hasil pada pengujian alkaloid. Menurut Lestari *et al.*, (2021) perbedaan ketinggian tempat tumbuh tanaman seperti suhu, kelembapan, dan intensitas cahaya dapat mempengaruhi kandungan metabolit sekunder terhadap tanaman.

Hasil pengujian senyawa flavonoid pada penelitian yang telah dilakukan menunjukkan hasil positif. Tujuan ditambahkan serbuk Mg dan asam klorida pada uji flavonoid untuk mengurangi ikatan glikosidik tanaman dengan flavonoid, ikatan tersebut direduksi agar dapat terbentuk warna kuning. Hasil tersebut dibuktikan oleh penelitian terdahulu yang dilakukan Rahmasiahi *et al.*, (2023) dan Utami & Rosa (2021) yang membuktikan bahwa ekstrak etanol daun pandan wangi mengandung flavonoid.

Hasil pengujian senyawa saponin pada penelitian ini menunjukkan hasil yang positif. Penambahan asam klorida 2N pada uji saponin bertujuan untuk membentuk buih lebih stabil. Buih yang didapatkan pada sampel menunjukkan kandungan saponin pada sampel. Senyawa zat aktif yang terkandung kemudian akan larut dalam air, saat dikocok, gugus hidrofilik berikatan dengan air. Sementara gugus hidrofobik berikatan dengan udara, menyebabkan terbentuknya busa. Hal ini didukung oleh penelitian Rahmasiahi *et al.*, (2023) dan Faizah Retno (2023) yang menyatakan bahwa ekstrak etanol daun pandan wangi mengandung saponin.

Hasil pengujian senyawa tanin pada penelitian ini yaitu positif. Penambahan FeCl_3 bertujuan untuk menentukan senyawa tersebut mengandung gugus fenolik. Adanya gugus fenolik ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kehijauan yang menunjukkan adanya kandungan tanin. Hasil ini dibuktikan oleh penelitian Rahmasiahi *et al.*, (2023) dan Utami & Rosa (2021) yang menyatakan bahwa ekstrak etanol daun pandan wangi positif mengandung tanin.

Hasil identifikasi senyawa steroid dan terpenoid pada penelitian ini positif steroid. Penelitian yang mendukung hasil penelitian ini dilakukan Sinata *et al.*, (2022) dan Handayani & Ulfi (2021) yang membuktikan bahwa ekstrak etanol daun pandan wangi negatif terpenoid serta positif mengandung steroid.

Setelah pengujian skrining fitokimia, selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. epidermidis* ATTC 12228. Pembuatan larutan stok ekstrak 100% untuk pengujian antibakteri menggunakan pelarut DMSO 10%. Pada proses melarutkan, ekstrak tidak larut sempurna pada pelarut yang digunakan meskipun sudah menggunakan bantuan *magnetic stirrer* dan sonikator selama 20 menit. Dilakukan penyaringan pada tahapan pembuatan stok ekstrak 100% tersebut dengan tujuan agar tidak menghambat proses preparasi pada saat pengujian aktivitas antibakteri. Tidak larutnya ekstrak pandan wangi pada pelarut yang digunakan mungkin dapat disebabkan karena zat aktif pada ekstrak etanol daun pandan wangi cenderung bersifat non polar, sehingga pelarut DMSO 10% tidak mampu melarutkan dengan sempurna.

Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan semua konsentrasi yang diujikan dapat menghambat bakteri *S. epidermidis* ATTC 12228. Pada uji aktivitas

antibakteri inkubasi media uji dilakukan selama 8 jam. Menurut Rosidah *et al.*, (2018) pada waktu 8 jam bakteri *S. epidermidis* mengalami fase stasioner, dimana pada fase tersebut mengalami jumlah pertumbuhan yang konstan atau tetap. Namun pada penelitian yang telah dilakukan, jika inkubasi dilakukan diatas 8 jam maka zona bening disekitar cakram kembali ditumbuhi oleh bakteri uji. Hal ini dimungkinkan karena pada saat pembuatan larutan konsentrasi ekstrak untuk pengujian tidak larut sempurna sehingga zat aktif yang ada didalam ekstrak tidak optimal. Hal ini dapat mempengaruhi efektivitas ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Variasi konsentrasi pada sampel uji sangat berpengaruh dalam pengujian aktivitas antibakteri. Menurut Halisa *et al.*, (2023) membuktikan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak, maka semakin besar daya hambat yang dihasilkan. Hal tersebut disebabkan karena pengaruh banyaknya kandungan zat aktif didalamnya, namun pada penelitian ini didapatkan hasil pada konsentrasi 25%, 50%, dan 75% diameter zona hambat yang dihasilkan semakin besar, tetapi pada konsentrasi 100% terdapat penurunan diameter zona hambat. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk membuktikan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun pandan wangi tidak linear dengan zona hambat yang terbentuk.

Hasil pada penelitian ini konsentrasi 25% merupakan konsentrasi terkecil yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. epidermidis* ATCC 12228 dengan zona hambat sebesar 10,50 mm dengan kategori kekuatan daya hambat sedang. Ekstrak etanol daun pandan wangi dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. epidermidis* ATCC 12228 karena adanya kandungan zat aktif flavonoid, tanin, saponin, dan steroid dalam daun pandan wangi. Dimana metabolit sekunder tersebut mempunyai sifat antibakteri. Flavonoid bertindak sebagai antibakteri dengan terbentuknya senyawa kompleks protein ekstraseluler bakteri, yang menyebabkan rusaknya membran sitoplasma bakteri (Zuraida *et al.*, 2021). Saponin bertindak sebagai antibakteri yaitu bersifat sitotoksik karena memiliki kemampuan untuk mengubah permeabilitas sitoplasma mikroba, menyebabkan sel mikroba menjadi lisis (Wahyuni *et al.*, 2018). Tanin bertindak sebagai antibakteri yaitu menghentikan enzim *reverse* transkriptase dan DNA, akibatnya dinding sel menjadi kurang sempurna dan mengakibatkan kematian sel bakteri (Zuraida *et al.*, 2021).

Steroid bertindak sebagai antibakteri yaitu dapat menghentikan pertumbuhan bakteri yaitu berinteraksi dengan membran fosfolipid sel, yang menjadi permeabel terhadap senyawa lipofilik, lalu menyebabkan kerapuhan sel kemudian lisis (Wahyuni *et al.*, 2018)

Hasil data pada penelitian ini didukung oleh uji analisis statistika dengan uji *One Way ANOVA*. Hasil analisis statistika menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan pada tiap variasi konsentrasi yang diujikan, sehingga perbedaan konsentrasi pada ekstrak etanol daun pandan wangi tidak signifikan mempengaruhi zona hambat yang terbentuk.

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANU
YOGYAKARTA