

## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Hasil

#### 1. Determinasi Tanaman

Daun pandan wangi yang diambil di Jopa Green yang di jalan Pasir Luhur, Desa Sukoharjo, Kec. Ngaglik, Kab. Sleman, DIY pada bulan Mei. Determinasi tanaman daun pandan wangi dilaksanakan di Laboratorium Pembelajaran Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Terapan Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta tanggal 7 Mei 2024 dengan nomor surat keterangan: 237/Lab.Bio/B/V/2024. Hasil dari determinasi menunjukkan bahwa tanaman tersebut merupakan *Pandanus amaryllifolius* Roxb. Hasil identifikasi tanaman dilihat pada **Lampiran 2**.

#### 2. Preparasi Sampel

Hasil penyerbukan dari daun pandan wangi sebesar 435,65 gram. Hasil perhitungan rendemen ekstrak dapat dilihat **Tabel 3**.

**Tabel 3. Hasil Rendemen Ekstrak Kental Daun Pandan Wangi**

Sampel	Berat Simplisia Serbuk (gram)	Berat Ekstrak (gram)	% Rendemen (b/b)
Ekstrak daun pandan wangi	400	72,89	18,22%

Hasil dapat diketahui pada Tabel 3 bahwa nilai % rendemen memenuhi syarat dari rendemen ekstrak kental ialah tidak kurang dari 10%.

#### 3. Uji Organoleptik

Uji organoleptik menggunakan indera manusia, atau juga dikenal sebagai uji sensori. Uji ini melibatkan indera penglihatan, penciuman, serta peraba. Hasil uji organoleptik dapat dilihat pada **Tabel 4**.

**Tabel 4. Hasil Uji Organoleptik**

Uji Organoleptik	Hasil
Warna	Hijau pekat
Bau	Aromatik khas daun pandan wangi
Bentuk	Kental

Tabel 4 menunjukkan bahwa hasil uji organoleptik yang didapatkan pada penelitian ini untuk ekstrak berwarna hijau pekat, berbau aromatik khas daun pandan wangi, serta bertekstur kental.

#### 4. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan suatu metode untuk menentukan kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etanol daun pandan wangi (Putri *et al*, 2013). Hasil dari skrining fitokimia dapat dilihat pada **Tabel 5**.

**Tabel 5. Hasil Skrining Fitokimia**

Golongan Senyawa	Pereaksi	Sampel Ekstrak Daun Pandan Wangi
Alkaloid	Wagner	-
	Mayer	-
	Dragendrof	-
Flavonoid	Magnesium + HCl pekat	+
Saponin	Aquadest	-
Tanin	FeCl <sub>3</sub>	-
Steroid	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + CH <sub>3</sub> COOH	+
Terpenoid	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + CH <sub>3</sub> COOH	+

Keterangan:

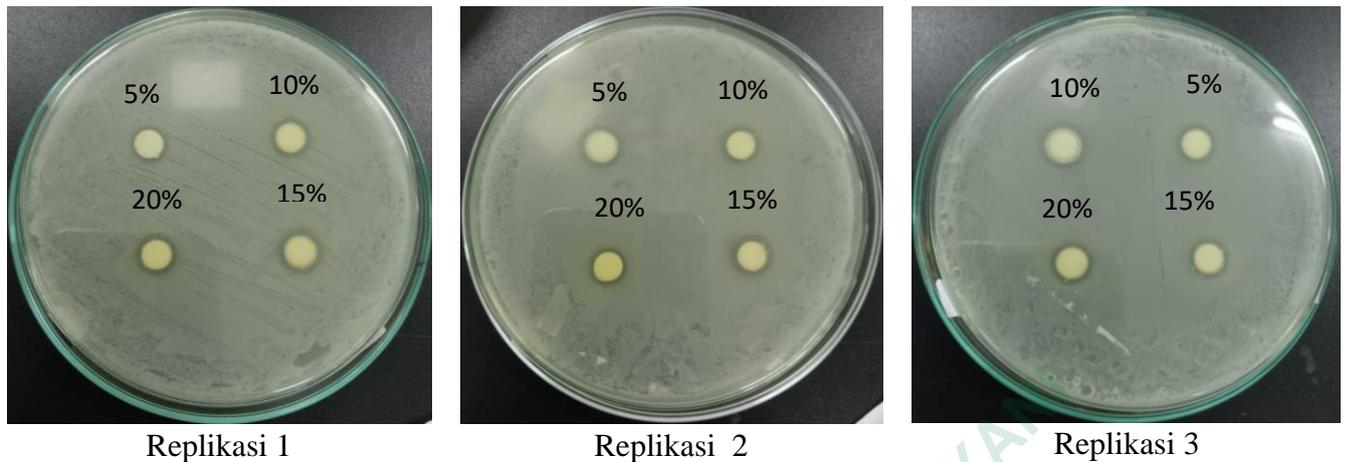
(+) = mengandung senyawa uji

(-) = tidak mengandung senyawa uji

Hasil pada Tabel 5 menunjukkan ekstrak tersebut mengandung senyawa flavonoid, steroid, serta terpenoid .

#### 5. Uji Aktivitas Antibakteri

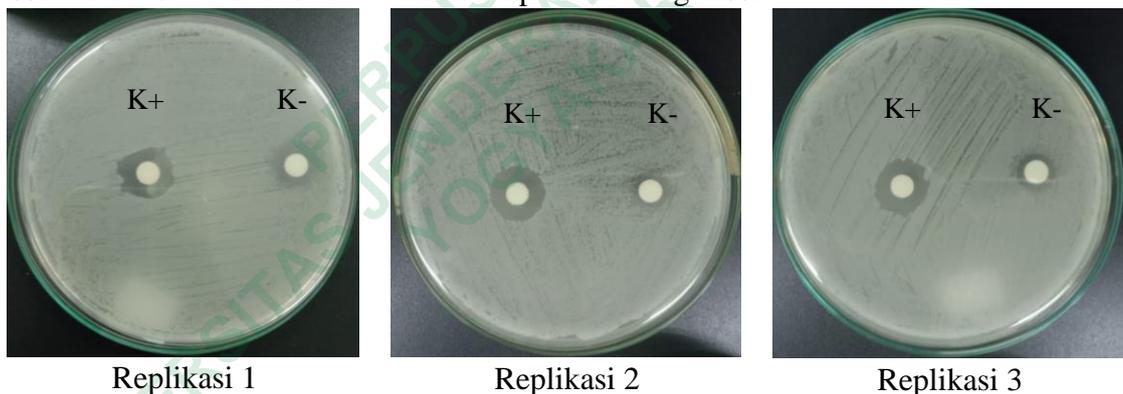
Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun pandan wangi terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans* ATCC 25175 dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, serta 20% dengan metode difusi cakram, menggunakan dua kelompok uji antara lain kelompok perlakuan serta kontrol. Hasil diameter zona hambat dapat dilihat pada **Gambar 6 dan Gambar 7**.



**Gambar 6. Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175**

Keterangan:

- 5% : konsentrasi ekstrak etanol daun pandan wangi 5%
- 10% : konsentrasi ekstrak etanol daun pandan wangi 10%
- 15% : konsentrasi ekstrak etanol daun pandan wangi 15%
- 20% : konsentrasi ekstrak etanol daun pandan wangi 20%

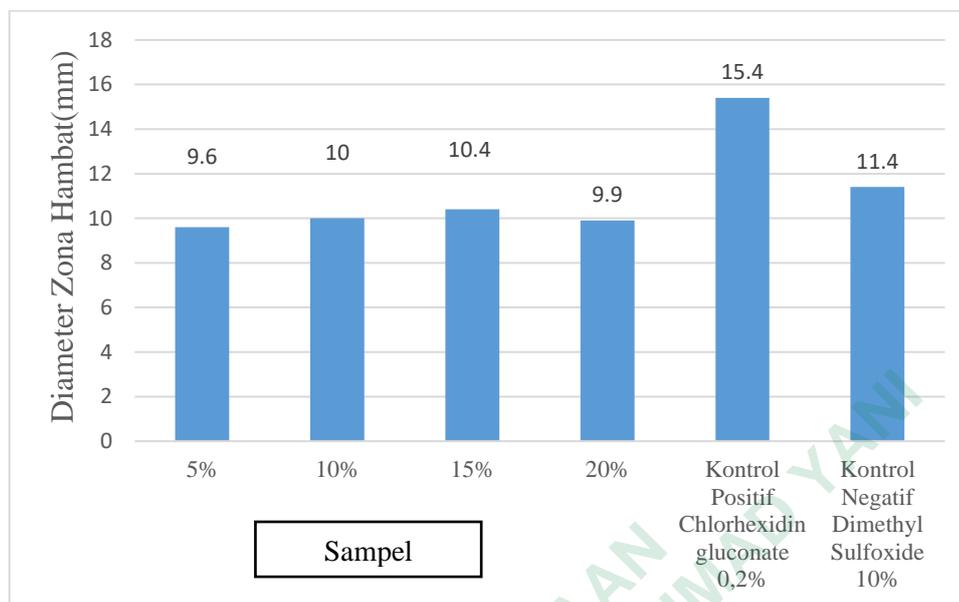


**Gambar 7. Diameter Zona Hambat Kontrol Positif Dan Kontrol Negatif Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175**

Keterangan:

- K+ : Kontrol positif (*Chlorhexidin gluconate* 0,2%)
- K- : kontrol negatif (*Dimethyl Sulfoxide* 10%)

Diameter zona hambat yang terbentuk diukur untuk didapatkan nilai rata-rata pada kelompok perlakuan serta kelompok kontrol. Hasil dari rata-rata diameter zona hambat dari *S. mutans* ATCC 25175 yang didapatkan dilihat pada **Gambar 8**.



**Gambar 8. Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175**

#### 6. Analisis Data

Data nilai daya hambat yang diperoleh, kemudian dianalisis secara statistika dengan SPSS. Tujuan dilakukan analisis tersebut adalah untuk membandingkan antar kelompok perlakuan. Hasil analisis statistika dapat dilihat pada **Tabel 6**.

**Tabel 6. Hasil Analisis Data Statistik Zona Hambat Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi**

Konsentrasi	Uji Normalitas <i>Shapiro-Wilk</i>	Uji Homogenitas <i>Levene's</i>	Uji <i>One Way Anova</i>
5%	0,081		
10%	0,747		
15%	1,000	0,099	0,001
20%	0,328		
Kontrol Positif	0,298		
Kontrol Negatif	0,843		

Hasil diperoleh zona hambat bakteri *S. mutans* ATCC 25175 dari ekstrak tersebut terdapat adanya perbedaan yang nyata (signifikan) antar kelompok perlakuan, sehingga dilanjutkan dengan uji selanjutnya.

### B. Pembahasan

Penelitian yang dilakukan dengan desain ekperimental laboratorium, dengan tujuan untuk mengidentifikasi daya hambat dari ekstrak pada bakteri *S. mutans*

ATCC 25175 menggunakan metode difusi cakram. Penelitian diawali dengan deteminasi tanaman yang akan digunakan, Hasil dari determinasi yang dilakukan di Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta (Laboratorium Pembelajaran Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Terapan) mengklaim bahwa tanaman tersebut merupakan *Pandanus amaryllifolius* Roxb. Determinasi ini bertujuan untuk memastikan jenis dari tanaman yang digunakan sesuai yang teliti. Hal ini dilakukan untuk menghindari terjadi kesalahan pada pengambilan tanaman yang diuji.

Proses pengambilan pada senyawa metabolit sekunder dari sampel dilakukan menggunakan metode maserasi serta pelarut etanol 70%. Ekstraksi dengan metode maserasi menghasilkan ekstrak kental dari daun pandan wangi yang selanjutnya dihitung % rendemen. Nilai rendemen yang lebih tinggi menunjukkan jumlah ekstrak yang didapatkan semakin banyak. Berdasarkan dari hasil perhitungan rendemen pada Lampiran 5, didapatkan hasil % rendemen >10% sehingga rendemen yang diperoleh memenuhi syarat dari rendemen ekstrak kental. Berdasarkan Farmakope Herbal Indonesia (2017) rendemen ekstrak kental harus memiliki nilai tidak kurang dari 10%. Hasil sampel memiliki nilai rendemen sebesar 18,22%, maka semakin besar nilai dari rendemen yang didapat, maka ekstrak yang didapat semakin baik juga.

Maserasi adalah pilihan yang baik untuk ekstraksi simplisia karena memiliki beberapa kelebihan. Kelebihan dari metode tersebut antara lain alat yang sederhana untuk digunakan dan dioperasikan, biaya operasional yang relatif cukup rendah, ekstraksi dilakukan pada suhu ruangan tanpa pemanasan, serta dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa kimia pada simplisia dengan lebih baik (Soemarie *et al.*, 2016). Proses penyarian sampel dilakukan menggunakan cara perendaman sejumlah serbuk dari simplisia dalam cairan penyari. Tujuan untuk menyari senyawa flavonoid pada ekstrak daun pandan wangi. Etanol 70% digunakan sebagai penyari dalam penelitian ini. Alasan pemilihan pelarut tersebut ialah karena etanol dapat menarik senyawa aktif lebih banyak. Alasan lain yaitu memilih pelarut tersebut ialah karena senyawa flavonoid pada umumnya berbentuk glikosida polar sehingga perlu dilarutkan menggunakan pelarut polar juga, serta etanol 70%

tersebut ialah pelarut polar. Tingkat kepolaritasnya lebih tinggi daripada etanol 96% (Hasanah dan Dede, 2020).

Berdasarkan Tabel 4 menunjukkan bahwa sifat organoleptik daun pandan wangi ialah berwarna hijau pekat serta bau aromatik khas dari sampel. Menurut Departemen Kesehatan Republik Indonesia (2000), tujuan parameter uji organoleptik ekstrak ialah untuk memberikan pengenalan awal terhadap ekstrak melalui deskripsi bentuk, warna, serta bau menggunakan panca indera. Hal tersebut didukung penelitian Utami dan Rosa, (2021) menyatakan bahwa hasil pengamatan uji organoleptik pada ekstrak tersebut memiliki bau, bentuk serta warna yang sama.

Proses berikutnya yaitu uji kualitatif atau uji skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa yang termasuk pada ekstrak tersebut. Hasil pengujian skrining fitokimia yang terdapat dalam ekstrak etanol daun pandan wangi yaitu senyawa flavonoid, steroid, serta terpenoid.

Uji skrining fitokimia pada alkaloid menggunakan 3 pereaksi antara lain *wagner*, *mayer* serta *dragendrof*. Hasil dari uji tersebut yaitu negatif tidak terbentuk endapan dari ketiga pereaksi, namun pada penelitian yang dilakukan Mursyida Fattya *et al.*, (2021) dan penelitian Utami dan Rosa (2021) menyatakan bahwa ekstrak etanol daun pandan wangi positif mengandung alkaloid. Perbedaan pada hasil uji tersebut dapat disebabkan karena adanya perbedaan pereaksi yang digunakan, sehingga hal tersebut dapat menjadi faktor dari perbedaan hasil yang didapatkan. Faktor lainnya yang menjadi perbedaan menurut penelitian Bermawie *et al.*, (2008) dari jenis tanah ataupun tempat tumbuh dapat mempengaruhi kandungan zat aktif yang terbentuk dalam tanaman. Hal tersebut selaras penelitian Kiyato *et al.*, (2022) yang berpendapat bahwa ekstrak pandan wangi tidak mengandung alkaloid.

Hasil uji senyawa flavonoid dilakukan dengan penambahan Magnesium serta penambahan HCl pekat dalam tabung reaksi. Hasil dari uji flavonoid tersebut yaitu positif terjadi perubahan warna orange pada larutan. Tujuan penambahan serbuk Magnesium serta asam klorida pekat pada pengujian untuk mengurangi inti benzopiron yang ada dalam struktur flavonoid, yang mengarah pada pembentukan garam flavilium. Dalam reaksi, serbuk Magnesium serta HCl akan menghasilkan

gelembung, yang merupakan gas Hidrogen (Illing *et al.*, 2017). Hal tersebut sejalan pada penelitian Kiyato *et al.*, (2022) dan Mursyida Fattyta *et al.*, (2021) yang menyatakan bahwa sampel positif mengandung flavonoid.

Hasil uji senyawa saponin ekstrak etanol daun pandan wangi dilihat dengan pembentukan buih yang stabil. Hasil dari uji tersebut yaitu negatif tidak terbentuk busa pada tabung reaksi. Saponin ialah senyawa mengandung gugus hidrofilik serta hidrofobik, gugus hidrofilik berikatan dengan air sementara pada gugus hidrofobik berikatan dengan udara sehingga akan menghasilkan buih ketika digojog (Simaremare, 2014). Hal tersebut sejalan pada penelitian Kiyato *et al.*, (2022) dan Mursyida Fattyta *et al.*, (2021) yang berpendapat ekstrak daun pandan wangi negatif mengandung saponin. Gliserol merupakan zat yang menghasilkan saponin, jika di reaksikan atau digojog menggunakan aquadest akan memperoleh buih serta gelembung bagaikan busa sabun yang elegan (Sangi *et al.*, 2008). Penelitian yang dilakukan pada sampel ini tidak larut pada aquadest, sehingga pada saat pengujian ekstrak tersebut menepel pada tabung reaksi.

Hasil pengujian senyawa tanin pada ekstrak menggunakan pereaksi besi (III) klorida 1%. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh hasil negatif tidak terjadi perubahan warna larutan biru tua atau hitam kehijauan pada droplate, melainkan perubahan warna kuning pada droplate. Tanin merupakan senyawa bersifat polar, karena adanya gugus OH. Menurut Sangi *et al.*, (2008), senyawa tersebut dengan pereaksi  $\text{FeCl}_3$  akan terhidrolisis serta membentuk warna biru kehitaman. Hasil uji senyawa tanin dengan  $\text{FeCl}_3$  dengan sampel menunjukkan negatif pada tanin, karena hasil yang diperoleh ialah warna kuning. Penelitian yang dilakukan oleh Utami dan Rosa (2021) serta penelitian Ratnasari *et al.*, (2023) yang menyatakan bahwa ekstrak tersebut positif tanin. Perbedaan hasil tersebut dikarenakan adanya jumlah pereaksi yang digunakan.

Hasil uji senyawa steroid dan terpenoid dengan menambahkan pereaksi asam glasial serta asam sulfat pekat, dihasilkan positif steroid dan terpenoid dengan terjadi perubahan larutan warna jingga pada droplate. Uji ini melibatkan penambahan satu sampai dua tetes asam asetat glasial dengan tujuan memutuskan gugus terpenoid steroid dengan gugus lain. Ditambahkan asam sulfat pekat, dengan

tujuan memutuskan ikatan gula pada senyawa. Uji tersebut didasarkan dengan kemampuan senyawa terpenoid serta steroid untuk menghasilkan warna menggunakan  $H_2SO_4$  serta pelarut asetat glasial untuk menghasilkan warna jingga (Puspa *et al.*, 2017). Hal tersebut didukung oleh penelitian Kiyato *et al.*, (2022) dan Mursyida Fattya *et al.*, (2021) yang berpendapat bahwa ekstrak tersebut positif mengandung steroid dan terpenoid.

Ekstrak etanol daun pandan wangi dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri *S. mutans* ATCC 25175 disebabkan adanya kandungan senyawa aktif yang terkandung pada daun tersebut. Hasil penelitian yang dilakukan ini, menunjukkan bahwa sampel mengandung senyawa aktif flavonoid, steroid serta terpenoid. Pada senyawa aktif tersebut memiliki sifat antibakteri. Cara kerja senyawa flavonoid bertindak sebagai antibakteri ialah menyusun senyawa kompleks pada protein ekstraseluler pada bakteri, oleh karena itu bisa menyebabkan kerusakan membran sitoplasma dari bakteri serta diikuti dengan pelepasan senyawa intraseluler (Elisabeth, 2018). Steroid dan terpenoid bertindak sebagai antibakteri karena dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang memiliki sifat permeable terhadap senyawa lipofilik oleh karena itu menyebabkan integritas membrane yang menurun, morfologi membrane sel berubah serta pada akhir mengakibatkan membran sel rapuh serta lisis (Ahmed, 2007).

Pengujian selanjutnya dilakukan ialah uji aktivitas antibakteri terhadap *S. mutans* ATCC 25175. Sampel uji kemudian dibuat menjadi 4 konsentrasi, antara lain 5%, 10%, 15% serta 20%. Pada saat pembuatan larutan stok konsentrasi 100%, ekstrak etanol daun pandan wangi diencerkan menggunakan *Dimethyl Sulfoxide* 10%, pada proses tersebut sampel tidak larut dalam *Dimethyl Sulfoxide* 10% sehingga dibutuhkan bantuan untuk melarutkan menggunakan *magnetic stirrer* dan sonikator selama masing-masing 20 menit. Suatu senyawa akan menunjukkan kelarutan yang bervariasi dalam suatu pelarut yang berbeda bahan serta senyawa kimia akan mudah melarut dengan pelarut yang relatif sama pada kepolarannya (Mangurana *et al.*, 2019). Sedangkan untuk kontrol positif yang digunakan yaitu *chlorhexidine gluconate* 0,2% dengan merek dagang minosep serta kontrol negatif nya ialah *Dimethyl Sulfoxide* 10%. Alasan menggunakan *Dimethyl Sulfoxide* 10% pada

penelitian karena *Dimethyl Sulfoxide* 10% ialah pelarut yang memiliki kemampuan untuk melarutkan bahan polar dan nonpolar. Selain itu, *Dimethyl Sulfoxide* tidak menghambat pertumbuhan dari bakteri, sehingga tidak mempengaruhi hasil uji aktivitas antibakteri (Utami, 2011). Namun pada penelitian ini *Dimethyl Sulfoxide* 10% terdapat zona bening pada sekitar kertas cakram, mungkin dikarenakan pada saat proses pengenceran *Dimethyl Sulfoxide* salah pada pipetting sehingga jumlah yang digunakan berlebih.

Uji aktivitas antibakteri inkubasi media yang diuji dilakukan selama 8 jam. Berdasarkan penelitian Mahmudah dan Atun (2017) menyimpulkan bahwa waktu yang efektif untuk melaksanakan uji aktivitas antibakteri adalah kurang dari 48 jam, karena bakteri tersebut masih berkembang biak dengan baik. Besarnya inokulum, pH lingkungan, komponen perbenihan bakteri, stabilitas zat aktif, lamanya inkubasi dan aktivitas metabolik bakteri, memengaruhi pertumbuhan bakteri yang tidak konstan (Audies, 2015). Waktu pertumbuhan sel bakteri merupakan waktu yang diperlukan sel untuk membelah diri menjadi 2 kali lipat. Setiap bakteri memiliki waktu generasi yang berbeda, beberapa hanya memerlukan dua puluh menit, sementara yang lain berlangsung hingga berjam-jam bahkan berhari-hari. Apabila bakteri di inokulasikan kedalam media baru, perkembangbiakan tidak segera akan terjadi tetapi ada beberapa tahap penyesuaian dengan lingkungan yang baru dikenal sebagai pertumbuhan. Bakteri tersebut akan berkembang biak dengan kecepatan yang stabil, sehingga akan menghasilkan kurva pertumbuhan (Wirayuni, 2017).

Hasil uji aktivitas antibakteri diamati pada zona bening disekitar difusi cakram, zona bening tersebut terbentuk diatas media agar yang menandakan adanya aktivitas dari sampel yang diuji. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. mutans* ATCC 25175. Konsentrasi sampel sangat berpengaruh dalam aktivitas antibakteri pada penelitian ini. Semakin rendah konsentrasi yang digunakan, semakin kecil ukuran zona hambat yang terbentuk pada bakteri uji. Hal tersebut dikarenakan penurunan konsentrasi mengurangi kadar zat aktif yang larut dalam sampel semakin sedikit juga. Sebaliknya Semakin konsentrasi besar yang diberikan, semakin luas juga diameter zona hambat yang terbentuk (Hudaya *et al.*, 2014). Berdasarkan hasil yang

diperoleh pada konsentrasi 5%, 10%, serta 15% terjadi peningkatan, namun pada konsentrasi 20% terjadi penurunan sehingga tidak linear. Jenis bakteri yang digunakan dalam penelitian, komponen senyawa aktif dalam ekstrak yang diuji, serta konsentrasi ekstrak yang dilakukan ialah beberapa penyebab zona hambat tidak terbentuk atau kecilnya zona hambat (Marini *et al.*, 2021).

Beberapa faktor dapat mempengaruhi perbedaan zona hambat, diantaranya yaitu kondisi inkubasi, tebal atau tidaknya media agar dan kecepatan difusi agar. Selain itu komposisi media, waktu inkubasi, serta suhu merupakan beberapa faktor yang mempengaruhi kecepatan difusi agar (Siregar *et al.*, 2012).

Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan pada konsentrasi 5%, 10%, 15% serta 20% diperoleh hasil rata-rata diameter zona hambat sebesar 9,6 mm, 10 mm, 10,4 mm, serta 9,9 mm dengan kategori daya hambat sedang. Hasil dari penelitian yang dilakukan ini, konsentrasi terkecil yang menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans* ATCC 25175 yaitu pada konsentrasi 5%. Kontrol positif *Chlorhexidin gluconate* 0,2% diperoleh rata-rata diameter zona hambat 15,4 mm dan kontrol negatif *Dimethyl Sulfoxide* 10% menghasilkan zona hambat sebesar 11,4 mm dengan kategori daya hambat kelompok kontrol tersebut yaitu kuat.

Hasil pengujian dari aktivitas antibakteri pada kontrol positif dengan *chlorhexidin gluconate* 0,2% diperoleh nilai diameter rata-rata zona hambat adalah 15,4 mm, yang tergolong dalam kategori kuat. Zona hambat yang dihasilkan kontrol positif lebih baik dari zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak etanol daun pandan wangi. Mekanisme kerja dari *chlorhexidin gluconate* 0,2% ialah mengganggu proses perjalanan membran sel serta metabolisme bakteri, sehingga pada dinding sel menjadi pecah. Proses ini dimulai dengan penggunaan senyawa *Chlorhexidin gluconate* 0,2% yang mengikat bakteri *S. mutans* ATCC 25175 melalui ikatan ionik, di mana kation dari molekul *chlorhexidin gluconate* tertarik pada anion di dinding sel *S. mutans* ATCC 25175. Proses ikatan ionik meningkatkan permeabilitas selektif peptidoglikan pada *S. mutans* ATCC 25175, merusak membran sel dan menyebabkan kebocoran sitoplasma, yang akhirnya berakibat pada kematian bakteri (Muhtar, 2021).

Uji analisis data yang dilakukan dengan menggunakan uji *One Way ANOVA* menunjukkan adanya perbedaan signifikan pada kelompok ekstrak etanol daun pandan wangi, *Chlorhexidin Gluconate* 0,2% dan *Dimethyl Sulfoxide* 10%. Uji lanjutan yang dilakukan menunjukkan hasil bahwa adanya perbedaan signifikan pada kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan lainnya. Sedangkan pada kelompok perlakuan ekstrak etanol daun pandan wangi pada konsentrasi 5%, 10%, 15% dan 20% tidak menunjukkan adanya perbedaan signifikan yang artinya tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada diameter zona hambat yang dihasilkan oleh tiap variasi konsentrasi ekstrak etanol daun pandan wangi.

PERPUSTAKAAN  
JENDERAL ACHMAD  
YOGYAKARTA  
UNIVERSITAS