ISSN: 1693-8666

available at http://journal.uii.ac.id/index.php/JIF

Antibacterial and antifungal activities of extract and fractions of pandan wangi (Pandanus amaryllifolius Roxb) leaves

Aktivitas antibakteri dan antijamur dari ekstrak dan fraksi daun pandan wangi (Pandanus amaryllifolius Roxb)

Riyan Setiyanto*, Iin Suhesti, Annisa Dwi Utami

Prodi D3 Farmasi Politeknik Indonusa Surakarta, Indonesia *Coresponding author: rivansetivanto@poltekindonusa.ac.id

Abstract

Background: *Pandanus amaryllifolius* Roxb leaves are commonly used as a food additive, green coloring agent, and flavor enhancer. Additionally, these leaves are renowned in herbal medicine for their potential to inhibit cancer cell growth, relieve diarrhea, and act as antioxidants. The leaves contain alkaloids with promising antibacterial and antifungal properties.

Objective: This research aimed to evaluate the inhibitory zone activity of leaf extract (ethanol), n-hexane, and ethyl acetate fractions against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Escherichia coli*, and *Candida albicans*.

Method: The maceration method was used for extraction, employing a 70% ethanol solution as the solvent. The ethanol extract was then fractionated using n-hexane and ethyl acetate. The Kirby-Bauer disc diffusion method was applied to assess the antibacterial and antifungal activity of the extracts and fractions. The diameter of the inhibition zones was measured and analyzed statistically.

Result: The ethanol extract demonstrated the strongest antibacterial activity against MRSA compared to the n-hexane fraction and the ethyl acetate fraction. None of the concentration variations significantly inhibited the growth of *Escherichia coli* and *Candida albicans*.

Conclusion: The ethanolic extract of *Pandanus amaryllifolius* Roxb leaves shows potential as an antibacterial agent against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.

Keywords: Pandanus amaryllifolius Roxb., 70% ethanol extract, fractionation, disc diffusion method, MRSA

Intisari

Latar belakang: Daun *Pandanus amaryllifolius* Roxb umumnya digunakan sebagai komponen tambahan makanan zat pewarna hijau dan penambah rasa. Daun ini telah dikenal luas sebagai obat herbal yang mempunyai potensi menghambat pertumbuhan sel kanker, meringankan diare, berkhasiat sebagai antioksidan. Kandungan daunnya mengandung alkaloid yang berpotensi menunjukkan efek antibakteri dan antijamur.

Tujuan: Penelitian ini untuk mengukur aktivitas zona hambat dari ekstrak daun (etanol), fraksi n-heksan dan etil asetat terhadap *Staphylococcus aureus* resisten methicillin, *Escherichia coli*, dan *Candida albicans*.

Metode: Metode maserasi digunakan untuk mengekstraksi. Pelarut yang digunakan adalah larutan yang terdiri dari 70% etanol. Ekstrak etanol dilakukan fraksinasi n-heksan dan etil asetat. Metode difusi cakram Kirby-Bauer digunakan uji aktivitas diagnostik antibakteri dan antijamur. Diameter zona hambat kemudian diukur dan dilakukan analisis statistik.

Hasil: Ekstrak daun (etanol) memperlihatkan daya antibakteri yang paling kuat terhadap *MRSA* dibandingkan fraksi n-heksana dan fraksi etil asetat. Variasi konsentrasi secara substansial mengurangi pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Candida albicans*.

Kesimpulan: Ekstrak daun *Pandanus amaryllifolius* Roxb yang dilarutkan dalam pelarut etanol 70% memiliki potensi antibakteri untuk *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap methicillin.

Kata kunci: Pandanus amaryllifolius Roxb, ekstrak etanol 70%, fraksinasi, metode difusi cakram, MRSA

1. Pendahuluan

Indonesia adalah negara yang memiliki sumber daya alam yang melimpah. Masyarakat Jawa, Sunda, Manado, Kalimantan, dan daerah lainnya masih bergantung pada tanaman untuk pengobatan konvensional, sebuah praktik yang telah diwariskan secara turun-temurun (Adiyasa & Meiyanti, 2021). Pada tahun 2012 dan 2015, Badan LITBANGKES Kemenkes melakukan studi Tumbuhan Obat dan Jamu (RISTOJA). Masyarakat telah menggunakan total 10.048 tumbuhan tradisional untuk mengobati 74 kondisi yang berbeda, sebagaimana diidentifikasi oleh penelitian tersebut. Sebanyak 19.871 tanaman obat yang sering digunakan sebagai tumbuhan tradisional, 16.218 di antaranya telah berhasil diidentifikasi, menurut BPPT 2018.

Tanaman tropis yang dikenal sebagai *Pandanus amaryllifolius* (Roxb.) sering digunakan sebagai bahan makanan (Faras *et al.*, 2014). Daun pandan wangi diyakini memiliki sifat antibakteri karena kandungannya, termasuk flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, polifenol, dan pigmen (Mardiyaningsih & Aini 2014). Komponen kimia yang ada dalam daun pandan wangi telah ditemukan memiliki sifat antijamur dalam penelitian sebelumnya. Tanin, saponin, alkaloid, dan flavonoid merupakan komponen kimia daun tersebut diketahui memiliki daya antibakteri dan antijamur (Tias, 2019).

Kemanjuran pilihan pengobatan empiris berisiko karena peningkatan resistensi antibiotik baru-baru ini di antara patogen yang menyebabkan infeksi saluran pernapasan yang parah. Dalam *European Epech Study*, ditemukan bahwa 60% dari isolat *Staphylococcus aureus* yang diperiksa adalah *MRSA*. Sebanyak 72% patogen *S. aureus* yang menyebabkan bakteremia dan teramati pada pasien adalah *S. aureus* resisten Methicillin (*MRSA*) (Sagita *et al.*, 2020). Daun pandan memiliki sifat aromatik dan dapat digunakan alternatif untuk pengobatan infeksi patogen dan penyembuhan luka yang disebabkan oleh bakteri (Nofikasari *et al.*, 2017). Daun pandan juga dapat digunakan sebagai pengobatan keputihan yang disebabkan oleh *Candida albicans* (Tias, 2019).

Penelitian ini mempunyai tujuan untuk menilai sifat antibakteri dan antijamur ekstrak daun pandan wangi dalam tiga bentuk yang berbeda: ekstrak etanol 70%, fraksi etil asetat, dan fraksi nheksan. Penggunaan ketiga jenis pelarut ini dimaksudkan untuk melarutkan komponen zat aktif yang terdapat dalam daun yang memiliki karakteristik kepolaran yang berbeda-beda.

2. Metode

2.1 Bahan dan alat

Bahan utama penelitian ini adalah simplisia daun pandan (*P. amaryllifolius* (Roxb.)), pelarutnya adalah etanol 70 % (PT. Bratachem). Bahan pelarut untuk fraksinasi adalah pelarut nheksan dan etil asetat (PT Bratachem). Media pembiakan bakteri adalah *Nutrient Agar* (NA) dan *Nutrient Broth* (NB) (Merck) dan akuades. Media pembiakan jamur adalah *Sabouroud Dextrose Agar* (SDA). Bakteri yang digunakan adalah *E. coli, S. aureus* resisten Methicillin *MRSA, C. albicans,* cakram disk dan cakram antibiotik yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi FK UNS. Dalam uji mikrobiologi juga digunakan NaCl steril dan ketoconazole. Reagen yang digunakan HCl dan pereaksi Meyer diperoleh dari Laboratorium Kimia Politeknik Indonusa Surakarta.

Peralatan kaca yang digunakan antara lain erlenmeyer, gelas ukur, petri disk dan labu takar (*Pyrex*). Alat -alat lain yang digunakan antara lain: cawan porselen, bejana maserasi, corong pisah (*IWAKI*), oven (*Memmert*), inkubator (*Memmert*), rotary evaporator (*B-ONE Horizontal Rotary Evaporator 2000 Series RE-2000 HN*), waterbath, dan desikator (*DURAN Desiccator 247816107*).

2.2 Determinasi tanaman

Daun *P. amaryllifolius* Roxb dikumpulkan dari dusun Kauman, desa Keden, kecamatan Pedan, kabupaten Klaten. Akar, batang, dan daun tanaman pandan wangi diidentifikasi di Laboratorium Biologi FKIP UMS.

2.3 Pembuatan simplisia

Pembuatan simplisia menggunakan daun pandan wangi yang sudah matang dan berwarna hijau sempurna. Daun disortasi, kemudian dibersihkan dengan menggunakan air yang mengalir. Daun pandan dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 60°C selama 18 jam (Kemenkes RI, 2017). Daun yang sudah menjadi simplisia kering disortasi kembali kemudian diserbuk. Perhitungan susut pengeringan simplisia dan kadar air dilakukan pada tahap akhir.

2.4 Ekstraksi dan pembuatan variasi konsentrasi ekstrak

Serbuk simplisia direndam dalam pelarut etanol 70% dengan rasio 1:10 pada suhu kamar selama tiga hari, dengan pengadukan yang dilakukan setiap empat jam atau enam jam sekali. Ekstrak etanol kemudian disaring untuk mendapatkan filtrat dari residu maserasi dengan menggunakan kertas saring. Pelarut dalam ekstrak kemudian diuapkan dengan cara memanaskannya pada suhu

40°C menggunakan *rotating vacuum evaporator* kemudian dilanjutkan dengan mengeringkan ekstrak dengan *waterbath* pada suhu 60°C (Handoyo, 2020). Selanjutnya dilakukan analisis kadar air dan uji ketiadaan etanol pada ekstrak kental yang dihasilkan. Ekstrak etanol (b/b) disiapkan dengan konsentrasi 20% (ekstrak I), 40% (ekstrak II), dan 60% (ekstrak III).

2.5 Skrining fitokimia

Pada penelitian ini dilakukan skrining fitokimia yang melibatkan penggunaan berbagai reagen untuk mendeteksi dan mengidentifikasi senyawa-senyawa, diantaranya adalah alkaloid, flavonoid, polifenol, kuinon, saponin, steroid-terpenoid, dan tanin berdasarkan perubahan warna yang dihasilkan.

2.5.1 Uji kandungan flavonoid

Sebanyak satu gram ekstrak (ekstrak I, II, III) dilarutkan seluruhnya dalam etanol. Kemudian, bubuk magnesium dan lima tetes asam klorida pekat (HCl) ditambahkan satu tetes setiap kali. Warna yang dihasilkan akan muncul sebagai warna kuning, merah, atau oranye jika hasilnya positif (Oktavia et al., 2020).

2.5.2 Uji kandungan alkaloid

Satu gram ekstrak (ekstrak I, II, III) dipindahkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya, ditambahkan 5 mL HCl, kemudian dipanaskan hingga mendidih. Setelah itu ditambahkan dengan pereaksi Mayer untuk dideteksi. Sampel yang menunjukkan adanya endapan putih atau kuning menandakan hasil positif (Oktavia *et al.*, 2020).

2.5.3 Uji kandungan saponin

Uji saponin merupakan teknik yang digunakan untuk mengidentifikasi keberadaan saponin. Larutan dibuat dengan mencampurkan satu gram ekstrak etanol (ekstrak I, II, III) dengan 10 mL akuades yang telah dipanaskan. Ekstrak etanol pada awalnya dilarutkan dalam *waterbath* kemudian diaduk dengan kuat, HCl ditambahkan setelah didiamkan selama 10 menit. Jika dihasilkan buih maka menandakan hasil positif (Syamsuddin & Karim 2019).

2.6 Fraksinasi dan pembuatan variasi konsentrasi fraksi

Pelarut n-heksana 10 mL ditambahkan ke dalam ekstrak kental daun pandan dalam corong pemisah. Kocok campuran dengan kuat kemudian diamkan campuran tersebut hingga mengalami pemisahan. Fraksi n-heksana dipisahkan dari fraksi air. Dengan prosedur yang sama fraksi etanol kemudian dipisahkan dengan menggunakan 10 mL etil asetat. Seluruh fraksi dikumpulkan kemudian

diuapkan menggunakan *waterbath* (Islamiyati & Pujiastuti, 2020). Fraksi n-heksana dan fraksi etil asetat kemudian dibuat konsentrasi masing-masing 10%, 20%, dan 30% (b/b).

2.7 Uji aktivitas antibakteri

Penelitian ini menggunakan metode difusi cakram untuk melakukan uji aktivitas antibakteri. Sebanyak 10 mL larutan ekstrak etanol, serta fraksi n-heksana dan etil asetat dengan berbagai konsentrasi digunakan untuk merendam cakram kertas steril berukuran 6 mm selama 15 menit. (Fiana *et al.*, 2020). Selanjutnya, cakram dievaluasi aktivitas penghambatannya terhadap bakteri dengan menginkubasinya di media NA pada suhu 37°C selama 24 jam (Kosasi *et al.*, 2019) dan pada media SDA untuk jamur selama 48-72 jam (Sophia & Suraini, 2022).

Ekstrak etanol, fraksi n-heksana etil asetat diuji terhadap bakteri *MRSA, E. coli,* dan *C. albicans*. Zona bening yang terbentuk sebagai hasil parameter yang digunakan. Zona bening diukur dengan jangka sorong (satuan mm). Kontrol positif untuk bakteri *E. coli* adalah kloramfenikol, sedangkan azitromisin digunakan untuk bakteri *MRSA*. Ketocenazole digunakan sebagai kontrol positif dalam pengujian *C. albicans* (CLSI, 2020). Investigasi antibakteri dan antijamur menggunakan larutan DMSO 10% sebagai kontrol negatif. Zona hambat digunakan untuk mengukur tingkat penghambatan pertumbuhan bakteri pada uji aktivitas antibakteri.

2.8 Analisa data statistik

Analisis data penelitian ini menggunakan metode analisis parametrik dan non-parametrik. Analisis parametrik dilakukan apabila data yang diperoleh dari diameter zona bening (hambat) antibakteri, diameter zona bening (hambat) antijamur, variasi konsentrasi ekstrak etanol, variasi konsentrasi fraksi n-heksana, etil asetat berdistribusi normal dan homogen. Analisis non parametrik dilakukan ketika data yang diperoleh tidak mengikuti distribusi normal. Analisis parametrik dalam konteks ini menggunakan perangkat SPSS (*Statistical and Service Solution*) 22 *one-way* ANOVA, menggunakan pendekatan statistik dengan tingkat kepercayaan 95%. Interpretasi dari temuan uji ANOVA adalah sebagai berikut: Nilai p kurang dari 0,05 pada kolom signifikan menunjukkan perbedaan yang signifikan antara sampel. *Kruskall-Wallis* adalah pendekatan analisis non-parametrik yang digunakan ketika hasil data tidak terdistribusi normal. Nilai p yang kurang dari atau sama dengan tingkat signifikansi α (0,05), digunakan untuk menginterpretasikan temuan uji Kruskall-Wallis (Nazaruddin & Fatmaningrum, 2021).

3. Hasil dan pembahasan

3.1 Hasil determinasi identifikasi Pandanus amaryllifolius Roxb

Untuk memastikan bahwa tanaman yang digunakan sebagai sampel adalah tanaman pandan wangi, maka dilakukan prosedur determinasi dan identifikasi. Di Lab. Biologi FKIP UMS, determinasi dilakukan dengan menitikberatkan pada analisis akar, batang, dan daun pohon pandan wangi. Hasil analisis menyebutkan sampel tersebut teridentifikasi sebagai pandan wangi (*P. amaryllifolius* (Roxb.)).

3.2 Hasil pembuatan simplisia Pandanus amaryllifolius Roxb.

Tahap pertama dalam pembuatan ekstrak adalah pembuatan simplisia (Health, 2017). Tujuan dari penghalusan simplisia adalah untuk meningkatkan luas permukaan jaringan tanaman, untuk meningkatkan efisiensi proses ekstrasi (Kurniawati, 2015). Setelah itu dilakukan perhitungan LOD ($Loss\ on\ Drying$) untuk mengetahui kuantitas kandungan simplisia yang hilang selama prosedur pengeringan. Tabel 1 berikut ini menyajikan hasil perhitungan tersebut:

Tabel 1. Hasil LOD simplisia

Berat basah (gram)	Berat kering (gram)	LOD (%)
1554,3 gram	150,56 gr	90,32 %

Kuantifikasi bahan residu setelah proses pengeringan dengan menggunakan suhu 105°C selama kurang lebih 30 menit atau hingga tercapai bobot konstan disebut sebagai susut pengeringan (Kemenkes RI, 2017). Berat konstan didefinisikan sebagai urutan penimbangan yang memiliki selisih maksimum 0,25% atau 0,0025 mg, seperti yang didefinisikan oleh Depkes RI pada tahun 2000. Uji susut bobot pengeringan dirancang untuk menentukan jumlah maksimum zat yang hilang selama proses pengeringan. Uji susut pengeringan yang dilakukan pada daun pandan wangi menghasilkan nilai 0,267%, sedangkan uji susut pengeringan awal yang dilakukan pada daun pandan wangi menghasilkan nilai 0,0195%. Hasil uji susut bobot pengeringan menunjukkan bahwa penimbangan simplisia secara berurutan berbeda maksimal 0,25% atau 0,0025 mg. Kadar air dari simplisia yang telah dikeringkan adalah 5,58%, seperti yang ditunjukkan oleh hasil pengujian. Hasil yang diperoleh sesuai dengan spesifikasi susut pengeringan untuk simplisia daun pandan wangi, seperti yang diuraikan dalam Farmakope Herbal Indonesia, yang menetapkan maksimum 10% (Kemenkes RI, 2017).

3.3 Ekstraksi Pandanus amaryllifolius Roxb.

Keberhasilan mengekstraksi metabolit dari tanaman menggunakan pelarut sangat bergantung pada kelarutan senyawa dalam pelarut, berdasarkan konsep bahwa senyawa akan larut dalam pelarut yang mempunyai sifat kepolaran yang relatif sama (Puspita, 2012). Etanol digunakan sebagai pelarut untuk memisahkan molekul polar, yang kemudian dipisahkan menggunakan nheksana untuk mendapatkan senyawa non-polar kemudian difraksinasi menggunakan etilasetat. Hasil rendemen ekstrak didapatkan nilai 10,32 % seperti yang tercantum di Tabel 2.

Tabel 2. Rendemen ekstrak

Simplisia kering (gram)	Ekstrak kental (gram)	Rendemen(%)
150	15,48	10, 32

Tabel 3. Uji Organoleptis ekstrak yang diperoleh yang meliputi bentuk, warna dan bau

Bentuk	Warna	Bau
Ekstrak kental	Hijau kehitaman	Khas menyengat

Uji organoleptik (Tabel 3) dilakukan untuk mengetahui bentuk, warna, dan aroma daun pandan. Evaluasi kadar air ekstrak dilakukan dengan menghitung jumlah air yang terdapat dalam bahan (Depkes RI, 2000). Kadar air ekstrak dipastikan sebesar 5,58% dengan menggunakan alat *moisture balance*. Kadar air ekstrak daun pandan wangi tidak diperbolehkan lebih 10%, seperti yang tertera pada buku "Farmakope Herbal Indonesia" (Kemenkes RI, 2017). Hal ini karena kualitas ekstrak dapat terganggu sebagai akibat dari perkembangan mikroorganisme yang berlebihan selama penyimpanan, yang mungkin disebabkan oleh tingkat kelembapan yang lebih tinggi. Ekstrak daun pandan wangi memenuhi standar kualitas ekstrak, yang mana dibuktikan dengan kadar air 8,27%.

Uji bebas etanol digunakan untuk menghilangkan etanol dari ekstrak untuk menghasilkan ekstrak murni bebas dari pelarut. Sifat antimikroba etanol mencegah terjadinya hasil positif palsu selama pengolahan sampel (Kurniawati, 2015). Prosedur analisis bebas etanol dilakukan dengan cara penambahan asam asetat dan asam sulfat sebagai pereaksi dan katalisator esterifikasi pada ekstrak daun pandan wangi yang kemudian dipanaskan. Uji bebas etanol ekstrak daun pandan wangi menunjukkan hasil tidak memiliki aroma khas ester (wangi). Fenomena ini terjadi karena tidak adanya ikatan kimia antara atom hidroksil (OH) dari asam asetat dan atom hidrogen dari etanol. Adanya asam sulfat yang berfungsi sebagai katalis sekaligus asam kuat memfasilitasi terjadinya reaksi ini, sehingga mencegah terbentuknya ester dan bau yang ditimbulkan (Wulandari, 2017). Ekstrak daun pandan wangi tidak mengandung etanol, seperti yang ditunjukkan oleh hasil pengujian.

3.4 Hasil skrining fitokimia Pandanus amaryllifolius Roxb

Hasil uji flavonoid (Gambar 1a) pada ekstrak etanol 70% daun pandan wangi I dan II adalah sebagai berikut: ekstrak I yang awalnya berwarna hijau pekat mengalami perubahan warna menjadi hijau kecoklatan, sedangkan ekstrak III mengalami perubahan warna menjadi kuning kecoklatan. Ekstrak I dan II dinyatakan positif mengandung flavonoid, sedangkan ekstrak III dinyatakan negatif, yang dibuktikan dengan ketiga hasil uji tersebut. Ekstrak etanol memperlihatkan adanya kandungan flavonoid dengan adanya perubahan warna menjadi hijau kecoklatan (Hardianti *et al.*, 2022). Hasil uji kandungan flavonoid ekstrak III yang mengandung 60% ekstrak tidak menunjukan hasil yang sama diduga karena kurangnya pereaksi uji yang digunakan pada sampel. Oleh karena itu, keberadaan flavonoid dalam ekstrak tidak dapat dideteksi. Flavonoid memberikan efek antibakteri melalui tiga mekanisme yang berbeda yaitu gangguan pada produksi asam nukleat, gangguan fungsi membran sel, dan penghambatan metabolisme energi (Widyastrinia *et al.*, 2021).

Hasil uji alkaloid (Gambar 1b) pada ekstrak etanol 70% daun pandan wangi menunjukkan bahwa ketiga ekstrak tersebut mengandung alkaloid. Kandungan alkaloid pada ekstrak I, II, dan III menyebabkan sampel membentuk padatan putih ketika dicampur dengan pereaksi Mayer. Ekstrak etanol daun pandan wangi mengandung alkaloid, diperlihatkan terbentuknya endapan putih pada ekstrak (Hardianti *et al.*, 2022). Alkaloid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara menghalangi replikasi DNA serta enzim topoisomerase bakteri. Menghambat replikasi DNA akan mencegah pembelahan DNA, sehingga menghambat perkembangan bakteri (Widyastrinia *et al.*, 2021).

Hasil uji saponin (Gambar 1c) pada ekstrak I, II, dan III daun pandan wangi menunjukkan bahwa buih pada sampel tetap bertahan dalam waktu lebih dari 10 menit. Oleh karena itu, ketiga ekstrak tersebut menunjukkan adanya kandungan saponin. Temuan ini sesuai literatur yang ada, yang menyatakan bahwa ekstrak yang memiliki kandungan saponin menunjukkan adanya buih dengan durasi lebih dari 10 menit (Hardianti *et al.*, 2022). Saponin berfungsi sebagai antibakteri mekanisme kerjanya menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan mengganggu permeabilitas membran. Saponin menempel pada membran sitoplasma, menyebabkan ketidakstabilan pada membran sel, dan menyebar melewati membran luar dan dinding sel yang lemah. Akibatnya, terjadi kebocoran sitoplasma dari dalam sel yang menyebabkan inisiasi kematian sel (Widyastrinia *et al.*, 2021).

Hasil analisis fitokimia membuktikan bahwa ekstrak daun pandan mengandung saponin, alkaloid, dan flavonoid. Ketiga metabolit sekunder ini menunjukkan sifat farmakologis yang efektif

melawan bakteri dan jamur (Tias, 2019). Berdasarkan hasil tersebut uji mikrobiologi dilakukan untuk menguji aktivitas antibakteri dan antijamur ekstrak daun pandan wangi.







Gambar 1. Hasil uji kandungan fitokimia a (flavonoid), b (alkaloid), c (saponin)

3.4 Hasil uji aktivitas antibakteri dan antijamur Pandanus amaryllifolius Roxb

Fraksi n-heksana serta etil asetat dibuat dengan konsentrasi 10, 20, dan 30%, sedangkan ekstrak etanol dibuat dengan konsentrasi 20, 40, 25, dan 60%. Metode difusi cakram digunakan untuk mengevaluasi sifat antibakteri dan antijamur. *Escherichia coli* dan *MRSA* adalah bakteri yang digunakan sedangkan *C. albicans* adalah jamur yang digunakan dalam penelitian ini. Hasil uji aktivitas antibakteri ditunjukkan pada Tabel 4, Tabel 5 dan Tabel 6 berupa rerata zona hambat dari ekstrak etanol, fraksi n-heksana, dan fraksi etil asetat.

Tabel 4. Diameter zona hambat ekstrak etanol daun pandan wangi

Sampel Uji	Rerata diameter zona hambat (mm)±SD		
	Eschericia coli	MRSA	Candida albicans
Kontrol positif	28,34 ± 1,25	11,94 ± 0,12	32,5±3,21
Kontrol negatif	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Konsentrasi ekstrak 20 %	0,71± 0,16	9,72±0,92	0 ± 0
Konsentrasi ekstrak 40 %	1,53±0,30	12,79±1,24	1,17±0,08
Konsentrasi ekstrak 60 %	2,91±1,48	14,37±0,62	1,93±0,38

Tabel 5. Diameter zona hambat fraksi n-heksan daun pandan wangi

Sampel Uji	Rerata diameter zona hambat (mm)±SD		
	Eschericia coli	MRSA	Candida albicans
Kontrol positif	27,46 ± 0,56	11,13 ± 0,31	35,91±0,83
Kontrol negatif	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Konsentrasi fraksi 10 %	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Konsentrasi fraksi 20 %	0,75±0,25	$5,47 \pm 0,73$	0 ± 0
Konsentrasi fraksi 30 %	4,14±0,16	$6,08 \pm 0,69$	$2,5 \pm 0,5$

Tabel 6. Diameter zona hambat fraksi etil asetat daun pandan wangi

Sampel Uji	Rerata diameter zona hambat (mm)±SD		
	Eschericia coli	MRSA	Candida albicans
Kontrol positif	26, 22 ± 0,49	11,09 ± 0,68	29, 97± 0,15
Kontrol negatif	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Konsentrasi fraksi 10 %	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Konsentrasi fraksi 20 %	0 ± 0	1,06±0,27	0 ± 0
Konsentrasi fraksi 30 %	0 ± 0	4,23±1,6	0 ± 0

Efektivitas antibakteri ekstrak daun pandan wangi dapat dinilai dengan mengukur diameter zona bening (hambat) yang mengelilingi kertas cakram. Data tabel menunjukkan bahwa ukuran zona hambat secara langsung dipengaruhi oleh konsentrasi sampel. Ekstrak etanol 70% menunjukkan nilai zona hambat terbesar terhadap bakteri *MRSA*. Hal ini kemungkinan disebabkan karena sebagian besar metabolit sekunder tanaman dapat larut dalam air. Flavonoid terdiri dari dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh tiga atom karbon, membentuk struktur esensialnya. Senyawa yang mengandung nitrogen disebut sebagai alkaloid. Atom nitrogen dalam alkaloid terutama ditemukan dalam cincin heterosiklik, yang terdiri dari atom nitrogen dan karbon yang umumnya larut dalam air (Dewanti dan Sofian, 2017). Rerata daya antibakteri ekstrak tersebut adalah 9,72±0,92 terhadap bakteri *MRSA* pada konsentrasi ekstrak 20%. Rerata 12,79±1,24 dan 14,37±0,62 ditunjukkan pada konsentrasi ekstrak 40% dan 60%. Hal ini sebabkan karena sebagian besar fenolat dapat larut dalam air, namun ada beberapa yang dapat larut dalam pelarut organik atau bahkan polimer yang sangat besar dan tidak larut.

Variasi konsentrasi ekstrak etanol secara substansial tidak mengurangi pertumbuhan *Escherichia coli*. Konsentrasi ekstrak menunjukkan korelasi yang jelas dengan ukuran zona hambat yang dihasilkan. Ukuran area bening, yang dikenal sebagai zona hambat, secara langsung berkaitan dengan kerentanan bakteri terhadap bahan kimia dan senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak (Tekle *et al.*, 2015). Rerata ukuran diameter zona hambat yang kecil yang terlihat pada pengujian ekstrak daun pandan terhadap jamur *C. albicans* dapat dikaitkan dengan rendahnya aktivitas senyawa dalam ekstrak terhadap patogen tersebut dan pengaruh signifikan dari pelarut ekstraksi yang digunakan (Noviyanty *et al.*, 2019).

Ekstrak etanol yang berasal dari daun pandan wangi menunjukkan potensi efek penghambatan terhadap *MRSA*. Fraksinasi adalah metode yang memungkinkan pemisahan zat berdasarkan polaritasnya. Prosedur fraksinasi melibatkan penggunaan dua pelarut dengan polaritas yang berbeda. Fraksinasi dilakukan untuk menghasilkan fraksi-fraksi terpisah, yang ditandai dengan kuantitas dan komposisinya, melalui pemisahan zat-zat berdasarkan polaritasnya. Penggunakan nheksana dan etil asetat umumnya digunakan sebagai pelarut untuk memisahkan fraksi yang berbeda

dari komponen flavonoid (Aribowo *et al.*, 2021). Karena adanya gugus metoksi dalam komposisi kimianya, etil asetat memiliki kemampuan untuk membuat ikatan hidrogen dengan molekul lain dalam sampel. Dibandingkan dengan pelarut etanol 70%, pelarut yang mengandung etil asetat memiliki kekuatan ikatan hidrogen yang lebih lemah, yang menyebabkan berkurangnya senyawa yang berhasil diekstraksi (Syamsuddin & Karim, 2019). Ekstrak etanol berhasil menghambat pertumbuhan bakteri *MRSA*. Fraksi n-heksana cukup berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan fraksi etil asetat menunjukkan potensi antibakteri yang lemah.

Uji statistik SPSS 22 dilakukan setelah uji mikrobiologi yang telah dijelaskan sebelumnya. Suatu hasil uji penelitian dianggap signifikan secara statistik ketika disimpulkan bahwa hasil tersebut bukan karena kebetulan, berdasarkan ambang batas probabilitas yang telah ditentukan (Setyawarno, 2016). Distribusi data yang tidak normal ditunjukkan dari sampel n-heksan, seperti yang ditunjukkan oleh hasil uji normalitas. Beberapa kelompok menunjukkan nilai *asymptotically significant* yang lebih dari 0,05. Penggunakan uji *Kruskall-Wallis* sebagai metode statistik yang canggih untuk menganalisis data yang memiliki distribusi tidak normal dan melibatkan lebih dari dua variabel dependen (Quraisy & Hasni, 2021). Uji *Kruskal-Wallis* secara konsisten menghasilkan nilai signifikansi asimtotik di bawah 0,05 untuk semua uji pelarut. Sederhananya, tingkat penghambatan tidak menunjukkan korelasi langsung dengan konsentrasi pelarut. Berdasarkan hasil *postHoc, hypotesis Summary*, perbedaan signifikan terlihat pada n-heksan 10% dengan kontrol positif. Pada sampel dengan pelarut etilasetat diperoleh distribusi data normal. Distribusi data tersebut sesuai karena hampir semua uji mikrobiologi pada pelarut etil asetat negatif atau tidak terlihat zona hambat.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil uji dari penelitian ini, ekstrak etanol fraksi n-heksan, eil asetat daun pandan wangi mempunyai potensi antibakteri terhadap bakteri *MRSA*. Ekstrak etanol menunjukkan potensi antibakteri terhadap bakteri *MRSA*. Fraksi n-heksana menunjukkan potensi antibakteri yang moderat terhadap *MRSA*. Fraksi etilasetat kurang berpotensi menghambat pertumbuhan *MRSA*.

Ucapan terimakasih

Penelitian ini terlaksana dari bantuan dana hibah Penelitian Dosen Pemula Dikti Tahun 2022. Penulis mengucapkan terima kasih atas bantuan dan kerjasamanya kepada Unit UPPM Politeknik Indonusa Surakarta.

Daftar pustaka

- Adiyasa, M. R. dan Meiyanti, M. (2021). Pemanfaatan Obat Tradisional di Indonesia: Distribusi dan Faktor Demografis yang Berpengaruh. *Jurnal Biomedika dan Kesehatan*, 4(3), 130–138. doi: 10.18051/jbiomedkes.2021.v4.130-138.
- Aribowo, A. I., Lubis, C. F., Urbaningrum, L. M., Rahmawati, N. D., Anggraini, S. (2021). Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Tanaman. Jurnal Health Sains, 2(6), 752-757.
- CLSI (2020). CLSI M100-ED29: 2021 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 30th Edition, CLSI.
- Depkes RI (2000). Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat.
- Dewanti, N. I. dan Sofian, F. F. (2017). Aktivitas Farmakologi Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.), *Farmaka*, 15(2), 186–194.
- Faras, A. F., Wadkar, S. S. dan Ghosh, J. S. (2014). Effect of leaf extract of *Pandanus amaryllifolius* (Roxb.) on growth of *Escherichia coli* and *Micrococcus (Staphylococcus) aureus, International Food Research Journal*, 21(1), 421–423.
- Fiana, F. M., Kiromah, N. Z. W. and Purwanti, E. (2020). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli, *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, Edisi Khusus (Rakerda IAI Jateng), 10–20. doi: 10.23917/pharmacon.v0i0.10108.
- Handoyo, D. L. Y. (2020). The Influence Of Maseration Time (Immeration) On The Vocity Of Birthleaf Extract (Piper Betle), *Jurnal Farmasi Tinctura*, 2(1), 34–41. doi: 10.35316/tinctura.v2i1.1546.
- Hardianti, S. Chiuman, L., Ginting, C. N., Adrian, A. (2022) Analyzing Ethanol's Antioxidant Extract of Pandanus Leaves Through Dpph Method, *Interdisciplinary Social Studies*, 1(5), 610–616. doi: 10.55324/iss.v1i5.128.
- Islamiyati, R. dan Pujiastuti, E. (2020). Perbandingan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi N-Heksan, Etil Asetat dan Air Ekstrak Etanol Kulit Buah Salak Menggunakan Metode Peredaman Radikal Bebas DPPH', *Cendekia Journal of Pharmacy*, 4(2), 169–174. doi: 10.31596/cjp.v4i2.110.
- Kemenkes RI (2017). Farmakope Herbal Indonesia. *Kementerian Kesehatan Republik Indonesia*, II, 546. doi: 10.1201/b12934-13.
- Kosasi, C., Lolo, W. A. dan Sudewi, S. (2019). Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Bakteri yang Berasosiasi dengan Alga *Turbinaria ornata* (Turner) J. Agardh serta Identifikasi secara Biokimia, *Pharmacon*, 8(2), p. 351. doi: 10.35799/pha.8.2019.29301.
- Kurniawati E. (2015). Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Tunas Bambu Apus terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* secara In Vitro, *Jurnal Wiyata*, 2(2), 193–199.
- Mardiyaningsih, A. dan Aini, R. (2014). Pengembangan Potensi Ekstrak Daun Pandan (*Pandanus amaryllifolius* Roxb) sebagai Agen Antibakteri, *Pharmaciana*, 4(2), 185–192. doi: 10.12928/pharmaciana.v4i2.1577.
- Nazaruddin, I. dan Fatmaningrum, E. (2021). Analisis Statistik dengan SPSS, *Analisis Statistik Ekonomi dan Bisnis dengan SPSS*, 100–105.
- Nofikasari, I., Rufaida A., Aqmarina, C. D., Failasofia, F., Fauzia, A. R., Handajani, J. (2017). Efek Aplikasi Topikal Gel Ekstrak Pandan Wangi terhadap Penyembuhan Luka Gingiva, *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, 2(2), 53. doi: 10.22146/majkedgiind.9896.
- Noviyanty, A., Salingkat, C. A. dan Syamsiar, S. (2019). Pengaruh Jenis Pelarut terhadap Ekstraksi dari Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*), *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 5(3), 271–279. doi: 10.22487/kovalen.2019.v5.i3.14037.
- Oktavia, S. N., Wahyuningsih, E., Andasari, S. D., dan Normaidah (2020). Skrining Fitokimia Dari Infusa dan Ekstrak Etanol 70% Daun Cincau Hijau (Cyclea barbata Miers), *Jurnal Ilmu Farmasi*, 11(1), 2685–1229.
- Puspita, A. A. (2012). Performa Flokulasi Bioflokulan DYT Disiapkan Melalui Ekstraksi Pada Beragam

- Tingkat Keasaman dan Kekuatan Ion Terhadap Turbiditas Larutan Kaolin. *Skripsi*, Universitas Pendidikan Indonesia, Bandung.
- Quraisy, A. dan Hasni, N. (2021). Analisis Kruskal-Wallis terhadap Kemampuan Numerik Siswa, *VARIANSI: Journal of Statistics and Its Application on Teaching and Research*, 3(3), 156–161. doi: 10.35580/variansiunm29957.
- Sagita, D., Pratama, S. dan Hastuti (2020). Uji Resistensi Antibiotik terhadap Kultur Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Ruang Intensive Care Unit (ICU) Rumah Sakit "Y" Kota Jambi, *Journal of Healthcare Technology And Medicine*, 6(1), 301–307.
- Setyawarno, D. (2016) 'Panduan Statistik Terapan Untuk Penelitian Pendidikan: Analisis Data Penelitian Dalam Bidang Pendidikan Dengan Aplikasi SPSS Versi 22', *Pendidikan IPA FMIPA UNY*, p. 116.
- Sophia, A. dan Suraini (2022). Bioma: Jurnal Biologi Makassar (On Line) Efektivitas Aquabidest dan Limbah Air AC Sebagai Pelarut Media SDA Untuk Pertumbuhan *Candida albicans, Jurnal Biologi Makassar*, 8(1), 16–22.
- Syamsuddin, B. dan Karim, H. (2019). Pengaruh Jenis Pelarut terhadap Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder Klika Kayu Jawa (*Lannea coromendelica*) Effect of The Type of Solvent on Contents of Secondary Metabolite Compounds of Kayu Jawa Klika (Lannea coromendelica), *Jurnal Sainsmat*, VIII(2), pp. 19–27.
- Tekle, A., Belay, A., Kelem, K., Yohanes, M., Wodajo, B., Tesfaye, Y. (2015). Nutritional Profile of *Moringa stenopetala* Species Samples Collected from Different Places in Ethiopia, *European Journal of Nutrition & Food Safety*, 5(5), 1100–1101. doi: 10.9734/ejnfs/2015/21263.
- Tias, P. D. A. 2019. (2019). Aktivitas Antifungi Seduhan Daun Pandan Wangi (Pandanus amaryllifolius Rxb .) Terhadap Pertumbuhan Candida albicans dengan Metode Sumuran. *Skripsi*. Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang, Malang
- Widyastrinia, D. M. D., Cahyaningsih, E. dan Wardani, I. G. A. A. K. (2021). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tanaman Obat Terhadap Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Antibacterial Activity of Medicinal Plants Extract against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Usadha: Jurnal Integrasi Obat Tradisional*, 1(1), 30–37.
- Wulandari, S. R. A. (2017). Formulasi dan Uji Aktivitas Antibakteri *Stapylococcus epidermis* Sediaan Mikroemulsi Ekstrak Daun Kersen (*Mutingia calabura* Linn.) dengan Fase Minyak Isopropil Mirystate. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri, Malang