

Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksan dan Etanol Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Imro'atul Maziyah, Dwi Bagus Pambudi, Rini Kristiyanti, Yulian Wahyu Permadi

Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan
Jl. Raya Ambokembang No.8 Kedungwuni Pekalongan Indonesia
Email : Imroatulmz97@gmail.com

ABSTRAK

Pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) merupakan salah satu tanaman dimana bagian daun biasa digunakan sebagai pewangi dan pewarna alami. Daun pandan wangi mengandung senyawa fitokimia seperti alkaloid, flavonoid, saponin dan polifenol yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi n-heksan, fraksi etanol dan ekstrak etanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Pengujian antibakteri dilakukan menggunakan metode sumuran dengan konsentrasi uji sebesar 3,75%, 4,00% dan 4,25% kemudian diukur zona hambat dari bakteri. Hasil penelitian menunjukkan Kadar Hambat Minimal (KHM) dari fraksi n-heksan pada konsentrasi 3,75% dengan diameter hambatan 10,1 mm, fraksi etanol pada konsentrasi 3,75% dengan diameter hambatan 6,67 mm serta ekstrak etanol pada konsentrasi 3,75% dengan diameter hambatan 4,30 mm. Diameter zona hambat fraksi n-heksan termasuk pada kriteria kuat. Pada fraksi etanol termasuk pada kriteria sedang. Sedangkan pada ekstrak etanol termasuk pada kriteria kecil. Pada uji *tukey*, fraksi n-heksan dibandingkan ekstrak etanol memiliki nilai signifikansi $< 0,05$. Pada fraksi n-heksan dibandingkan fraksi etanol memiliki nilai signifikansi $> 0,05$. Pada fraksi n-heksan memiliki aktivitas antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan pada fraksi etanol dan ekstrak etanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.).

Kata Kunci : Antibakteri, Daun Pandan Wangi, Metode Sumuran, Ekstraksi Cair-Cair, *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

Pandan (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) is one of the plants where the leaves are commonly used as fragrances and natural dyes. Pandan leaves contain phytochemical compounds such as alkaloids, flavonoids, saponins and polyphenols which have antibacterial activity. This study purpose to determine the antibacterial activity of n-hexane fraction, ethanol fraction and ethanol extract of pandan leaves (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria. Antibacterial testing was carried out using the well method with a test concentration of 3.75%, 4.00% and 4.25% and then the inhibitory zone of the bacteria was measured. The results showed minimal inhibitory concentration (MIC) of the n-hexane fraction at concentration of 3.75% with resistance diameter of 10,1 mm, ethanol fraction at a concentration of 3.75% with resistance diameter of 6,67 mm and ethanol extract concentration of 3.75 % with resistance diameter of 4,30 mm. The diameter of the n-hexane fraction inhibition zone was included as a strong criteria. The ethanol fraction are included in the medium criteria. The ethanol extract are included in the weak criteria The n-hexane fraction had higher antibacterial activity compared to ethanol fraction and ethanol extract of pandan leaves (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.). In the *tukey* test, fraction of n-

hexane compared to ethanol extract had a significance value <0.05 . In the n-hexane fraction compared to ethanol fraction it has a significance value > 0.05 . The n-hexane fraction has higher antibacterial activity than ethanol fraction and ethanol extract of fragrant pandanus leaves (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.).

Keywords : Antibacterial, Pandan Leaves, Cup - Plate Method, *Staphylococcus aureus*.

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme seperti bakteri, jamur, virus serta parasit lain. Mikroorganisme yang menyebabkan penyakit disebut mikroorganisme patogen (Jawetz, *et al.*, 2018). Salah satu mikroorganisme patogen yang sering ditemukan yaitu bakteri *Staphylococcus aureus*. Beberapa penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* antara lain abses, pneumonia, bakteremia.

Pengobatan penyakit infeksi yang umum dilakukan adalah dengan pemberian terapi antibiotik baik melalui oral, injeksi maupun topikal. Pemilihan antibiotik yang tepat diperlukan dalam proses penyembuhan infeksi, namun, penggunaan antibiotik yang tidak rasional dapat mengakibatkan bakteri menjadi resisten terhadap antibiotik sehingga perlu dikembangkan alternatif pengobatan menggunakan tanaman obat sebagai potensi obat baru (Nurcahyanti, 2014).

Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai tanaman obat adalah tanaman pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.). Tanaman pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) sudah digunakan sebagai obat tradisional seperti anti ketombe, lemah syaraf, tidak nafsu makan, rematik, pegal linu, sakit disertai gelisah, rambut rontok serta penghitam rambut. *Pandanus amaryllifolius* memiliki senyawa metabolit sekunder seperti tanin, alkaloid, flavonoid dan polifenol yang berpotensi sebagai antibakteri dan dapat

digunakan untuk mengawetkan makanan (Silalahi, M. 2018).

Menurut Muin (2017) mengatakan bahwa ekstrak etanol daun pandan wangi dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 80% dan 40% dengan diameter zona hambat sebesar 3,6 cm dan 2,5 cm (perlakuan I); 3,8 cm dan 2,6 cm (perlakuan II) serta 3,8 cm dan 2,6 cm (perlakuan III). Penelitian lain menyebutkan bahwa pada ekstrak daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap 4 jenis bakteri pada mulut. Nilai KHM yang diperoleh pada masing-masing bakteri sebesar 31,25 $\mu\text{g/ml}$ (*Streptococcus agalactiae*), 62,5 $\mu\text{g/ml}$ (*Streptococcus salivarius*), 3,9 $\mu\text{g/ml}$ (*Streptococcus mutans*) dan 125 $\mu\text{g/ml}$ (*Prophyromonas gingivalis*) (Suwannakul, 2018).

Beberapa penelitian mengenai ekstrak daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) diatas, belum ada yang melakukan fraksinasi menggunakan pelarut n-heksan dan etanol mengenai uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sehingga peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai uji aktivitas antibakteri fraksi n-heksan, fraksi etanol dan ekstrak etanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) yang berpotensi untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain: wadah maserasi, vakum, *rotary evaporator* (Heidolph), oven (Memmert), kain flanel, timbangan analitik (Ohaus), alat gelas, batang pengaduk, triangle, tabung reaksi (Pyrex), rak tabung reaksi, kertas saring, pipet tetes, cawan porselin, pinset, blender (Cosmos®), vortex, *moisture analyzer* (Ohaus), hot plate (Maspion), chamber KLT, lampu UV 254 nm dan 366 nm, mikropipet (Lambda®), bunsen, jarum ose, cawan petri (Pyrex), jangka sorong, inkubator (WINA Instruments tipe 801), LAF (Lokal), alat pelubang sumuran, autoklaf (Allamerican®).

Bahan yang digunakan meliputi : simplisia daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) yang didapatkan dari Desa Pegandon Kecamatan Karangdadap Kabupaten Pekalongan, Jawa Tengah. Bahan lainnya pelarut n-heksan p.a, metanol p.a, etanol 96%, etanol 70%, kloroform p.a, bakteri *Staphylococcus aureus*, media *Muller Hinton Agar* (MHA), serbuk kloramfenikol (kontrol positif), DMSO (Dimetil Sulfoksida) (kontrol negatif), Aqua Pro Injeksi (API), larutan 0,5 Mc Farland, Natrium Klorida (NaCl) fisiologis 0,9%, Besi (III) Klorida (FeCl_3) 5%, pereaksi mayer, pereaksi dragendorff, pereaksi wagner, larutan Aluminium Klorida (AlCl_3) 1%, asam sulfat pekat, asam asetat glasial, asam klorida 2N, lempeng silika gel GF₂₅₄, asam galat, piperin dan quersetin.

Pembuatan Ekstrak

Sebanyak 550 g serbuk simplisia dimasukkan dalam wadah maserasi kemudian ditambahkan etanol 96% sebanyak 2500 ml hingga seluruh serbuk terendam. Larutan didiamkan selama 5 hari (120 jam) pada suhu ruang. Ekstrak kemudian disaring menggunakan vakum untuk memisahkan antara filtrat dan residu. Residu dimaserasi kembali menggunakan etanol 96% sebanyak 2000 ml selama 3 hari (72 jam). Filtrat diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak ditimbang dan dihitung persentase

rendemennya. Ekstrak kental selanjutnya dilakukan fraksinasi menggunakan pelarut n-heksan dan etanol.

Pembuatan Ekstraksi Cair-Cair (Fraksinasi)

Ekstrak etanol sebanyak 20 g dimasukkan ke dalam corong pisah kemudian ditambahkan sebanyak 110 ml n-heksan p.a dan 110 ml etanol 96%. Diamkan hingga membentuk 2 lapisan. Selanjutnya pisahkan antara residu, fraksi n-heksan dan fraksi etanol. Kemudian fraksi n-heksan diuapkan menggunakan oven sampai didapatkan fraksi kental n-heksan daun pandan wangi. Setelah itu, fraksi etanol diuapkan juga menggunakan oven sampai didapatkan fraksi kental daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.).

Standardisasi Ekstrak

Pengujian Kadar Air

Sebanyak 2 g ekstrak daun pandan wangi diletakkan pada piring aluminium dalam *moisture analyzer* kemudian ditutup lalu alat dinyalakan. Tunggu hingga proses pengujian selesai dan catat hasilnya.

Skrinning Fitokimia

a. Uji Alkaloid

Ekstrak ditambah dengan 4 ml asam klorida 2N lalu dikocok. Kemudian dibagi menjadi 3 bagian. Bagian pertama ditambah dengan pereaksi dragendorff (positif terbentuk endapan warna merah) dan bagian kedua ditambah dengan pereaksi mayer (positif terbentuk endapan warna putih) dan bagian ketiga ditambah dengan pereaksi wagner (positif terbentuk endapan warna jingga) (Tiwari, 2011).

b. Uji Flavonoid

Ekstrak ditambah dengan 2 ml larutan Aluminium (III) klorida (AlCl_3) 1%. Selanjutnya didiamkan hingga terbentuk warna kuning yang menunjukkan positif mengandung flavonoid (Hanani, E., 2016).

c. Uji Fenol

Ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi lalu tambahkan 1 ml etanol kemudian

ditambah 10 tetes larutan besi (III) klorida (FeCl_3) 5%, yang menimbulkan warna hijau, biru hitam (Hanani, E., 2016).

d. Uji Steroid / Triterpenoid

Ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah dengan 2 ml kloroform. Kemudian ditambahkan dengan 10 tetes asam asetat dan 3 tetes asam sulfat pekat. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin coklat menunjukkan adanya triterpenoid (Tiwari, 2011) dan jika terbentuk warna hijau atau biru menunjukkan adanya steroid.

e. Uji Tanin

Ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah dengan 5 ml air panas kemudian ditambah dengan 3 tetes tetes larutan besi (III) klorida (FeCl_3) 5%. Hasil positif menunjukkan warna hijau biru hingga kehitaman (Hanani, 2016).

f. Uji Saponin

Ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah dengan 10 ml air panas kemudian didinginkan. Setelah itu kocok selama 10 detik sehingga terbentuk buih yang stabil. Kemudian tambahkan 1 tetes asam klorida 2N dan catat tinggi dari buih yang terbentuk (Hanani, 2016).

Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pada uji KLT, fase diam yang digunakan adalah silika gel GF 254 sedangkan fase gerak yang digunakan berupa campuran kloroform p.a : metanol p.a (8:2). Uji KLT dilakukan dengan cara fraksi n-heksan, fraksi etanol dan pembanding (asam galat, piperin dan quersetin) ditotolkan pada lempeng silika gel GF₂₅₄. Selanjutnya, lempeng dimasukkan ke dalam chamber yang telah diisi fase gerak dan telah dijenuhkan dengan kertas saring. Chamber ditutup dan tunggu fase gerak merambat pada lempeng silika gel GF₂₅₄ hingga batas yang telah ditentukan (Hanani, 2016). Setelah itu, lempeng KLT dikeluarkan dari chamber lalu dikeringkan. Selanjutnya amati bercak noda yang timbul pada sampel dan pembanding menggunakan sinar UV 254 nm dan 366 nm.

Proses berikutnya, hitung nilai Rf dari masing-masing sampel dan pembanding.

Pengujian Antibakteri

Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat yang terbuat dari gelas kaca dicuci bersih dan dikeringkan. Kemudian dibungkus dengan kertas lalu disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Untuk alat-alat yang terbuat dari karet disterilkan dengan cara direndam dalam etanol 70% dan untuk jarum ose dan alat pelubang sumuran disterilkan dengan cara dipijarkan pada nyala api bunsen.

a. Pembuatan Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Sebanyak 6,12 g media MHA kemudian dilarutkan dengan aqua pro injeksi (API) sebanyak 180 ml. Selanjutnya, media MHA diaduk dan dipanaskan menggunakan *hot plate*. Kemudian media dituang ke dalam cawan petri steril sebanyak 20 ml. Penuangan media dilakukan di dalam LAF (*Laminar Air Flow*) lalu tunggu hingga media memadat. Setelah itu, media MHA disterilkan menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C.

b. Pembuatan Suspensi Bakteri

Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dibuat dengan cara mengambil 1 ose bakteri, dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan NaCl fisiologis 0,9 % dengan biakan murni *Staphylococcus aureus* didalam tabung reaksi, dikocok menggunakan vortex sampai homogen. Selanjutnya, suspensi bakteri yang telah dibuat disamakan kekeruhannya dengan standar 0,5 Mc Farland.

c. Pembuatan Seri Konsentrasi Uji

Seri konsentrasi uji yang dibuat sebesar 3,75%, 4,00% dan 4,25% ^{b/v}. Pembuatan seri konsentrasi uji 3,75% dilakukan dengan menimbang sebanyak 37,5 mg sampel kemudian dilarutkan dengan 1 ml DMSO, konsentrasi 4,00% dilakukan dengan menimbang sebanyak 40 mg sampel

kemudian dilarutkan dengan 1 ml DMSO dan konsentrasi 4,25% dilakukan dengan menimbang sebanyak 42,5 mg sampel kemudian dilarutkan dengan 1 ml DMSO.

d. Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik kloramfenikol. Kontrol positif dibuat dengan menimbang sebanyak 75 mg serbuk kloramfenikol kemudian dilarutkan dengan 2 ml DMSO. Sedangkan untuk kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO.

e. Pengujian Mikrobiologi

Media MHA yang telah memadat kemudian tambahkan sebanyak 100 µl suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ke dalam cawan petri lalu diratakan menggunakan alat berupa triangle. Selanjutnya, buat sebanyak 5 lubang sumuran secara aseptis dengan menggunakan pelubang sumuran pada media MHA. Ekstrak etanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) konsentrasi 3,75%, 4,00% dan 4,25% ^{b/v}, kontrol positif dan kontrol negatif dimasukkan ke dalam lubang sumuran sebanyak 100 µl.

Setelah itu, cawan petri diinkubasi selama ± 24 jam pada suhu 37°C kemudian diamati zona hambat yang terbentuk. Daya antibakteri diamati berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk dibandingkan dengan diameter zona hambat kontrol negatif dan kontrol positif yang diukur menggunakan jangka sorong. Hal yang sama dilakukan pada fraksi n-heksan dan etanol daun pandan wangi (Batuah, 2014).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini terlebih dahulu dilakukan determinasi tanaman. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistematik Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro (UNDIP) Semarang, Jawa Tengah.

Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini merupakan tanaman pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) dari famili pandanaceae.

Daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) selanjutnya dibuat simplisia dan didapatkan serbuk kering sebanyak 1 kg. Setelah itu, serbuk diekstraksi dengan metode maserasi dan diperoleh persentase rendemen ekstrak kental daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) sebesar 10,4%. Hal ini menandakan bahwa semakin tinggi nilai rendemen suatu ekstrak maka akan semakin banyak senyawa aktif yang terdapat didalam ekstrak tersebut (Suryani, 2017).

Fraksinasi merupakan proses pemisahan dengan menggunakan pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda. Proses fraksinasi daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) dilakukan di Laboratorium Fitokimia dan Farmakognosi Program Studi Sarjana Farmasi Universitas Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan. Metode fraksinasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode ekstraksi cair-cair (partisi).

Setelah dilakukan fraksinasi, didapatkan lapisan n-heksan berada dibagian atas dan lapisan etanol 96% berada dibawah. Hal ini dikarenakan n-heksan memiliki bobot jenis yang lebih kecil dibandingkan dengan bobot jenis etanol 96%. Bobot jenis dari n-heksan sebesar 0,6777 sedang bobot jenis dari etanol 96% sebesar 0,8119. Bobot dari fraksi n-heksan yang diperoleh adalah sebesar 1,52 gram sedangkan fraksi etanol 96% diperoleh sebesar 5,36 gram. Hal tersebut menunjukkan bahwa kandungan senyawa metabolit sekunder yang ada pada daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) lebih banyak senyawa yang larut pada etanol 96% dan lebih sedikit senyawa yang larut pada pelarut n-heksan.

Hasil persentase rendemen dari fraksi n-heksan dan etanol dapat dilihat pada tabel dibawah ini:

No.	Fraksi	Bobot awal (g)	Bobot akhir (g)	Rendemen (%)
1.	n-Heksan	20	1,52	7,6
2.	Etanol	20	5,36	26,8

Standardisasi Ekstrak

a. Kadar Air

Kadar air yang diperoleh dari ekstrak etanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) sebesar 1,34 %. Hal ini menunjukkan bahwa kadar air dari ekstrak etanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) kurang dari 10%. Kadar air tidak boleh lebih dari 10% karena akan mempengaruhi stabilitas dari ekstrak (Saifudin, 2011).

b. Skrinning Fitokimia

Metabolit Sekunder	Hasil		
	Ekstrak Etanol	Fraksi n-Heksan	Fraksi Etanol
Alkaloid			
- Mayer	+	+	+
- Dragendorff	+	+	+
- Wagner	+	+	+
Flavonoid	+	+	+
Fenol	+	+	-
Taninn	+	-	-
Saponin	+	+	-
Steroid	+	+	+
Triterpenoid	-	-	-

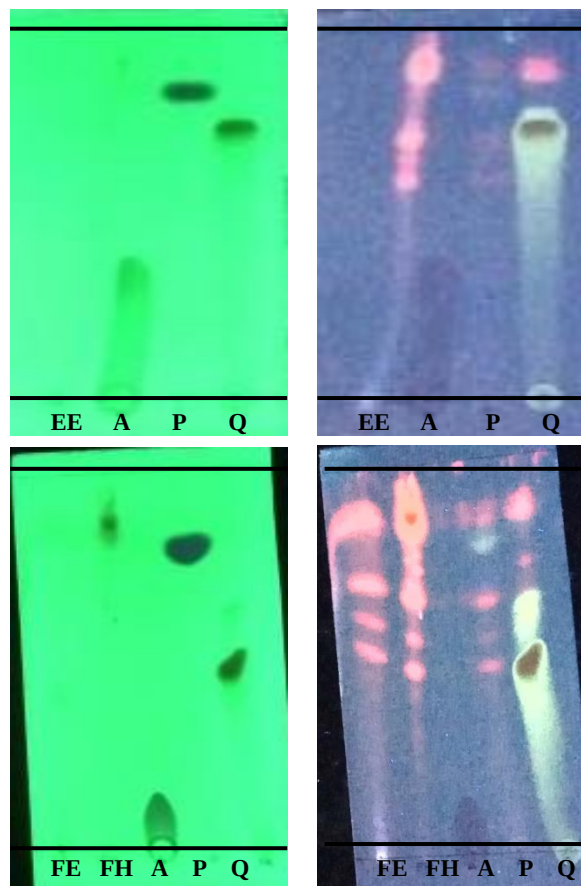
Keterangan : (+) Terdapat metabolit sekunder

(-) Tidak terdapat metabolit sekunder

Hasil uji skrinning fitokimia menunjukkan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada fraksi n-heksan daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) adalah alkaloid, steroid dan flavonoid, pada fraksi etanol dan ekstrak etanol daun pandan wangi adalah alkaloid, fenol, saponin, flavonoid, steroid dan tanin. Senyawa metabolit sekunder yang tersari pada fraksi n-heksan lebih sedikit dibandingkan pada ekstrak dan fraksi etanol. Hal ini disesuaikan dengan penelitian yang dilakukan oleh

Suryani (2017) yang menyatakan bahwa n-heksan merupakan pelarut non polar sehingga hanya sedikit komponen dari ekstrak etanol yang larut.

c. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)



Ket : EE = Ekstrak Etanol, FE = Fraksi Etanol, FH = Fraksi n-Heksan, A = Asam Galat, P = Piperin, Q = Quersetin

Hasil uji KLT menunjukkan bahwa fraksi etanol daun pandan wangi positif mengandung senyawa alkaloid dan flavonoid. Bercak noda yang terlihat pada UV₃₆₆ berwarna jingga dan kuning, sedangkan pada UV₂₅₄ bercak noda berwarna gelap. Nilai R_f yang diperoleh dari fraksi n-heksan sebesar 0,88, 0,67, 0,56 dan 0,49. Pada fraksi etanol sebesar 0,88, 0,70, 0,61 dan 0,54. Pada pembanding asam galat sebesar 0,11. Pada pembanding piperin sebesar 0,80, 0,68, 0,56 dan 0,49, sedangkan

pada pembanding quersetin sebesar 0,88, 0,56 dan 0,49.

Pengujian Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode sumuran (*Cup-plate technique*) dengan cara membuat lubang sumuran sebanyak 5 lubang pada media agar yang telah ditanami dengan suspensi bakteri. Selanjutnya lubang diisi dengan 3 macam konsentrasi uji yang berbeda, kontrol positif dan kontrol negatif lalu diinkubasi selama 24 jam. Setelah itu, ukur diameter dari zona hambat yang terbentuk menggunakan jangka sorong.

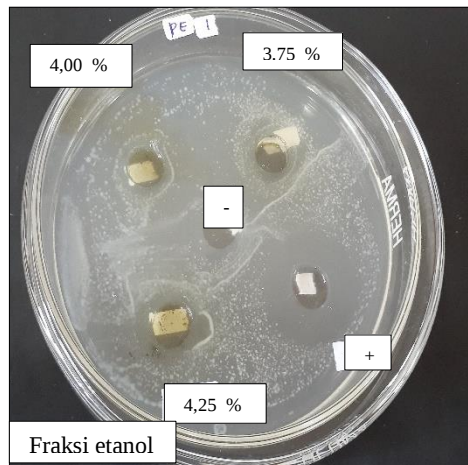
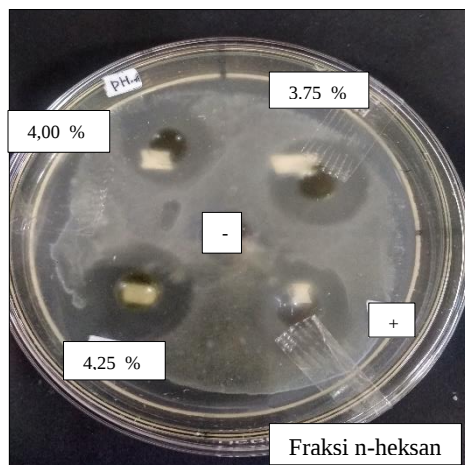
Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta. Bakteri selanjutnya dibuat suspensi bakteri dengan cara mengambil 1 ose bakteri kemudian ditambahkan dengan 10 ml NaCl fisiologis 0,9%. Penambahan NaCl fisiologis 0,9% bertujuan agar sel bakteri tetap dalam keadaan isotonis. Suspensi bakteri yang telah dibuat selanjutnya disetarakan kekeruhannya dengan larutan standar 0,5 Mc Farland. Larutan standar 0,5 Mc Farland dibuat dengan menambahkan larutan BaCl₂ (Barium (II) Klorida) 1% sebanyak 0,05 ml dengan H₂SO₄

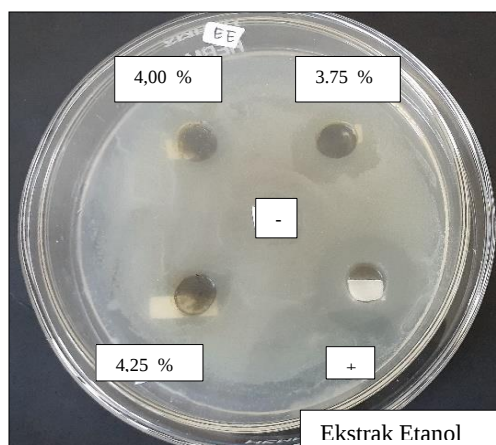
Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi n-heksan, fraksi etanol dan ekstrak etanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

(Asam Sulfat) 1% sebanyak 9,95 ml lalu dikocok sampai homogen (Arifah, 2019).

Media agar yang digunakan dalam penelitian ini adalah media MHA (*Mueler Hinton Agar*). Media MHA dibuat dengan cara menimbang 6,84 gram MHA kemudian ditambahkan sebanyak 180 ml Aqua Pro Injeksi (API) ke dalam erlenmeyer. Media selanjutnya dididihkan menggunakan kompor listrik hingga mendidih lalu didiamkan. Setelah itu, sterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Tuangkan pada cawan petri sebanyak 20 ml media agar MHA. Tunggu hingga media memadat lalu sterilkan lagi menggunakan autoklaf.

Fraksi n-heksan, fraksi etanol dan ekstrak etanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) dibuat dengan konsentrasi 3,75% ; 4,00% dan 4,25% ^{b/v}. Fraksi n-heksan, fraksi etanol dan ekstrak etanol dilarutkan menggunakan DMSO (Dimetil Sulfoksida). Pemilihan DMSO sebagai pelarut dikarenakan DMSO merupakan surfaktan yang dapat larut dalam pelarut polar dan non polar sehingga dapat melarutkan ekstrak dan fraksi dari daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.). Kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik kloramfenikol. Untuk kontrol negatif menggunakan DMSO.





Berdasarkan gambar diatas, diameter rata-rata dari fraksi n-heksan konsentrasi 3,75%, 4,00% dan 4,25% sebesar 10,10 mm, 9,82 mm dan 12,84 mm, fraksi etanol sebesar 6,67 mm, 7,67 mm dan 9,32 mm, ekstrak etanol sebesar 4,30 mm, 3,58 mm dan 2,32 mm serta kontrol positif konsentrasi 3,75% sebesar 12,77 mm. Zona hambat dari kontrol negatif sebesar 0 mm. Hal ini menunjukkan bahwa pelarut DMSO tidak mempengaruhi pengujian antibakteri dari fraksi n-heksan, fraksi etanol dan ekstrak etanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Pada umumnya, diameter zona hambat meningkat sebanding dengan meningkatnya konsentrasi dari sampel, *namun* hasil dari penelitian ini tidak sesuai. Menurut Elifah dalam Dewi (2010), hal ini terjadi akibat adanya perbedaan kecepatan difusi senyawa antibakteri pada media agar. Perbedaan kecepatan difusi dapat dipengaruhi oleh perbandingan jumlah pelarut dan zat terlarut. Pada konsentrasi tinggi, jumlah pelarut lebih sedikit dibandingkan zat terlarut sehingga kerapatan molekul antar senyawa tinggi menyebabkan proses difusi senyawa antibakteri pada media agar menjadi lebih lama (Allo, 2016).

Tabel hasil diameter zona hambat dari fraksi n-heksan dan fraksi etanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) yaitu :

Perlakuan	Konsentrasi	Zona Hambat (mm)				Kriteria
		Replikasi			Rata-rata	
		1	2	3		
Fraksi n-Heksan	3,75 %	11,06	12,28	7,06	10,10	Kuat
	4,00 %	8,90	10,68	9,88	9,82	Sedang
	4,25 %	12,92	14,68	10,92	12,84	Kuat
Fraksi Etanol	3,75 %	8,04	2,96	9,00	6,67	Sedang
	4,00 %	14,06	4,06	9,12	7,67	Sedang
	4,25 %	11,06	5,98	10,92	9,32	Sedang
Ekstrak Etanol	3,75 %	0,94	4,92	7,06	4,30	Lemah
	4,00 %	1,92	0,94	7,90	3,58	Lemah
	4,25 %	3,04	1,02	2,92	2,32	Lemah
Kontrol Positif	3,75 %	13,92	12,68	11,72	12,77	Kuat

Berdasarkan tabel diatas, diameter rata-rata konsentrasi dari fraksi n-heksan daun pandan wangi termasuk pada kriteria kuat,

pada fraksi etanol termasuk pada kriteria sedang dan pada ekstrak etanol termasuk pada kriteria lemah. Berikut tabel penggolongan

kriteria kekuatan antibakteri menurut Davis dan Stout dalam Opa (2018) :

Diameter Zona Hambat	Kriteria
≤ 5 mm	Lemah
5-10 mm	Sedang
10-20 mm	Kuat
≥ 20 mm	Sangat Kuat

Analisis Data

Berdasarkan hasil uji normalitas dan homogenitas, data yang diperoleh berdistribusi normal dan homogen (sama) sehingga memenuhi persyaratan untuk dilakukan uji parametrik. Uji parametrik yang dilakukan pada penelitian ini adalah uji *one way* ANOVA. Menurut hasil uji *one way* ANOVA, data yang diperoleh menunjukkan nilai signifikansi 0,001 yang artinya nilai signifikansi $< 0,05$. Hal ini menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara fraksi n-heksan, fraksi etanol dan ekstrak etanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Pada uji *tukey*, fraksi n-heksan dibandingkan ekstrak etanol memiliki nilai signifikansi $< 0,05$. Pada fraksi n-heksan dibandingkan fraksi etanol memiliki nilai signifikansi $> 0,05$. Hasil uji *Tukey* menunjukkan bahwa pada fraksi n-heksan tidak memiliki perbedaan yang signifikan dibandingkan pada fraksi etanol. Pada ekstrak etanol memiliki perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan fraksi n-heksan. Pada ekstrak etanol dibandingkan dengan fraksi etanol tidak berbeda secara signifikan. Fraksi n-heksan memiliki aktivitas antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan pada fraksi dan ekstrak etanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa pada fraksi n-heksan, fraksi etanol dan

ekstrak daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Kadar Hambat Minimal (KHM) dari fraksi n-heksan pada konsentrasi 3,75% dengan diameter hambatan 10,1 mm, fraksi etanol pada konsentrasi 3,75% dengan diameter hambatan 6,67 mm dan ekstrak etanol pada konsentrasi 3,75% dengan diameter hambatan 4,30 mm. Diameter rata-rata zona hambat fraksi n-heksan termasuk pada kriteria kuat, pada fraksi etanol termasuk pada kriteria sedang, sedangkan ekstrak etanol termasuk pada kriteria lemah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi n-heksan memiliki aktivitas antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan pada fraksi dan ekstrak etanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.).

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian, bagi peneliti selanjutnya dapat meneliti lebih lanjut mengenai senyawa aktif mana yang paling berperan sebagai antibakteri pada fraksi n-heksan daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan instrumen yang sesuai.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah berkontribusi dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Allo, Maranty B.R. 2016. Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak air kulit buah pisang ambon lumut (*Musa acuminata* Colla) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Yogyakarta; Program Studi Pendidikan Biologi Universitas Sanata Dharma.

- Arifah, S. 2019. Perbandingan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dan daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wigh) W.) serta kombinasinya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Pekalongan; Prodi SI Farmasi STIKES Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan.
- Batuah, Palma A.T. 2014. Daya antibakteri ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan perasan daun lidah mertua (*Sansevieria trifasciata* Prain) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Skripsi. Yogyakarta; Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma.
- Dewi, Fajar Kusuma. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*, Linnaeus) terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. Skripsi. Surakarta; FMIPA Universitas Sebelas Maret.
- Jawetz, Melnick dan Adelberg. 2018. *Mikrobiologi kedokteran edisi 27*. Jakarta; EGC. Hal. 161, 215, 219, 223 dan 418.
- Hanani, E. 2016. *Analisis fitokimia*. Jakarta; Buku Kedokteran EGC. Hal.11, 20, 67, 71, 103, 112-114, 149, 152, 228, 233.
- Muin, R. 2017. Uji aktivitas ekstrak etanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) pada bakteri *Staphylococcus aureus*. *Media Farmasi*. Vol. 8 (2), hal. 122-128.
- Nurchayanti, T. 2014. Aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun anggur (*Vitis vinifera* L.) dan fraksi-fraksinya terhadap *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Skripsi. Surakarta; Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Opa, S., Robert A. Bara., Grevo S. Gerung, Rizal M. Rompas, Rosita A.J. Lintang, Deiske A. Sumilat. 2018. Uji aktivitas antibakteri fraksi n-heksana, methanol dan air dari Ascidian *Lissoclinum* sp.. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*. Vol 1 (1), hal 76.
- Saifudin, A., Viesa Rahayu, dan Hilwan Yuda Teruna. 2011. *Standardisasi Bahan Obat Alam*. Yogyakarta; Graha Ilmu. Hal. 04.
- Silalahi, M. 2018. *Pandanus amaryllifolius* Roxb (pemanfaatan dan potensinya sebagai pengawet makanan). *Jurnal Pro-Life*. Vol. 5 (3), hal. 626-636.
- Suryani, C.L., Siti Tamaroh, Agusta Ardiyan dan Astuti Setyowati. 2017. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) dan fraksi-fraksinya. *Agritech*. Vol. 37 (3), hal 274.
- Suwannakul, S., Plykaeow Chaibenjwong dan Suttasinee Suwannakul. 2018. Antioxidant anti-cancer and antimicrobial activities of ethanol *Pandanus amaryllifolius* Roxb. leaf extract (in vitro) – a potential medical application. *Journal of International Dental and Medical Research*. Vol. 11 (2), hal 383-389.
- Tiwari, P., Bimlesh Kumar, Mandeep Kaur, Gurpreet Kaur, dan Harleen Kaur. 2011. Phytochemical screening and extraction: a review. *International Pharmaceutical Scientia*. Vol. 1 (1), hal. 98-106.