BAB V
HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Objek penelitian

a. Karakterisitik objek penelitian

Objek dalam penelitian ini adalah tanaman daun pandan wangi (*Pandanus ammaryllifolius Roxb.*). Pandan wangi tumbuh dengan tinggi antara 0,5 – 1 m, tetapi dapat bertambah tingga hingga 2 m. Batang berbentuk bulat dengan bekas duduk daun, bercabang, menjalar, serta akar tunggang keluar di sekitar pangkal batang dan cabang. Daun tunggal dan tersusun berbaris tiga dalam garis spiral. Daun berbentuk pita, tipis, licin, ujung runcing, tepi rata, bertulang sejajar, panjang 40 – 80 cm dengan lebar 3 – 5 cm. Diperlukan dua kilogram daun pandan wangi sebelum dikeringkan untuk selanjutnya didapatkan 100 gram daun pandan wangi yang telah kering dan dihaluskan. Sebelum dimaserasi, dilakukan proses pengukuran kadar air untuk mengetahui kualitas dari simplisia. Pada penelitian ini menggunakan proses remaserasi. Remaserasi pada prinsipnya sama dengan maserasi, yaitu merendam simplisia di dalam pelarut hingga waktu tertentu yang disertai dengan pengadukan atau pengocokan (Pratiwi, 2010). Perbedaan metode remaserasi yaitu digunakannya sebagian pelarut untuk maserasi, dimana setelah penyaringan akan dilakukan penggunaan kembali terhadap komponen residu untuk kedua kalinya dengan sisa pelarut yang ada untuk kemudian disaring kembali. Setelah itu kedua filtrat digabungkan pada tahap akhir. Metode remaserasi ini menggunakan jumlah pelarut dua kali lebih banyak dibanding metode maserasi (Fauzana, 2010). Proses remaserasi

menggunakan etanol 96% sebanyak kurang lebih 500 ml, yang selanjutnya dievaporasi dan didapatkan berat ekstrak sebesar 7,1 gram.

b. Kadar air simplisia

Pengujian kadar air dalam penelitian ini menggunakan metode gravimetri. Prinsip dari metode ini adalah proses pengeringan sampai diperoleh bobot konstan. Metode gravimetri dipilih karena mempunyai keuntungan yang tidak membutuhkan reagen yang harganya mahal dan cara pengerjaannya yang mudah (Sugiarti dan Setyawati, 2017).

Penetapan kadar air simplisia sangat penting untuk memberikan batasan maksimal kandungan air di dalam simplisia, karena jumlah air yang tinggi dapat menjadi media tumbuhnya bakteri dan jamur yang dapat merusak senyawa yang terkandung di dalam simplisia (Febriani, Mulyanti, dan Rismawati, 2015). Makin rendah kadar air, makin lambat pertumbuhan organisme dan bahan pangan dapat bertahan lama. Sebaliknya, makin tinggi kadar air makin cepat organisme berkembang biak sehingga proses pembusukan berlangsung lebih cepat (Sugiarti dan Setyawati, 2017).

Untuk mendapatkan ekstrak yang baik, diperlukan simplisia yang memenuhi standar. Standar untuk simplisia kering harus memiliki kadar air ≤ 10% (Krisyanella, Susilawati, dan Rivai, 2013). Pengukuran kadar air dilakukan dengan metode gravimetri, pada suhu 105°C selama 1 jam. Prinsip dari metode ini adalah proses pengeringan hingga didapatkan bobot yang konstan. Dipilihnya metode gravimetri dikarenakan metode ini memiliki keuntungan yaitu tidak menggunakan reagen dan cara pengerjaannva sederhana (Sugiarti dan Setyawati, 2017). Pada penelitian ini berat simplisia yang digunakan sebesar 1 g. Bobot

cawan kosong ditambah simplisia awal sebesar 26,921 dan bobot cawan ditambah simplisia setelah dipanaskan sebesar 26, 823 sehingga didapatkan kadar air sebesar 9,8 %.

2. Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak etanol daun pandan wangi terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun pandan wangi terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dengan lima perlakuan (konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80% dan 90%) dan empat kali pengulangan menunjukkan adanya zona bening yang terbentuk disekitar cakram disk yang telah diberikan zat uji berupa ekstrak etanol daun pandan wangi.

a. Diameter zona hambat kontrol kerja

1. Kontrol positif *(Ciproflpxacin)*

Ciproflpxacin dalam penelitian ini digunakan sebagai kontrol kerja. Antibiotik *ciprofloxacin* 5 mcg dalam penelitian ini digunakan sebanyak empat buah dalam empat kali pengulangan. Berdasarkan hasil pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa, ciprofloxacin* memiliki nilai terendah sebesar 31,9 mm dan nilai tertinggi sebesar 35,9 mm dengan rerata diameter zona hambat sebesar 34,2 ± 1,8 mm. Dalam tabel NCCLS *ciprofloxaci*n dikatakan sensitif apabila diameter zona hambatnya ≥ 21 mm, jika diameter zona hambat yang dihasilkan pada kontrol kerja tersebut dibandingkan dengan tabel NCCLS maka kontrol kerja ini termasuk dalam kategori sensitif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa.* Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3
Zona Hambat Antibiotik *Ciprofloxacin* Terhadap Pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*

Pengulangan	Diameter Zona Hambat (mm)
I	35,6
II	31,9
III	33,5
IV	35,9
Rerata ± SD	34,2 ± 1,8

2. Kontrol negatif (Etanol 96%)

Kontrol negatif dalam penelitian ini disebut juga sebagai konsentrasi 0%. Kontrol negatif yang digunakan adalah etanol 96% sebanyak 20 µL dengan empat kali pengulangan. Berdasarkan hasil pengukuran kelompok kontrol yang telah dilakukan tidak terbentuk zona hambat (0 mm).

b. Diameter zona hambat perlakuan

Tabel 4
Zona Hambat Pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*
pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi

Perlakuan	Diameter Zona Hambat				Rerata
	1	2	3	4	
50%	9,1	9,5	9,8	9,3	9,6 ±0,2
60%	10,2	10,6	10,8	10,6	10,8 ± 0,2
70%	11,1	11,4	11,6	11,9	12,5±0,3
80%	13,3	13,3	13,7	13,9	13,6 ± 0,3
90%	15,1	15,3	15,6	15,8	15,4 ± 0,3

1) Konsentrasi 50%

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak etanol daun pandan wangi pada konsentrasi 50% dengan diameter terkecil 9,3 mm dan diameter terbesar 9,8 mm dengan rerata diameter zona hambat sebesar 9,6±0,2 mm.

2) Konsentrasi 60%

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak etanol daun pandan wangi pada konsentrasi 60% dengan diameter terkecil 10,6 mm dan diameter terbesar 11,2 mm dengan rerata diameter zona hambat sebesar 10,8±0,2 mm.

3) Konsentrasi 70%

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak etanol daun pandan wangi pada konsentrasi 70% dengan diameter terkecil 12,1 mm dan diameter terbesar 12,9 mm dengan rerata diameter zona hambat sebesar 12,5±0,3mm.

4) Konsentrasi 80%

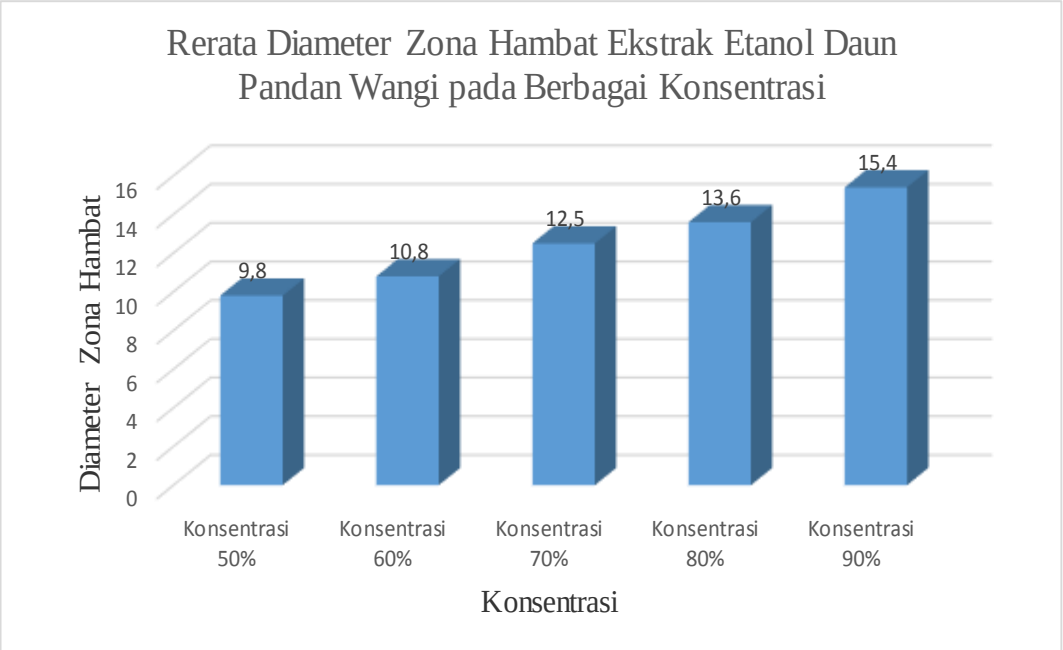
Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak etanol daun pandan wangi pada konsentrasi 80% dengan diameter terkecil 13,3 mm dan diameter terbesar 14,1 mm dengan rerata diameter zona hambat sebesar 13,6±0,3 mm.

5) Konsentrasi 90%

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak etanol daun pandan wangi pada konsentrasi 90%

dengan diameter terkecil 15,1 mm dan diameter terbesar 15,9 mm dengan rerata diameter zona hambat sebesar 15,4±0,3 mm.

3. Perbedaan diameter zona hambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dengan menggunakan ekstrak etanol tanaman daun pandan wangi pada berbagai konsentrasi.



Gambar 7. Rerata diameter zona hambat ekstrak etanol daun pandan wangi pada berbagai konsentrasi.

Berdasarkan data pada Gambar 7, menunjukkan adanya peningkatan diameter zona hambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dari konsentrasi 50% hingga 90%. Daya hambat ekstrak tanaman daun pandan wangi terkecil terdapat pada konsentrasi 50%, yang ditandai dengan terbentuknya diameter zona hambat terpendek dibandingkan dengan konsentrasi 60%, 70%, 80%, dan 90%. Kemampuan menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* terbesar ditunjukkan pada konsentrasi 90% yang ditunjukkan dengan terbentuknya diameter terpanjang dibandingkan dengan konsentrasi 50, 60, 70, dan 80%.

Perbedaan peningkatan diameter zona hambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dari konsentrasi 50% ke 60% sebesar 1,2 mm, dari konsentrasi 60% ke 70% sebesar 1,7 mm, dari konsentrasi 70% ke 80% sebesar 1,1 mm dan dari konsentrasi 80% ke 90% sebesar 1,8 mm.

4. Kategori kekuatan daya hambat

Kekuatan daya hambat agen antibakteri dapat ditentukan melalui pengukuran zona hambat dan dikategorikan berdasarkan kriteria daya hambat. Susanto, Sudrajat, dan Ruga (2012), menyebutkan katagori zona hambat ≤ 5 katagori lemah, 6-10 katagori sedang, 11-20 katagori kuat, ≥ 21 katagori sangat kuat. Dari 5 konsentrasi dalam eksperimen ini terdapat tiga konsentrasi yang memiliki katagori zona hambat kuat dan dua katagori yang memiliki zona hambat sedang dengan diameter zona hambat yang bervariasi. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5
Hasil Penggolongan Kekuatan Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Perlakuan	Rerata diameter zona hambat (mm)	Kategori kekuatan daya hambat antibakteri
50%	9,6	Sedang
60%	10,8	Sedang
70%	12,5	Kuat
80%	13,6	Kuat
90%	15,4	Kuat

5. Analisis data diameter zona hambat pada berbagai konsentrasi ekstrak

Hasil pengukuran zona hambat dalam penelitian ini kemudian dianalisis dengan uji statistik. Hal pertama yang dilakukan yaitu uji *Kolmogorov Smirnov* (KS) untuk mengetahui distribusi data. Hasil uji KS yang diperoleh dalam penelitian ini adalah nilai probabilitas (*p)* = 0,919. Bila dibandingkan dengan nilai

α (0,05), maka nilai $p > \alpha$ (0,919 > 0,05) yang artinya data tersebut berdistribusi normal, sehingga dilanjutkan dengan uji *One Way Anova*. Pada uji ini, diperoleh hasil p (0,000) < α (0,05), yang artinya bahwa ada perbedaan zona hambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* pada berbagai konsentrasi ekstrak etanol tanaman daun pandan wangi secara *in vitro.*

Perbedaan pada masing-masing konsentrasi ekstrak etanol tanaman daun pandan wangi dalam menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dapat diketahui dengan uji *Least Significant Difference* (LSD). Dalam uji ini diperoleh hasil nilai p (0,000) < α (0,05), pada konsentrasi 50% terhadap 60%, 70%, 80% dan 90%, konsentrasi 60% terhadap 50%, 70%, 80% dan 90%, konsentrasi 70% terhadap 50%, 60%, 80% dan 90%, konsentrasi 80% terhadap 50%, 60%, 70% dan 90%, dan kosnentrasi 90% terhadap 50%, 60%, 70% dan 80% yang menunjukkan bahwa ada perbedaan zona hambat yang bermakna pada masing-masing konsentrasi ekstrak.

B. Pembahasan

1. Diameter zona hambat ekstrak etanol daun pandan wangi terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

a. Diameter zona hambat pada kontrol kerja

1. Kontrol positif (*Ciprofloxacin)*

Kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik *ciprofloxacin* 5 mcg. Pengerjaan kontrol positif ini digunakan untuk mengkonfirmasi beberapa hal diantaranya, mengetahui bahwa isolate bakteri uji layak digunakan, daya difusi zat, ketepatan konsentrasi suspensi bakteri, validasi zona hambat yang terbentuk serta untuk mengetahui bahwa media pertumbuhan untuk pengujian daya hambat

bakteri yang akan digunakan dalam kondisi baik, yang dapat dilihat dari kemampuan antibiotik *ciprofloxacin* yang berdifusi ke dalam media sehingga membentuk zona hambat.

Ciprofloxacin merupakan salah satu obat sintetik turunan terfluorinasi kuinolon yang memiliki aktivitas antibakteri. *Ciprofloxacin* merupakan agen dalam kelompok kuinolon yang paling aktif terhadap gram negatif, khususnya *Pseudomonas aeruginosa* tetapi terbatas aktivitasnya terhadap organisme gram positif (Rieuwpassa, Yunus, dan Arsana, 2011). Hasil pengukuran diameter zona hambat *ciprofloxacin* pada penelitian ini yang tergolong katagori sensitif menandakan bahwa antibiotik ini masih mampu dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa.*

2. Kontrol negatif (Etanol 96%)

Dalam penelitian ini kontrol negatif juga disebut sebagai konsentrasi 0%. Dalam penelitian ini kontrol negatif yang digunakan adalah etanol 96%. Pungukuran pada kontrol negatif bertujuan untuk mengetahui apakah pelarut yang digunakan memiliki pengaruh terhadap diameter zona hambat yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi ekstrak. Hasil pengukuran kontrol yang dilakukan tidak terbentuk zona hambat, sehingga zona hambat yang terbentuk pada penelitian ini tidak dipengaruhi oleh pelarut melainkan karena aktivitas senyawa yang ada pada tanaman daun pandan wangi.

Penggunaan etanol sebagai kelompok kontrol diperkuat dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Rastina, Minarwati, dan Ietje (2006), tentang aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kari (*murraya koenigii*) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas sp*., yang menyatakan

bahwa etanol tidak menunjukkan adanya zona hambat, sehingga dapat dipastikan bahwa etanol tidak berpengaruh terhadap aktivitas yang terbentuk dan hal tersebut sejalan dengan penelitian ini.

Pada penelitian ini etanol tidak membentuk zona hambat, karena etanol memiliki sifat mudah menguap dan memiliki sifat tidak persisten dalam membunuh bakteri. Aktivitas antimikroba pada alkohol berpengaruh pada beberapa faktor, yaitu jenis alkohol yang digunakan, konsentrasi alkohol dan waktu kontak (Ramdhan, 2013).

b. Diameter zona hambat ekstrak etanol daun pandan wangi terhadap pertumbuhan *Psedudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80%, dan 90%.

Berdasarkan penelitian daya hambat ekstrak etanol daun pandan wangi terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dengan berbagai konsentrasi menunjukkan adanya zona hambat yang terbentuk dari setiap konsentrasi. Pengujian ini dilakukan dengan metode difusi cakram. Prinsip dari metode difusi cakram adalah senyawa antibakteri yang dijenuhkan didalam cakram kertas. Cakram kertas yang mengandung senyawa antibakteri tertentu ditanam pada media pembenihan agar yang padat dan telah dicampurkan dengan bakteri uji, kemudian diinkubasi pada suhu dan waktu tertentu, zat antibakteri akan berdifusi ke dalam media dan menghambat pertumbuhan bakteri yang ditunjukkan dengan adanya area (zona) bening disekitar cakram kertas (Syamsu, 2016).

1. Diameter zona hambat pada konsentrasi 50%

Pada konsentrasi 50% yang merupakan konsentrasi terendah, rerata diameter zona hambat yang terbentuk sebesar 9,6 mm. Rerata diameter zona

hambat yang terbentuk pada konsentrasi ini merupakan rerata diameter terpendek dari rerata diameter zona hambat lainnya. Penelitian lain yang dilakukan oleh Wangkanusa, Lolo, dan Wewengkang (2016), tentang uji aktivitas antibakteri dari ekstrak daun prasman *(Eupatorium triplinerve Vahl.)* terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa,* pada konsentrasi 50% didapatkan diameter zona hambat sebesar 4,67 mm, sehingga jika dibandingkan dengan penelitian ini diameter zona hambat ekstrak daun pandan wangi pada konsentrasi 50% (9,6mm) lebih besar untuk menghambat bakteri *Pseduomonas aeruginosa*. Perbedaan penelitian ini terletak pada proses maserasi, pada penelitian ini maserasi dilakukan selama 1 minggu ditambah dengan proses remaserasi selama 1 minggu, sedangkan pada penelitian Wangkanusa, Lolo, dan Wewengkang (2016), hanya dilakukan proses maserasi selama 2 hari. Maserasi merupakan metode penyarian zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari yang sesuai, cairan penyari yang digunakan akan masuk ke dalam sel dan melewati dinding sel. Isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan di ganti oleh cairan penyari dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel (Putra, 2018). Lamanya waktu maserasi mempengaruhi volume ekstrak yang diperoleh. Semakin lama waktu maserasi semakin lama juga waktu kontak antara pelarut dengan bahan baku sehingga semakin banyak zat terlarut yang terkandung di dalam padatan yang terlarut di dalam pelarut (Nasir dan Kamila, 2009). Oleh karena itu proses maserasi yang terlalu singkat akan menghasilkan kandungan zat aktif yang kurang

optimal sehingga dapat mempengaruhi kemampuan ekstrak dalam menghambat bakteri.

2. Diameter zona hambat pada konsentrasi 60%

Pada konsentrasi 60% kemampuan membentuk zona hambat lebih besar dibandingkan dengan zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 50%. Hasil rerata diameter zona hambat pada konsentrasi 60% sebesar 10,8 mm. Kemampuan menghambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 60% lebih kuat dibandingkan dengan konsentrasi 50% yang ditandai dengan panjang diameter zona hambat yang terbentuk. Hal ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor yaitu perbedaan besar kecilnya konsentrasi, banyak sedikitnya kandungan zat aktif antimikroba yang terkandung dalam ekstrak, kecepatan difusi bahan antimikroba ke dalam medium dan inkubasi (Purwanto, 2015). Penelitian lain yang dilakukan oleh Torar, Widya, dan Gayatri (2017), tentang uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji pepaya *(Carica papaya l.)* terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada konsentrasi 60% didapatkan rerata diameter zona hambat sebesar 6,00 mm, sehingga jika dibandingkan dengan penelitian ini diameter zona hambat ekstrak daun pandan wangi pada konsentrasi 60% (10,8 mm) lebih besar untuk menghambat bakteri *Pseduomonas aeruginosa* daripada ekstrak biji pepaya. Perbedaan ini disebabkan oleh proses maserasi pada biji pepaya yang hanya direndam selama 2 hari sehingga senyawa aktif yang diperoleh menjadi lebih sedikit. Faktor lain yang menyebabkan perbedaan diameter zona hambat dari ekstrak tersebut adalah perbedaan senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak. Kandungan senyawa aktif yang terdapat pada biji pepaya adalah terpenoid, flavonoid, alkaloid, sedangkan pada daun pandan wangi adalah flavonoid,

alkaloid, saponin dan tanin (Fitriah, Mappiratu, dan Prismawiryanti, 2017). Berdasarkan perbandingan hasil penelitian tersebut, diketahui bahwa ekstrak etanol daun pandan wangi memiliki senyawa metabolit sekunder yang lebih banyak dan berpotensi sebagai antibakteri sehingga mampu menghasilkan diameter zona hambat yang lebih besar.

3. Diameter zona hambat konsentrasi 70%

Pada konsentrasi 70% kemampuan membentuk zona hambat lebih besar dibandingkan dengan zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 50% dan 60%. Konsentrasi 70% menghasilkan diameter zona hambat sebesar 12,5 mm. Penelitian serupa juga dilakukan oleh Rahayu (2017), tentang aktivitas ekstrak etanol daun kirinyuh (*Chromolaena odorata*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan konsentrasi 60%, 70%, 80% dan 90% yang menghasilkan rerata diameter zona hambat tertinggi pada konsentrasi 90% yaitu sebesar 7,93 mm, jika dibandingkan dengan penelitian ini diameter zona hambat daun pandan wangi pada konsentrasi 70% (12,5 mm) memiliki diameter zona hambat yang lebih besar daripada konsentrasi 90% daun kirinyuh. Perbedaan kemampuan membentuk zona hambat pada masing-masing ekstrak dapat disebabkan oleh beberapa faktor antara lain toksisitas bahan uji, kemampuan difusi bahan uji pada media, interaksi antar kompomen medium, dan kondisi lingkungan mikro in vitro (Candrasari dkk., 2012).

4. Diameter zona hambat konsentrasi 80%

Pada konsentrasi 80% kemampuan membentuk zona hambat lebih besar dibandingkan dengan zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 50%, 60%, dan 70%. Konsentrasi 80% menghasilkan diameter zona hambat sebesar 13,6 mm.

Penelitian lain tentang uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji pepaya *(Carica papaya l.)* terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang dilakukan oleh Torar, Widya, dan Gayatri (2017), pada konsentrasi 80% didapatkan rerata diameter zona hambat sebesar 6,00 mm, jika dibandingkan dengan penelitian ini diameter zona hambat ekstrak daun pandan wangi pada konsentrasi 80% (13,6 mm) lebih besar untuk menghambat bakteri *Pseduomonas aeruginosa* daripada ekstrak biji pepaya. Hal ini disebabkan proses maserasi pada biji pepaya hanya direndam selama 2 hari sedangkan untuk memperoleh zat aktif yang optimal untuk menghambat pertumbuhan bakteri memerlukan waktu yang cukup lama. Waktu maserasi yang singkat menyebabkan senyawa aktif yang diperoleh menjadi lebih sedikit. Faktor lain yang menyebabkan perbedaan diameter zona hambat dari ekstrak tersebut adalah perbedaan senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak. Kandungan senyawa aktif yang terdapat pada biji pepaya adalah terpenoid, flavonoid, alkaloid, sedangkan pada daun pandan wangi adalah flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin, sehingga hal tersebut yang menyebabkan perbedaan hasil diameter zona hambat yang terbentuk (Fitriah, Mappiratu, dan Prismawiryanti, 2017).

5. Diameter zona hambat konsentrasi 90%

Konsentrasi 90% merupakan konsentrasi tertinggi dalam penelitian ini. Walaupun demikian penggunaan konsentrasi yang lebih besar dari 90% tidak dilarang. Rahman, Sutrisna, dan Anika (2012), menyebutkan kepekatan stok konsentrasi yang lebih pekat dapat mempengaruhi daya difusi pada media *Muller Hinton Agar*. Dengan demikian meskipun konsentrasi bertambah, tetapi

banyaknya zat bioaktif yang dapat berdifusi ke dalam medium lebih sedikit, sehingga pengaruhnya pada pembentukan zona hambat juga sedikit.

Diameter zona hambat pada konsentrasi 90% memiliki rerata sebesar 15,4 mm yang merupakan diameter terpanjang dibandingkan dengan konsentrasi lainnya. Penelitian serupa juga dilakukan oleh Rahayu (2017), tentang aktivitas ekstrak etanol daun kirinyuh (*Chromolaena odorata*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan konsentrasi 90% yang menghasilkan rerata diameter zona hambat sebesar 7,93 mm, sehingga dari penelitian tersebut apabila dibandingkan dengan penelitian ini diameter zona hambat ekstrak daun pandan wangi pada konsentrasi 90% (15,4 mm) lebih besar dalam menghambat bakteri *Pseduomonas aeruginosa* daripada ekstrak daun kirinyuh. Perbedaan kemampuan membentuk zona hambat pada masing-masing ekstrak tersebut dapat disebabkan oleh beberapa faktor antara lain toksisitas bahan uji, kemampuan difusi bahan uji pada media, interaksi antar kompomen medium, dan kondisi lingkungan mikro in vitro (Candrasari dkk., 2012).

2. Perbedaan diameter zona hambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dengan menggunakan ekstrak etanol tanaman daun pandan wangi pada berbagai konsentrasi

Kelima seri konsentrasi ekstrak etanol daun pandan wangi dapat menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dengan diameter zona hambat yang berbeda-beda. Perbedaan tersebut disebabkan karena semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin banyak kandungan zat antibakteri yang berperan dalam menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*. Secara umum dapat dikatakan semakin tinggi konsentrasi ekstrak tanaman daun pandan wangi , maka

aktivitas antimikroba dari ekstrak ini semakin baik (Khasanah, Sarwiyono, dan Puguh, 2014).

Diameter zona hambat yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi ekstrak tanaman daun pandan wangi terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dapat dikategorikan menjadi daya hambat bakteri sedang dan kuat sesuai dengan Tabel 1. Dua konsentrasi ekstrak etanol daun pandan wangi dapat dikategorikan memiliki daya hambat sedang karena diameter yang terbentuk termasuk dalam rentang 6-10 mm dan tiga konsentrasi ekstrak etanol daun pandan wangi dapat dikategorikan memiliki daya hambat kuat karena diameter yang terbentuk termasuk dalam rentang 11-20 mm.

Zona hambat yang terbentuk dari kelima konsentrasi tersebut disebabkan oleh adanya senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak etanol daun pandan wangi. Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Illing, Safitri, dan Erfiana (2017), diketahui tanaman daun pandan wangi mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin dan polifenol, masing-masing dari senyawa aktif tersebut memiliki mekanisme kerja yang berbeda-beda.

Secara umum, mekanisme kerja senyawa antibakteri dibagi dalam empat kelompok. Pertama, senyawa antibakteri menghambat sintesis dinding sel. Kedua, senyawa antibakteri menghambat metabolisme sel. Ketiga, senyawa antibakteri mengganggu keutuhan membran sel. Dan keempat, senyawa antibakteri menghambat sintesis protein dan asam nukleat (Sudrajat, Sadani, dan Sudiastuti, 2012).

Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada

sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Kurniawan dan Aryana, 2015). Saponin termasuk dalam kelompok antibakteri yang dapat mengganggu permeabilitas membran sel mikroba. Mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel mikroba yaitu protein, asam nukleat, nukleotida dan lain-lain (Khasanah, Sarwiyono dan Puguh, 2014).

Flavonoid memiliki sifat sebagai senyawa antibakteri karena mengikat gugus -OH yang diketahui sebagai salah satu kelompok gugus antimikroba. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler bakteri, sehingga dapat merusak membran sitoplasma bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler. Senyawa flavonoid bersifat lipofilik sehingga mampu mengikat fosfolipid pada dinding sel bakteri. Dinding sel bakteri lisis dan senyawa dapat masuk ke dalam inti sel bakteri. Pada inti sel senyawa akan berikatan dengan lipid DNA bakteri sehingga menghambat replikasi DNA dan menyebabkan perubahan kerangka mutasi pada sintesis protein (Rachmawati, 2018).

Kandungan senyawa tanin pada ekstrak etanol daun pandan wangi mempunyai aksi antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menonaktifkan adhesin bakteri, menghambat kerja enzim, menghambat transport protein pada selubung sel. Mekanisme kerja tanin sebagai bahan antibakteri antara lain melalui perusakan membran sel bakteri karena toksisitas tanin (Rahman, Tetiana, dan Trianna, 2017).

Senyawa polifenol merupakan senyawa yang tersebar luas sebagai zat warna alam yang menyebabkan warna pada bunga, kayu dan buah. Mekanisme

polifenol sebagai agen antibakteri berperan sebagai toksin dalam protoplasma, merusak dan menembus dinding sel serta mengendapkan protein sel bakteri (Rosidah, Lestari, dan Astuti, 2014).

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri yang tergolong gram negatif, dimana terdapat perbedaan struktur dinding sel antara gram positif dengan gram negatif. Struktur dinding bakteri gram positif terdiri atas beberapa lapisan peptidoglikan yang membentuk struktur yang tebal dan kaku serta mengandung substansi dinding sel yang disebut asam teikoat, sedangkan bakteri gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tipis. Karena hanya mengandung sedikit lapisan peptidoglikan dan tidak mengandung asam teikoat, maka dinding bakteri gram negatif seperti *Pseudomonas aeruginosa* lebih rentan terhadap guncangan fisik, seperti pemberian antibiotik atau bahan antibakteri lainnya (Putra, 2018). Dinding sel merupakan target utama yang diserang oleh zat antibakteri yang terkandung di dalam ekstrak etanol tanaman daun pandan wangi, sehingga memudahkan senyawa aktif untuk masuk ke dalam membran sel (Khasanah, Sarwiyono, dan Puguh, 2014).

3. Katagori daya hambat

Berdasarkan dari penelitian ini terdapat dua konsentrasi yang memiliki katagori daya hambat sedang dan tiga konsentrasi memiliki katagori daya hambat kuat. Daya hambat sedang berarti pada konsentrasi tersebut ekstrak memiliki kemampuan menengah atau sedang dalam menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan katagori kuat berarti ekstrak memiliki kemampuan besar/ kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Perbedaan kekuatan daya hambat ini dipengaruhi oleh beberapa hal seperti tingkat pengenceran dari masing-masing

konsentrasi ekstrak yang digunakan, semakin rendah konsentrasi maka semakin sedikit zat antibakteri yang terkandung didalam ekstrak, sedangkan semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka semakin banyak zat antibakteri yang terkandung dalam ekstrak tersebut, hal ini menyebabkan semakin banyak pula bakeri yang dirusak sehingga dapat dihambat pertumbuhannya.

Konsentrasi 50% dan 60% memiliki katagori daya hambat sedang dalam penelitian ini. Dari kedua konsentrasi tersebut yang baik digunakan dan dapat diaplikasikan pada masyarakat adalah konsentrasi 50%. Hal ini dikarenakan pada konsentrasi 50% sudah menghasilkan daya hambat sedang yang juga dihasilkan pada konsentarsi yang lebih tinggi yaitu 60%. Sedangkan pada konsentrasi 70%, 80% dan 90% pada penelitain ini memiliki katagori daya hambat kuat. Konsentrasi yang baik digunakan dan dapat diaplikasikan pada masyarakat adalah konsentrasi 70%. Konsentrasi 70% merupakan konsentrasi dengan rata-rata terkecil dari konsentrasi 80% dan 90%, namun sudah memilki katagori daya hambat yang sama dengan konsentrasi tersebut. Oleh karena itu konsentrasi 70% yang tergolong katagori kuat sudah baik digunakan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa.*