

**PENGARUH KOMBINASI PELARUT EKSTRAKSI ETANOL 96%-ETIL
ASETAT (1:1) DAUN PANDAN WANGI (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.)
TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Bacillus subtilis***

Najwi Hasani*, Muhammad Awaluddin Padjrin, Daipadli, Hayatus Sa'adah
Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah
Banjarmasin

Email: najwihasani@umbjm.ac.id

ABSTRAK

Daun Pandan Wangi (*P. amaryllifolius* Roxb.) merupakan tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan tambahan pada makanan dan memiliki kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, polifenol, zat warna, minyak atsiri, steroid dan terpenoid yang berperan sebagai antibakteri. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol-etil asetat (1:1) daun Pandan Wangi (*P. amaryllifolius* Roxb.) terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dengan metode difusi sumuran. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen untuk menguji aktivitas antibakteri pada daun Pandan Wangi yang diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut etanol-etil asetat (1:1). Hasil skrining fitokimia positif mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, fenol, dan steroid. Uji aktivitas antibakteri menggunakan konsentrasi 1%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40% dan 50%. Zona hambat dapat dilihat dengan adanya daerah bening disekitar lubang sumuran. Hasil penelitian menunjukkan pada konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40% dan 50% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dengan rata-rata zona hambat yang dihasilkan 8,39 mm, 10,33 mm, 11,27 mm, 13,37 mm dan 15,57 mm. Sedangkan pada konsentrasi 1% dan 5% tidak memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*. Kesimpulan bahwa ekstrak etanol-etil asetat (1:1) daun Pandan Wangi (*P. amaryllifolius* Roxb.) memiliki aktivitas antibakteri dengan metode difusi sumuran pada konsentrasi uji minimal 10%.

Kata Kunci: Daun Pandan Wangi (*P. amaryllifolius* Roxb.), Antibakteri, *Bacillus subtilis*, Difusi sumuran.

ABSTRACT

The leaves of Pandan Wangi (P. amaryllifolius Roxb.) are plants that can be used as additives in food and contain alkaloid compounds, flavonoids, saponins, tannins, polyphenols, dyes, essential oil, steroids, and terpenoids which act as antibacterial. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of ethanol-ethyl acetate extract (1:1) of Pandan Wangi leaves (P. amaryllifolius Roxb.) against Bacillus subtilis by using cup plate diffusion method. This study was an experimental study to test the antibacterial activity of Pandan Wangi leaves which was maceration extracted using ethanol-ethyl acetate (1:1) solvent. The results of positive phytochemical screening contained alkaloids, flavonoids, saponins, phenols, and steroids. The antibacterial activity test used concentrations of 1%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40% and 50%. The zone of inhibition can be seen in the clear area around the hole cup. The results showed that at concentrations of 10%, 20%,

30%, 40%, and 50% could inhibit the growth of *Bacillus subtilis* bacteria with an average inhibition zone produced by 8,39 mm, 10,33 mm, 11,27 mm, 13,37 mm and 15,57 mm. Meanwhile, at concentrations of 1% and 5%, there is no inhibitory power against the growth of *Bacillus subtilis*. The conclusion was that the ethanol-ethyl acetate extract (1: 1) of Pandan Wangi leaves (*P. amaryllifolius* Roxb.) had antibacterial activity using the well diffusion method at a minimum test concentration of 10%.

Keywords: Pandan Wangi leaves (*P. amaryllifolius* Roxb.), Antibacterial, *Bacillus subtilis*, Well diffusion

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki keanekaragaman flora yang berpotensi sebagai obat alami. Tumbuhan perlu dikembangkan sebagai alternatif pengobatan karena mudah didapat, murah, dan memiliki efek samping yang minimal dibandingkan obat kimia (1). Penggunaan tumbuhan sebagai obat perlu didukung data ilmiah agar manfaat dan keamanannya dapat dipertanggungjawabkan, sehingga mendorong masyarakat mememanfaatkannya (2).

Pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) adalah salah satu tanaman yang memiliki potensi farmakologis sebagai obat alami. Daunnya umum ditanam di pekarangan dan sering dimanfaatkan sebagai pewarna serta pemberi aroma makanan. Kandungan metabolit sekundernya seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, polifenol, minyak atsiri, steroid, dan terpenoid

diduga bersifat antibakteri (3). Penggunaan kombinasi pelarut etanol-etil asetat (1:1) dalam ekstraksi daun Pandan Wangi (*P. amaryllifolius* Roxb.) menghasilkan aktivitas antibakteri yang lebih baik dibandingkan menggunakan pelarut etanol 96% tunggal maupun etil asetat tunggal. Mardiyarningsih & Aini (2014) melaporkan bahwa ekstrak daun pandan wangi dengan pelarut etanol-etil asetat (1:1) pada konsentrasi 2,5 mg/disc menghasilkan zona hambat 13,3 mm terhadap *Staphylococcus aureus*, yang diklasifikasikan sebagai aktivitas kuat. Sebagai pembanding, ekstrak etil asetat murni pada konsentrasi sama hanya menghasilkan zona hambat 10 mm, yaitu kategori sedang. (4). Menurut Jacky *et al.* (2019), ekstrak daun pandan wangi dengan pelarut etanol 96% pada konsentrasi 40% menghasilkan zona hambat 7,9 mm

terhadap *Bacillus cereus* dan 8,1 mm terhadap *Escherichia coli* (5)

Penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa ekstrak daun pandan wangi memiliki aktivitas antibakteri terhadap berbagai bakteri patogen, seperti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Bacillus cereus*. Namun, penelitian mengenai efektivitasnya terhadap *Bacillus subtilis*, bakteri Gram-positif yang sering digunakan sebagai model dalam uji antibakteri, masih terbatas. Bakteri ini merupakan mikroorganisme Gram-positif, aerobik, dan mampu membentuk endospora. Meskipun termasuk flora normal, proliferasi berlebih di saluran pencernaan dapat menyebabkan diare yang ditularkan melalui makanan yang terkontaminasi (6). Metode difusi sumuran digunakan dalam uji ini karena efektif untuk mengevaluasi kemampuan antibakteri berdasarkan zona hambatan yang terbentuk di sekitar sumuran ekstrak pada media agar (7)

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Lemari pendingin

(*aqua*®), Inkubator (*memmert*®), Neraca analitik (*ohaus*®), Oven (*memmert*®), Autoklaf (*all american autoclave*®), Mikro pipet (*nesco*®), Aluminium foil, Cawan petri (*iwaki*®), Jangka sorong (*osaka*®), Tabung reaksi (*pyrex*®), Beker glass (*pyrex*®), Gelas ukur (*pyrex*®), Corong dan Erlenmeyer (*pyrex*®), Blender (*national*®), Jarum ose, Lampu bunsen dan Alat lubang sumuran.

Bahan-bahan penelitian yang digunakan adalah daun Pandan Wangi (*P. amaryllifolius* Roxb.) yang diproses menjadi ekstrak (konsentrasi 1%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%), *Mueller Hinton Agar* (MHA) (*himedia*®), *Nutrient Agar* (NA) (*oxid*®), Etanol 96% (*brataco*®), Etil asetat (*brataco*®), DMSO (*emsure*®), (sebagai pelarut ekstrak dan kontrol negatif), Serbuk Magnesium, FeCl₃ (*brataco*®), HCl (*brataco*®), Aquadest (*brataco*®), Ammonia (*brataco*®), NaCl, H₂SO₄ (*brataco*®), Asam asetat anhidrat (*emsure*®), reagen Mayer, Wagner, Dragendroff, Standard 0,5 McFarland (*himedia*®), biakan bakteri *Bacillus subtilis*

(*agromedia*®), dan cakram Ciprofloxacin (*oxoid*®) sebagai kontrol positif.

Determinasi Tanaman

Daun Pandan Wangi (*P. amaryllifolius* Roxb.) dilakukan determinasi pada Laboratorium Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru.

Pembuatan Simplisia dan Ekstraksi Daun Pandan Wangi

Daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) diperoleh dari pekarangan rumah di wilayah Banjarmasin Tengah. Sebanyak 2 kg daun dipetik, dicuci bersih di bawah air mengalir, kemudian ditiriskan dan dipotong kecil-kecil. Selanjutnya, daun dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C hingga kering dan mudah dihancurkan. Daun kering tersebut kemudian dihaluskan dengan blender dan diayak menggunakan ayakan 40 mesh untuk menghasilkan serbuk simplisia yang siap digunakan dalam proses ekstraksi (8).

Sebanyak 200 g serbuk simplisia daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) diekstraksi

menggunakan campuran etanol 96% dan etil asetat dengan rasio 1:1 sebanyak 1500 mL. Serbuk direndam selama 5 hari dengan pengadukan sesekali, lalu disaring. Ampas yang tersisa kemudian diekstraksi ulang (remaserasi) menggunakan 500 mL campuran pelarut yang sama selama 1 hari. Filtrat yang diperoleh disaring kembali dan diuapkan hingga menghasilkan ekstrak kental dengan bobot konstan (4); (9)

Skrining Fitokimia

Pemeriksaan Flavonoid

Ekstrak sampel seberat 0,5 g dimasukkan ke tabung reaksi dan dilarutkan dengan campuran etanol-etil asetat. Setelah itu, ditambahkan serbuk magnesium dan 1 mL asam klorida pekat (9)

Pemeriksaan Alkaloid

Ekstrak 0,5 g ditempatkan dalam cawan porselen, kemudian ditambahkan pelarut campuran etanol-etil asetat. Selanjutnya, ditambahkan 5 mL larutan HCl 2N, lalu larutan tersebut dibagi ke dalam tiga tabung reaksi. Pada tabung pertama, ditambahkan 2-3 tetes reagen Dragendorff, pada tabung kedua 2-3

tetes reagen Mayer, dan pada tabung ketiga 2-3 tetes reagen Wagner (10)

Pemeriksaan Saponin

Ekstrak 0,5 g dilarutkan dalam 10 mL air panas di tabung reaksi; setelah dingin, kocok kuat selama 10 detik hingga terbentuk busa stabil setinggi 1–10 cm yang bertahan 10 menit dan tidak luntur setelah penambahan satu tetes HCl 2N menandakan kehadiran saponin (9)

Pemeriksaan Tanin

Ekstrak 0,5 g dimasukkan kedalam tabung reaksi dilarutkan dalam 2 mL air dan tambahkan 1 mL larutan gelatin 2%. Jika terbentuk endapan positif mengandung tanin (11)

Pemeriksaan Fenol

Ekstrak 0,5 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan air 2 mL dan 3 tetes larutan FeCl_3 3%. Perubahan warna larutan menjadi hijau kebiruan atau biru gelap menandakan keberadaan senyawa fenol (12)

Pemeriksaan Steroid/Triterpenoid

Ekstrak 0,5 g dimasukkan kedalam cawan penguap, tambahkan eter 1 mL, kemudian ditambahkan 0,5

mL asam asetat anhidrat dan ditetesi dengan 2 mL H_2SO_4 pekat. Terbentuknya warna kecoklatan atau violet menunjukkan adanya triterpenoid, sementara munculnya warna hijau kebiruan menandakan adanya steroid (11)

Uji Aktivitas Antibakteri

Sterilisasi Alat

Alat-alat yang diperlukan dalam percobaan disterilkan terlebih dahulu. Alat kaca yang memiliki volume serta bahan karet disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (13)

Pembuatan Media Biakan dan Media Uji

Media NA 0,56 g dimasukkan ke dalam erlenmeyer, tambahkan dengan aquadest steril sebanyak 20 mL dan diaduk disertai dengan pemanasan 70°C . Tutup mulut erlenmeyer dengan kapas. Sterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (14)

Sebanyak 7,6 g Muller Hinton Agar (MHA) ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer. Kemudian, ditambahkan 200 mL aquadest dan dipanaskan hingga mendidih. Setelah itu, labu

ditutup dengan kapas, dilapisi aluminium foil, dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit. Setelah disterilkan, media yang telah dingin dituangkan ke dalam cawan petri sebanyak 20 mL dan dibiarkan hingga memadat (8)

Peremajaan Bakteri dan Suspensi Bakteri

Koloni bakteri *Bacillus subtilis* diambil menggunakan jarum ose yang telah disterilkan dengan lampu bunsen, kemudian ditanamkan pada media nutrisi agar miring dengan cara digores. Selanjutnya, media tersebut diinkubasi dalam inkubator pada suhu sekitar 37°C selama 18-24 jam (14)

Suspensi bakteri dibuat dengan mengambil stok kultur *Bacillus subtilis* menggunakan jarum ose yang telah disterilkan, kemudian disuspensikan dalam tabung reaksi yang berisi larutan NaCl 0,9%. Suspensi tersebut diaduk hingga mencapai kekeruhan yang setara dengan standar 0,5 McFarland atau $1,5 \times 10^8$ CFU/ml (8)

Uji Aktivitas Antibakteri Metode Sumuran

Ekstrak kental daun Pandan Wangi dilakukan pengenceran dengan membuat seri konsentrasi 1%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40% dan 50% menggunakan DMSO sebagai pelarut dalam pengenceran ekstrak. *Disc* Ciprofloxacin sebagai kontrol positif dan DMSO sebagai kontrol negatif.

Bakteri yang telah disiapkan dengan kekeruhan standar 0,5 McFarland kemudian dioleskan ke permukaan media *Muller Hinton Agar* menggunakan swab kapas steril. lalu dibuat lubang secara aseptik dengan diameter sekitar 5 mm. Pada cawan yang diberi perlakuan ekstrak daun pandan wangi (*P. amaryllifolius* Roxb.), setiap konsentrasi ekstrak dimasukkan ke dalam tiap lubang sumuran sebanyak 20 µL. Sedangkan pada cawan kontrol, diberikan disc Ciprofloxacin sebagai kontrol positif dan DMSO 5% sebagai kontrol negatif (7).

Cawan petri yang telah diberi cairan ekstrak kemudian disimpan dalam kulkas selama sekitar 30 menit pada suhu 4°C agar ekstrak dapat

berdifusi ke dalam media sebelum bakteri mulai tumbuh. Selanjutnya, cawan tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong, dan hasilnya dianalisis lebih lanjut (15)

Analisa Data

Diameter zona hambat dianalisis menggunakan uji normalitas (Shapiro-Wilk) dan homogenitas (Levene). Data normal dianalisis dengan One Way ANOVA, sementara data tidak normal dan tidak homogen dianalisis menggunakan uji Kruskal-Wallis, dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney untuk melihat perbedaan antar kelompok (16)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) yang digunakan dalam penelitian ini telah dideterminasi di Laboratorium Biologi, FMIPA Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru, Kalimantan Selatan. Berdasarkan sertifikat 059/LB.LABDASAR/III/2020, sampel tersebut termasuk tanaman dari famili Pandanaceae dan

teridentifikasi sebagai *Pandanus amaryllifolius* Roxb.

Rendemen Simplisia dan Ekstrak

Rendemen menunjukkan efisiensi ekstraksi bahan aktif dari simplisia. Rendemen simplisia dihitung dari perbandingan berat simplisia kering dengan berat bahan segar, sedangkan rendemen ekstrak berdasarkan berat ekstrak terhadap berat simplisia kering. Data rendemen simplisia dan ekstrak disajikan pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 1. Rendemen Simplisia

Bobot Segar	Bobot Simplisia	Rendemen
2 kg	236 g	11,8%

Tabel 2. Rendemen Ekstrak

Bobot Simplisia	Bobot Konstan Ekstrak	Rendemen
200 g	17,25 g	17,25%

Skrining Fitokimia

Ekstrak hasil maserasi daun pandan wangi (*P. amaryllifolius* Roxb.) dianalisis secara kualitatif melalui skrining fitokimia. Hasil dari uji skrining fitokimia dapat dilihat pada Tabel 3.

Hasil skrining fitokimia menunjukkan ekstrak daun pandan wangi positif mengandung flavonoid, alkaloid,

saponin, fenol serta steroid dan triterpenoid, dimana metabolit ini masing-masing memiliki berkontribusi dalam aktivitas antibakteri (17)

Tabel 3. Hasil Uji Skrining Fitokimia

Pemeriksaan	Pereaksi	Hasil
Flavonoid	HCl Pekat, Mg	+
Alkaloid	Dragendorff	+
	Mayer	+
	Wagner	+
Saponin	Aquadest	+
	Aquadest + HCL 2N	+
Tanin	Larutan gelatin 2%	-
Fenol	FeCl ₃ 3%	+
Steroid/Triterpenoid	Pereaksi Lieberman	+
	Bouchard	

Keterangan: (+) menunjukkan reaksi positif, (-) menunjukkan reaksi negatif

Uji Aktivitas Antibakteri

Ekstrak daun Pandan Wangi (*P. amaryllifolius* Roxb.) dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dengan metode sumuran. Hasil uji dapat dilihat pada tabel 4.

Berdasarkan hasil uji yang telah diamati menunjukkan bahwa Ekstrak daun pandan wangi (*P. amaryllifolius* Roxb.) dengan pelarut etanol-etil asetat (1:1) secara signifikan menghambat *Bacillus subtilis* pada konsentrasi 50%, menghasilkan zona hambat besar dalam kategori kuat.

Namun, ukuran zona hambat ini masih lebih kecil dibandingkan kontrol positif Ciprofloxacin 5 µg dipilih karena mekanismenya mirip dengan alkaloid pada ekstrak, yaitu menghambat replikasi DNA bakteri hingga menyebabkan kematian sel (3) (14)

Tabel 4. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Konsentrasi	Replikasi			Rata-Rata (mm) ± SD	Kategori
	1	2	3		
EE-EA					
DPW	(mm)	(mm)	(mm)		
1%	0	0	0	0,00 ± 0,00	Lemah
5%	0	0	0	0,00 ± 0,00	Lemah
10%	8,30	8,12	8,75	8,39 ± 0,32	Sedang
20%	10,50	10,15	10,35	10,33 ± 0,18	Kuat
30%	10,95	11,30	11,55	11,27 ± 0,30	Kuat
40%	13,30	13,55	13,25	13,37 ± 0,16	Kuat
50%	15,15	15,50	16,05	15,57 ± 0,45	Kuat
Kontrol (+)	27,05	27,20	27,50	27,25 ± 0,23	Sangat Kuat
Kontrol (-)	0	0	0	0,00 ± 0,00	-

Keterangan :

Kontrol (+) = Ciprofloxacin

Kontrol (-) = Pelarut DMSO

EE-EA DPW = Ekstrak Etanol-Etil Asetat (1:1) Daun Pandan Wangi

Ekstrak pada konsentrasi 1% dan 5% tidak membentuk zona hambat, yang menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut, ekstrak belum mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji. Konsentrasi terendah yang menghasilkan zona hambat adalah 10%, dengan rata-rata diameter sebesar 8,39 mm, yang tergolong dalam kategori lemah.

Pada konsentrasi 20%, 30%, 40%, dan 50%, rata-rata diameter zona hambat meningkat secara berturut-turut menjadi 10,33 mm, 11,27 mm, 13,37 mm, dan 15,57 mm, yang termasuk dalam kategori kuat. Data ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak berbanding lurus dengan peningkatan diameter zona hambat, meskipun belum melebihi kontrol positif Ciprofloxacin, yang menghasilkan rata-rata diameter zona hambat sebesar 27,25 mm dan tergolong dalam kategori sangat kuat.

Hasil penelitian ini sejalan dengan temuan Mardianingsih dan Aini (2014), yang menyatakan bahwa ekstrak kombinasi pelarut etanol–etil asetat mampu menghasilkan aktivitas antibakteri yang lebih baik terhadap *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan penggunaan pelarut tunggal.

Berdasarkan beberapa penelitian tersebut, penggunaan pelarut kombinasi etanol–etil asetat (1:1) dinilai lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dibandingkan dengan penggunaan pelarut etanol 96%

tunggal. Kombinasi pelarut etanol–etil asetat terbukti menghasilkan ekstrak daun pandan wangi dengan potensi antibakteri yang lebih baik dibandingkan dengan penggunaan pelarut tunggal. Hal ini disebabkan oleh kemampuan kombinasi pelarut tersebut dalam melarutkan senyawa bioaktif dengan berbagai tingkat polaritas. Etanol yang bersifat polar dan etil asetat yang bersifat semi-polar dapat mengekstraksi senyawa aktif baik yang polar maupun semi-polar secara lebih efisien, meningkatkan keragaman dan jumlah senyawa aktif yang dapat diekstraksi (4)

Aktivitas antibakteri yang dihasilkan berkaitan dengan kandungan metabolit sekunder dalam daun Pandan Wangi (*P. amaryllifolius* Roxb.), seperti flavonoid, alkaloid, saponin, polifenol, dan steroid, yang masing-masing memiliki mekanisme kerja antibakteri yang berbeda. Flavonoid diketahui mampu menghambat fungsi membran sel dengan membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler, yang pada akhirnya merusak membran sel bakteri (18). Sementara itu, alkaloid berperan

dalam mengganggu struktur peptidoglikan pada dinding sel bakteri, menyebabkan kelemahan struktural dan berujung pada kematian bakteri (19)

Saponin berfungsi dengan mempengaruhi permeabilitas membran sitoplasma, yang menyebabkan lisis pada sel mikroba (20). Polifenol bekerja dengan mendenaturasi protein, merusak strukturnya, dan mengganggu fungsi fisiologis bakteri, yang pada akhirnya menyebabkan kematian sel bakteri (21). Steroid menghambat pertumbuhan bakteri melalui interaksi dengan membran fosfolipid sel, meningkatkan permeabilitas terhadap senyawa lipofilik, yang mengurangi integritas membran dan menyebabkan perubahan morfologi sel, sehingga sel menjadi rapuh dan mengalami lisis (22) Sementara itu, triterpenoid mengganggu proses pembentukan membran atau dinding sel bakteri (23)

Berdasarkan analisis data menggunakan SPSS versi 20, uji normalitas menunjukkan nilai signifikansi $> 0,05$, sehingga data berdistribusi normal. Namun, uji

homogenitas menghasilkan nilai signifikansi $< 0,05$, yang menunjukkan data tidak homogen. Oleh karena itu, analisis dilanjutkan dengan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis* dan *Mann-Whitney*. Hasil analisis SPSS disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Uji Analisis SPSS

Perlakuan	Kontrol		K1%	K5%	K10%	K20%	K30%	K40%	K50%
	+	-							
Kontrol +	-	0,037	0,037	0,037	0,050*	0,050*	0,050*	0,050*	0,050*
Kontrol -	0,037	-	1,000*	1,000*	0,037	0,037	0,037	0,037	0,037
K1%	0,037	1,000*	-	1,000*	0,037	0,037	0,037	0,037	0,037
K5%	0,037	1,000*	1,000*	-	0,037	0,037	0,037	0,037	0,037
K10%	0,050*	0,037	0,037	0,037	-	0,050*	0,050*	0,050*	0,050*
K20%	0,050*	0,037	0,037	0,037	0,050*	-	0,050*	0,050*	0,050*
K30%	0,050*	0,037	0,037	0,037	0,050*	0,050*	-	0,050*	0,050*
K40%	0,050*	0,037	0,037	0,037	0,050*	0,050*	0,050*	-	0,050*
K50%	0,050*	0,037	0,037	0,037	0,050*	0,050*	0,050*	0,050*	-

Keterangan : (*) Tidak berbeda signifikan ($p \geq 0,05$)

Hasil uji Mann-Whitney menunjukkan bahwa kontrol positif dan negatif memiliki perbedaan signifikan terhadap zona hambat (Asymp. Sig. 0,037). Konsentrasi 1% dan 5% tidak menunjukkan perbedaan signifikan dengan kontrol negatif (Asymp. Sig. 1,000), karena zona hambatnya sama dengan kontrol negatif (0,00 mm). Namun, konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50% menunjukkan perbedaan signifikan dengan kontrol negatif (Asymp. Sig. 0,037), meskipun tidak berbeda signifikan dengan kontrol positif (Asymp. Sig. 0,05), yang

berarti konsentrasi tersebut tetap aktif terhadap bakteri, meskipun tidak sekuat kontrol positif.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol-etil asetat (1:1) daun Pandan Wangi (*P. amaryllifolius* Roxb.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Bacillus subtilis*, dengan diameter zona hambat antara 8,39 mm hingga 15,57 mm, yang termasuk kategori sedang hingga kuat. Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi pelarut dalam penelitian ini dapat meningkatkan kemampuan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

1. Rahmasiah, Shabran Hadiq, Washliaty Sirajuddin. Evaluasi Penggunaan Obat Tradisional Berdasarkan Dimensi Ketepatan Cara Penggunaan. *Jurnal Farmasi Ikifa*. 2024 Jul;3(2):83–94.
2. Chassagne F, Samarakoon T, Porras G, Lyles Jt, Dettweiler M, Marquez L, Et Al. A Systematic Review Of Plants With Antibacterial Activities: A Taxonomic And Phylogenetic Perspective. Vol. 11, *Frontiers In Pharmacology*. *Frontiers Media S.A.*; 2021.
3. Faras A. F., Wadkar S. S., *Ghosh J. S. Effect Of Leaf Extract Of *Pandanus Amaryllifolius* (Roxb.) On Growth Of *Escherichia Coli* And *Micrococcus* (*Staphylococcus*) Aureus. *International Food Research Journal* . 2014;21(1):421–3.
4. Mardiyarningsih A, Aini R. Pengembangan Potensi Ekstrak Daun Pandan (*Pandanus Amaryllifolius* Roxb) Sebagai Agen Antibakteri Development Of *Pandanus Amaryllifolius* Roxb Leaves Extract As Antibacterial Agent. Yogyakarta; 2014 May.
5. Jacky, Putri Da, Azizah M. Uji Aktivitas Anti Bakteri Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (*Pandanus Amaryllifolius* Roxb) Terhadap Bakteri Penyebab Diare. *Jurnal Kesehatan Saemakers Perdana*. 2019;2:91–8.
6. Ambarwati D, Biologi Ij, Matematika F, Pengetahuan I, Universitas A, Surabaya N. Aktivitas Antibakteri Metabolit Ekstraseluler *Bacillus Subtilis* Terhadap *Shigella Dysenteriae* Secara In Vitro. 2021;10(1):25–32. Available From: <https://journal.unesa.ac.id/index.php/lenterabio/index>
7. Zuraida*, Lestari E, Feby Fadillah A, Prodi A, Kesehatan F, Kesehatan U, Et Al. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus Amaryllifolius* Roxb) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa* Atcc 27853. *Jurnal Ilmiah Analisis Kesehatan* [Internet]. 2021;7(2). Available From: <http://journal.thamrin.ac.id/index.php/anakes/issue/view/52>
8. Monica C, Zamzani I, Siti Nashihah. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Daun Bangkal (*Nauclea Subdita*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal*

- Insan Farmasi Indonesia*. 2024 Jul 31;7(2):33–43.
9. Hasani N, Hartati R, Julianti E. Antimicrobial Activity Test Of 96% Ethanol Extract Of Flowers, Leaves, And Stem Bark Of Tigarun (*Crateva Magna* Dc.) Against *Staphylococcus Aureus* And *Malassezia Furfur*. Vol. 8, Medical Sains : *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. 2023.
 10. Arliandini R, Mahdi N, Agustina A. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Benalu Batu (*Begonia Sp*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia* [Internet]. 2023 Dec 30;6(2):270–9. Available From: <https://E-Jurnal.Stikes-Isfi.Ac.Id/Index.Php/Jifi/Article/View/1578>
 11. Ayuchecaria N, Oksal E, Sri Martani N, Kartika Komara N, Pereiz Z. Skrining Fitokimia Dan Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Hanjuang Merah (*Cordyline Fruticose*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Epidermidis*. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*. 7(1):86–94.
 12. Kiyato P, Kamu Vs, Revolta M, Runtuwene J. Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Pelarut Dari Ekstrak Metanol Batang Pandan Wangi (*Pandanus Amaryllifolius* Roxb) Phytochemical Screening And Antioxidant Activity Test Of Solvent Fraction From Methanol Extract Of Pandan Wangi Stem (*Pandanus Amaryllifolius* Roxb). *Jurnal Lppm Bidang Sains Dan Teknologi*. 2022;7(2):1–7.
 13. Wibowo Jp, Hakim Ku, Mirajunnisa. Uji Cemaran Mikroba Susu Kedelai Di Wilayah Banjarmasin Utara Dengan Metode Angka Lempeng Total. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*. 2024 Jul 31;7(2):111–6.
 14. Irawan A, Ulfah M, Mansor K, Studi P, Farmasi S, Muhammadiyah U, Et Al. Desember 2024 (195-205) Ade Irawan P-Issn. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*. 7(3).
 15. Oktaviani P, Fu' It, Winarni G, Hasanah N, Stikes N 1, Dharma W, Et Al. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Cempedak (*Artocarpus Integer*) Dengan Metode Difusi Sumuran Terhadap Bakteri *Escherichia Coli*. Vol. 1. 2024.
 16. Herdiansyah Af, Bariun Lo, Dewi C. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Suruhan (*Peperomia Pellucida* L.Kunth) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Staphylococcus Epidermidis*. *Jurnal Pharmacia Mandala Waluya*. 2023 Apr 30;2(2):106–16.
 17. Wahyuni Dk, Nuha Ga, Atere Tg, Kharisma Vd, Tari Vs, Rahmawati Ct, Et Al. Antimicrobial Potentials Of *Pandanus Amaryllifolius* Roxb.: Phytochemical Profiling, Antioxidant, And Molecular Docking Studies. *Plos One*. 2024 Aug 1;19(8).
 18. Kartika Handayani Latif S, Naid T, Studi Sarjana Farmasi P, Farmasi F. Aktivitas Antibakteri Fraksinasi Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus Amaryllifolius*) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Menggunakan Metode Klt-

- Bioautografi. Makassar
Pharmaceutical Science Journal
[Internet]. 2023;1(3):2023–195.
Available From:
[Https://Journal.Farmasi.Umi.Ac.Id/
Index.Php/Mpsj](https://Journal.Farmasi.Umi.Ac.Id/Index.Php/Mpsj)
19. Setiyanto R, Suhesti I, Utami Ad. 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). *Jurnal Ilmiah Farmasi (Scientific Journal Of Pharmacy)* [Internet]. 2024;20(1):156–68. Available From: [Http://Journal.Uii.Ac.Id/Index.Php/Jif](http://Journal.Uii.Ac.Id/Index.Php/Jif)
20. Eliza Hidayani C, Novalinda Ginting C, Chiuman L. Analysis Of Anti-Bacterial Activity Of Ethanol Extract Fragrant Pandan Leaves (*Pandanus Amaryllifolius* Roxb) Against The Growth Of Disease Cause Pathogen Bacteria Using The Agar Diffusion Method. *Budapest International Research In Exact Sciences* [Internet]. 2021 Jul 2;3(3):213–28. Available From: [Https://Doi.Org/10.33258/Birex.V3i3.2349](https://Doi.Org/10.33258/Birex.V3i3.2349)
21. Dasor Ayc, Sanam Mue, Ndaong Na. Uji Potensi Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kayu Metang (*Lunasia Amara Blanco*) Terhadap *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Kajian Veteriner*. 2021 Dec 6;9(3):157–63.
22. Purnamaningsih A, Romana Sri Supadmi F, Jenderal Achmad Yani Yogyakarta U, Brawijaya J, Road Barat R. Antibacterial Activity Test Of Kemangi Leaf Extract (*Ocimum Sanctum* L.) On Bacteria *Staphylococcus Epidermidis* Atcc 12228. *Media Ilmu Kesehatan*. 2020;9(3):225–30.
23. Malihat Sa S, Rania Putri F, Anjani Ibtisam A, Sholichah Arrohmah R. Phytochemical Analysis Of Secondary Metabolite Compounds Of Pandanwangi Leaf Extract (*Pandanus Amaryllifolius*). *Journal Of Natural Sciences And Mathematics Research J Nat Scien & Math Res* [Internet]. 2023;9(2):135–42. Available From: [Http://Journal.Walisongo.Ac.Id/Index.Php/Jnsmr](http://Journal.Walisongo.Ac.Id/Index.Php/Jnsmr)