

	UJI SITOTOKSIK DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN PANDAN LAUT (<i>Pandanus Odorifer</i>) TERHADAP BAKTERI <i>Staphylococcus aureus</i> Shinta Puspasari*¹, Nurhamidah², Hermansyah Amir³ ^{1,2,3} Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan PMIPA FKIP Universitas Bengkulu *E-mail : shintapusa59@gmail.com					
						

ABSTRACT

This study aims to determine the activity of marine pandanus extract (*Pandanus odorifer*) as cytotoxic and antibacterial to *Staphylococcus aureus* bacteria. This research begins with phytochemical test conducted to find out the secondary metabolite compounds contained in the leaves of *P. odorifer*. Cytotoxic testing was performed using BSLT method. An antibacterial test was performed against the activity in inhibiting the growth of *S. aureus* bacteria using a modified disc diffusion method. The results of phytochemical tests showed that ethanol extract of pandanus leaves contain saponin, flavonoids, tannin and terpenoid compounds. The results of cytotoxic test of sea pandan have a very strong toxic level with LC_{50} value of 4.3557 ppm. The result of measurement of the highest inhibiting zone diameter was obtained at the concentration of 5×10^4 ppm is 6 mm with the power of inhibitory that is medium. Based on the results of this study can be concluded that the leaves of sea pandan are cytotoxic and have activity as antibacterial.

Keywords: Antibacterial, Cytotoxic, PandanLaut Leaf, *Pandanus odorifer*, *Staphylococcus aureus*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak pandan laut (*Pandanus odorifer*) sebagai sitotoksik dan antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini diawali dengan uji fitokimia yang dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalam daun *P. odorifer*. Pengujian sitotoksik dilakukan menggunakan metode BSLT. Uji antibakteri dilakukan terhadap aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* menggunakan metode difusi cakram yang dimodifikasi. Hasil uji fitokimia menunjukkan ekstrak etanol daun pandan laut mengandung senyawa saponin, flavonoid, tanin dan terpenoid. Hasil uji sitotoksik pandan laut memiliki tingkat toksik yang sangat kuat dengan nilai LC_{50} yaitu 4,3557 ppm. Hasil pengukuran diameter zona hambat tertinggi diperoleh pada konsentrasi 5×10^4 ppm yaitu 6 mm dengan kekuatan daya hambat yaitu sedang. Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa daun pandan laut bersifat sitotoksik dan memiliki aktivitas sebagai antibakteri.

Kata Kunci : Antibakteri, Daun Pandan Laut, *Pandanus odorifer*, Sitotoksik, *Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Infeksi merupakan penyebab paling utama timbulnya suatu penyakit yang dapat berujung pada kematian, terutama pada negara-negara berkembang seperti halnya Indonesia. Penyakit infeksi merupakan suatu penyakit yang disebabkan karena adanya mikroba patogen salah satunya adalah bakteri [1]. Salah satu contoh bakteri Gram positif yang bersifat patogen ialah *Staphylococcus aureus* [2], yang merupakan bakteri yang hidup dipermukaan tubuh individu sehat tanpa membahayakan, terutama sekitar hidung, mulut, alat kelamin dan rectum [3]. Ketika kulit kita mengalami luka atau tusukan, bakteri ini akan masuk melalui luka dan dapat menyebabkan terjadinya infeksi kulit [4].

Saat ini pengobatan untuk mengatasi infeksi yang disebabkan oleh bakteri dilakukan secara medis menggunakan antibiotik [5] Tetrasiklin merupakan antibiotik sintesis yang berspektrum luas artinya dapat menghambat bakteri gram positif maupun gram negatif, dan sering digunakan untuk menanggulangi penyakit-penyakit infeksi kulit [6]. Penggunaan

antibiotik yang tidak benar akan membuat bakteri menjadi bersifat resisten dan tetap memperbanyak diri dalam inangnya [7].

Pemanfaatan tanaman alami yang kurang dimanfaatkan diharapkan berpotensi sebagai antibiotik alami [8]. Produk bahan alam misalnya metabolit sekunder, baik senyawa murni maupun dalam bentuk ekstrak, memiliki peluang untuk dikembangkan dalam dunia pengobatan [9], karena memiliki efek terapi yang signifikan terhadap bakteri, jamur, maupun virus yang bersifat patogen terhadap hewan dan manusia [10]. Agar pengobatan secara tradisional dapat dipertanggungjawabkan maka diperlukan penelitian ilmiah seperti penelitian di bidang farmakologi, toksikologi, identifikasi, dan isolasi zat kimia aktif yang terdapat dalam tumbuhan.

Pandanus adalah kelompok tumbuhan yang anggotanya memiliki manfaat yang besar dalam kehidupan masyarakat, antara lain digunakan sebagai bahan makanan, pewangi, zat pewarna, bahan anyaman, atap, tikar, obat-obatan, tanaman hias dan lain-lain [11]. Beberapa penelitian terhadap

genus *Pandanus* telah dilakukan diantaranya yaitu potensi biologis *Pandanus tectorius* dilaporkan sebagai antiradang, antioksidan, antikanker, antitumor, antivirus, antidiabetes dan aktivitas penurun kolesterol [12]. Namun penelitian mengenai kandungan senyawa kimia daun Pandan Laut spesies *Pandanus Odorifer* yang di duga dapat digunakan sebagai sitotoksik dan antibakteri belum dilakukan. .

Pandan Laut (*Pandanus Odorifer*) merupakan tumbuhan liar terutama dengan vegetasi di habitat pesisir seminatural seluruh tropis dan subtropis Pasifik dimana ia dapat menahan kekeringan, dan angin kencang [13]. Pandan laut tumbuh di daerah pesisir terutama daerah pesisir Pantai Bengkulu, namun masyarakat setempat masih banyak yang belum mengetahui manfaat dari tumbuhan ini.

Peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai uji fitokimia ekstrak daun *P.odorifer*, serta melakukan uji sitotoksik terhadap larva *Artemia Salina* Leach dengan menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) dan uji antibakteri ekstrak daun pandan laut terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

METODE PENELITIAN

Sampel yang digunakan yaitu daun *Pandanus. Odorifer* yang diambil di Sungai Suci Kabupaten Bengkulu Tengah, daun dibersihkan dan dipotong kecil dan dikeringkan dengan diangin-anginkan selama beberapa hari tanpa sinar matahari langsung. Setelah kering, sampel dihaluskan dengan blender karena akan memperluas permukaan sampel, sehingga kontak antara sampel dan pelarut semakin besar dan senyawa yang terkandung didalam sampel dapat terlarut sebanyak mungkin [14].

Untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam daun *P. odorifer* dilakukan uji fitokimia. Uji positif alkaloid dengan menambah pereaksi Mayer akan terbentuk endapan [15]. Uji terpenoid dan steroid menggunakan plat KLT diaktivasi pada oven suhu $>100^{\circ}\text{C}$ selama ± 1 jam, kemudian plat dipotong menggunakan cutter sepanjang 5 cm dan diberi tanda atas dan tanda bawah dengan jarak masing-masing 1 cm. Sampel yang akan diuji di totolkan pada plat KLT yang dielusikan dengan fase gerak n-heksana : etil asetat dengan perbandingan 6 :4, dan diberi asam sulfat setelah kering. Kemudian dilakukan pemanasan dengan oven. Uji positif terpenoid dengan terbentuknya warna pink atau merah muda, sedangkan untuk uji steroid akan terbentuk warna ungu [16].

Uji flavanoid dilakukan dengan mereaksikan sampel dengan 5 ml etanol dan dipanaskan 5 menit, diberi beberapa tetes HCl pekat dan ditambahkan 0,2 g bubuk Mg. Hasil positif ditunjukkan dengan timbulnya

warna merah magenta dalam waktu 3 menit [17]. Uji saponin dilakukan dengan melarutkan sampel ke dalam 10 mL aquades yang mendidih, kemudian disaring. Filtrat dikocok selama 15 menit. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil [18]. Uji tanin dilakukan dengan melarutkan sampel dalam 10 mL aquades, ditambahkan beberapa tetes larutan Besi (III) klorida 1%. Warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin [19].

Maserasi dilakukan dengan melarutkan daun pandan laut sebanyak 530 gram kedalam pelarut etanol 7 L, dibiarkan selama 3×24 jam sambil sesekali diaduk. Hasil filtrat yang telah diperoleh dikumpulkan dan dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak kental .

Pembuatan konsentrasi ekstrak yang efektif untuk membunuh larva *Artemia salina* Leach. Ekstrak kental etanol daun pandan laut ditimbang 0,1 g daun, dilarutkan dengan etanol 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi larutan induk 1×10^4 ppm dari daun pandan laut. Kemudian dari larutan induk dilakukan pengenceran untuk ekstrak yang akan diuji dalam konsentrasi 10 , 100 dan 1000 ppm.

Penetasan Telur *Artemia Salina* Leach dilakukan di dalam aquarium yang dibagi menjadi dua bagian yaitu bagian gelap dan terang. Pada bagian terang diberi aerasi dan penerangan dengan cahaya lampu pijar 5 watt untuk menghangatkan suhu dalam penetasan agar merangsang proses penetasan. Pada bagian gelap yang telah dilapisi lakban dimasukkan air laut hingga menutupi lubang kaca kemudian dimasukkan telur udang dan biarkan selama 2×24 jam sampai menetas menjadi benur (nauplius) yang matang dan siap digunakan dalam percobaan. Telur akan menetas dalam 18-48 jam. Setelah berumur 48 jam larva udang siap dijadikan hewan uji [20].

Uji aktivitas sitotoksik dilakukan dengan metode BSLT menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach. Setelah telur menetas disiapkan larutan uji dengan konsentrasi 10 , 100 dan 1000 ppm yang dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

Diambil 5 ml masing-masing konsentrasi dimasukkan kedalam botol vial diuapkan hingga kering dan ditambahkan DMSO 1% sebanyak 2-3 tetes dan air laut 1ml. Penambahan DMSO dilakukan untuk membantu melarutkan sampel di botol vial yang sudah kering. Setelah larut dimasukkan 10 ekor larva udang *Artemia salina* L. dan ditambahkan air laut sampai volume 5 mL. Vial-vial diletakkan dibawah lampu pijar selama 24 jam dan dihitung jumlah larva yang mati, hasilnya dianalisis untuk menentukan nilai LC_{50} . Persen larva udang yang mati dihitung menurut persamaan:

$$\% \text{ kematian} = \frac{\text{Jumlah larva mati}}{\text{Jumlah larva total awal}} \times 100\%$$

Harga LC_{50} ditentukan dengan kurva persen larva yang mati terhadap konsentrasi ekstrak. Harga LC_{50} didefinisikan sebagai konsentrasi ekstrak yang dapat mengakibatkan 50% larva udang mati [21].

Setelah diperoleh presentase kematian, maka dapat di cari nilai probit dari tiap kelompok hewan uji melalui tabel probit. Nilai LC_{50} dapat dihitung dengan persamaan garis lurus tersebut dengan memasukkan nilai 5 (probit 50% kematian hewan uji) sebagai y sehingga dihasilkan x sebagai nilai log konsentrasi. Antilog dari nilai x tersebut merupakan nilai LC_{50} [22].

Uji antibakteri dilakukan sterilisasi alat dalam oven pada suhu $170^{\circ}C$ selama ± 2 jam, jarum ose dan pinset dibakar dengan pembakaran diatas api langsung dan media disterilkan dalam autoklaf pada suhu $121^{\circ}C$ selama 15 menit. Media NA dibuat dari 1,68 gram NA dilarutkan 60 mL aquades kemudian diaduk hingga homogen (warna larutan jernih) dan didiamkan hingga mengental NB dibuat dengan cara melarutkan 5 gram bubuk media NB dalam 250 mL. Larutan media dipanaskan sampai bubuk NB larut dan homogen, dan dimasukkan dalam erlenmeyer, disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada tekanan 1 atm, suhu $121^{\circ}C$ [23].

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus*. Mikroba uji dari biakan diinokulasi sebanyak satu ke dalam medium 100 mL NB dan inkubasi pada suhu $37^{\circ}C$ selama 24 jam. Peremajaan dilakukan dalam kondisi steril didalam Laminar Air Flow (LAF)[24].

Larutan uji dibuat dengan melarutkan ekstrak kasar etanol daun pandan laut sebanyak 0,5 g dengan aquades 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi larutan induk 5×10^4 ppm. Kemudian dari larutan induk dilakukan pengenceran untuk membuat larutan yang akan diuji dengan berbagai konsentrasi yaitu 5, 50, 500 dan 5000 ppm. Tetrasiklin sebagai kontrol positif dibuat dengan cara ditimbang sebanyak 0,1 gram Tetrasiklin tablet, kemudian dilarutkan ke dalam aquades sebanyak 10 ml. Kontrol negatif yang digunakan yaitu aquades.

Penentuan Aktivitas Antibakteri Daun *P.odorifer* dengan metode difusi cakram yang dimodifikasi dengan menggunakan kapas dari *cotton bud*. Kapas ditanam pada media padat sebanyak 3 titik dengan diameter 6 dan 7 mm, setiap titik merupakan pengulangan. Selanjutnya ekstrak etanol sampel dengan berbagai konsentrasi (yaitu 5, 50, 500 dan 5000, 50.000 ppm) dan kontrol positif, di teteskan pada kapas yang telah ditanam pada sampel uji sebanyak 3 tetes dengan

pipet mikro pada tiap-tiap titik. Kemudian cawan petri diinkubasi dalam inkubator pada suhu $37^{\circ}C$ selama 2x24 jam. Setelah itu, dilakukan pengamatan dan pengukuran zona hambat, yaitu daerah jernih di sekitar kapas [25].

Pengamatan dilakukan setelah 2x24 jam masa inkubasi. Daerah bening merupakan petunjuk kepekaan bakteri terhadap antibiotik atau bahan antibakteri lainnya yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan lebar diameter zona hambat [26]. Diameter zona hambat diukur dalam satuan milimeter (mm) menggunakan mistar berskala dengan cara diameter ruhan dikurangi diameter kapas. Diameter zona hambat yang diperoleh dikategorikan kekuatan daya anti bakterinya berdasarkan penggolongan [27], dapat dilihat pada tabel 1 :

Tabel 1. Kategori diameter zona hambat

Zona hambat lemah	: < 5 mm
Zona hambat sedang	: 5-10 mm
Zona hambat kuat	: 10-20 mm
Zona hambat sangat kuat	: > 20 mm

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel daun *P.odorifer* diambil di Sungai Suci Kabupaten Bengkulu Tengah ($3^{\circ}43'10''$ LS dan $102^{\circ}14'08''$ BT) sebanyak 3 kg, Setelah dikeringkan didapat sampel kering sebanyak 1,7 kg sehingga kadar air yang terdapat di dalam daun pandan laut adalah sebesar 43,33%.

Hasil maserasi dengan etanol 96 %, dari 530 g serbuk daun, diperoleh ekstrak sebesar 7 L dan kemudian dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu $40^{\circ}C$ dan diperoleh ekstrak kental sebanyak 25 g, sehingga diperoleh rendemen sebesar 4,71 %.

Hasil uji fitokimia yang telah dilakukan pada ekstrak daun *P.odorifer* menunjukkan hasil positif pada uji flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid yang bisa dilihat pada tabel 2. dibawah ini.

Tabel 2. Hasil Skринning Fitokimia Daun Pandan Laut (*Pandanus odorifer*).

Kandungan Kimia	Metode Pengujian	Uji Positif	Hasil
Alkaloid	Mayer	Endapan Putih	-
Tanin	$FeCl_3$	Hijau	++
Saponin	Uji Forth	Berbusa	+++
Terpenoid	Plat KLT	Merah Jambu	√

Flavonoid	Bate Smith & Mertcalf	Merah Magenta	+
Steroid	Plat KLT	Ungu	-

Keterangan : (+) = sangat sedikit, (++)= sedikit, (+++)= sedang, (++++)= banyak

Senyawa alkaloid tidak terdeteksi (-) pada proses pengujian fitokimia, karena pada uji pereaksi Mayer tidak menunjukkan adanya kekeruhan atau endapan putih. Alkaloid mengandung atom nitrogen dimana atom ini memiliki pasangan elektron bebas yang dapat membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan ion logam, reaksi yang terjadi saat menggunakan pereaksi Mayer sehingga terbentuk endapan putih yaitu ion logam K⁺ akan membentuk ikatan kovalen dengan atom nitrogen sehingga dapat membentuk senyawa yang kompleks [28].

Pada uji tanin diperoleh hasil positif namun sedikit, adanya tanin akan mengendapkan protein pada gelatin. Tanin bereaksi dengan gelatin membentuk kopolimer mantap yang tidak larut dalam air. Hasil uji tanin dari sampel *P.odorifer* dengan pereaksi FeCl₃ 1 % menunjukkan warna larutan menjadi coklat kehijauan. Hal ini terjadi karena adanya reaksi reduksi. Tanin merupakan golongan senyawa polifenol, polifenol mampu mereduksi besi (III) menjadi besi (II). Hal ini juga merupakan cara klasik untuk mendeteksi senyawa fenol yang akan menimbulkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam [29].

Uji fitokimia selanjutnya yaitu saponin yang menunjukkan bahwa *P.odorifer* positif mengandung saponin dengan kategori sedang. Saponin bersifat polar sehingga dapat larut dalam pelarut seperti air dan saponin juga dapat bersifat non polar karena memiliki gugus hidrofob yaitu aglikon (sapogenin)). Timbulnya busa pada uji Forth menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya [30].

Untuk uji fitokimia senyawa terpenoid dan steroid, menggunakan analisis KLT pada ekstrak. Pada pengujian ini warna yang terlihat yaitu hanya warna pink atau merah muda, ini menunjukkan adanya senyawa terpenoid. Pada uji flavonoid terjadi perubahan warna menjadi coklat orange yang menunjukkan sangat sedikitnya kandungan flavonoid pada pandan laut ini. Flavonoid bereaksi dengan serbuk Mg dan HCl membentuk warna merah atau jingga akibat reduksi flavonoid[31].

Pengujian aktivitas sitotoksik dapat dilakukan dengan metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach. Ekstrak dari sampel akan dilihat toksisitasnya dalam mematikan larva udang yang telah diberi perlakuan

dengan konsentrasi 0 ppm (sebagai kontrol), 10 , 100 dan 1000 ppm dengan 3 kali pengulangan. Setiap pengulangan pada masing-masing konsentrasi di hitung persentase kematian larva.

Berdasarkan nilai persentase kematian pada Tabel 3. terlihat bahwa semakin besar konsentrasi sampel, maka kematian pada larva udang *Artemia* juga semakin besar. Dengan kata lain, meningkatnya kematian larva udang *Artemia* disebabkan oleh peningkatan konsentrasi dalam sampel [32].

Hasil presentase kematian larva pada konsentrasi 1000 ppm merupakan konsentrasi kematian larva tertinggi. Sedangkan pada konsentrasi 10 ppm merupakan konsentrasi dimana kematian larva terendah. Pada larutan kontrol negatif, tidak terdapat kematian larva karena larutan kontrol negatif hanya mengandung air laut dan DMSO dengan konsentrasi 1%. Larutan kontrol negatif berfungsi untuk menghilangkan pengaruh lain diluar ekstrak uji yang dapat menyebabkan kematian larva udang sehingga kematian larva murni hanya dipengaruhi ekstrak.

Tabel 3. Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Daun *P.odorifer* Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

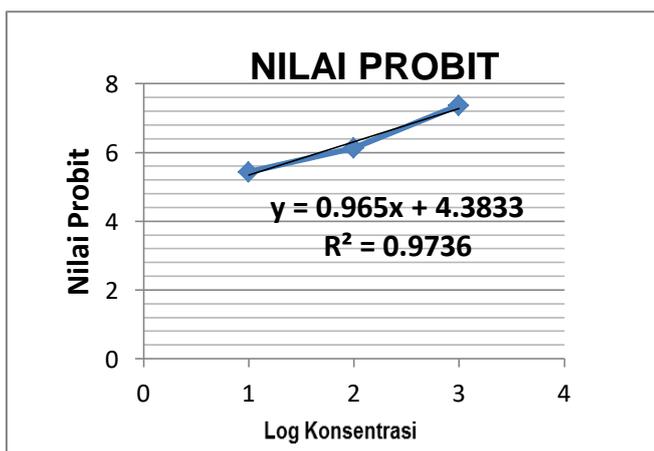
Tabung vial	Angka Kematian Larva Udang <i>Artemia salina</i> Leach dari 10 larva			Kontrol
	Konsentrasi Ekstrak Uji Daun <i>Pandanur odorifer</i> (ppm)			
	10	100	1000	
P1	7	9	10	0
P2	7	8	10	0
P3	6	9	10	0
Jumlah total mati	20	26	30	0
Rata-rata kematian	6,667	8,667	10	0
% Kematian ± SD	66,67 ± 0,5773	86,67 ± 0,5773	100 ± 0	0
Probit	5,44	6,13	7,37	-

Beberapa kandungan kimia dalam ekstrak daun *P.odorifer* yang kemungkinan bersifat toksik yaitu saponin, tanin, terpenoid dan flavonoid yang pada kadar tertentu memiliki potensi toksisitas serta dapat menyebabkan kematian larva. Cara kerja senyawa-senyawa tersebut adalah dengan bertindak sebagai *stomach poisoning* atau racun perut [33]. Oleh karena itu bila senyawa-senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva, alat pencernaannya terganggu. Selain itu

senyawa ini juga menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya sehingga larva mati kelaparan [34].

Senyawa saponin merupakan senyawa yang mengandung glikosida dalam tanaman yang sifatnya menyerupai sabun dan dapat larut dalam air [35]. Saponin dapat menurunkan aktivitas enzim pencernaan dan penyerapan makanan [36]. Senyawa Flavonoid merupakan senyawa pertahanan tumbuhan yang dapat bersifat menghambat makan serangga dan juga bersifat toksik [37]. Senyawa terpenoid dikenal pula sebagai salah satu golongan senyawa kimia dalam tanaman yang memiliki aktivitas antikanker dan antioksidan [38].

Dari hasil analisis probit diperoleh persamaan linier $y = 0,965x + 4,3833$ sehingga didapat nilai LC_{50} yaitu 4,3557 ppm (Gambar 1).. Menurut Meyer melaporkan bahwa nilai toksisitas dalam senyawa dari tumbuhan jika $LC_{50} \leq 30$ ppm maka bersifat sangat toksik, ketika konsentrasi ekstrak $31 \text{ ppm} \leq LC_{50} \leq 1000$ ppm bersifat toksik jika $LC_{50} > 1000$ ppm maka bersifat tidak toksik [39]. Berdasarkan dari pernyataan tersebut maka ekstrak daun pandan laut bersifat toksik, yang ditunjukkan dari nilai LC_{50} yang diperoleh yaitu pada konsentrasi 4,3557 ppm.



Gambar 1. Grafik Nilai Probit *Artemia salina*. Leach terhadap Log konsentrasi ekstrak etanol *Pandanus odorifer*

Selanjutnya dicari standar deviasi dari rata-rata setiap pengulangan dari masing-masing konsentrasi. Semakin tinggi nilai standar deviasi maka semakin besar penyimpangan data dari rata-rata hitungannya, sehingga dikatakan data memiliki variabelitas tinggi dan sebaliknya [40]. Dengan menggunakan rumus standar deviasi yang telah ditentukan diperoleh nilai standar deviasi untuk rata-rata pengulangan pada konsentrasi 10 dan 100 ppm yaitu sebesar 0,57735 dan

pada konsentrasi 1000 ppm yaitu 0 yang menunjukkan variabelitas rendah atau rendahnya penyimpangan data dari rata-rata hitungannya.

Uji antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode sumuran terhadap dua bakteri yaitu gram positif dan gram negatif, namun dari hasil penelitian tidak menunjukkan adanya zona bening yang terbentuk. Hal ini disebabkan banyak faktor yaitu pelarut DMSO 1% yang digunakan telah terkontaminasi dengan mikroorganisme lain, alat bor yang digunakan kurang steril dan LAF yang digunakan sudah tidak berfungsi dengan baik. Sehingga uji aktivitas antibakteri dilakukan pengujian ulang terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi cakram yang dimodifikasi. Pada penelitian ini tidak menggunakan kertas cakram melainkan dengan penanaman kapas dari *cotton bud* sebagai media untuk meletakkan sampel. Digunakan kapas dari *cotton bud* mengandung selulosa dan daya serapnya terhadap ekstrak hampir sama dengan kertas cakram.

Senyawa yang terdapat dalam sampel yang memiliki sifat sebagai antibakteri akan berdifusi ke dalam media yang telah ditumbuhi bakteri dan disekitar daerah kapas tidak akan ditumbuhi bakteri ditunjukkan dengan adanya zona bening. Sebelum dilakukan uji antibakteri alat-alat serta bahan yang akan digunakan disterilkan terlebih dahulu pada autoklaf untuk menghindari tumbuhnya atau terkontaminasi dengan mikroorganisme yang tidak diinginkan.

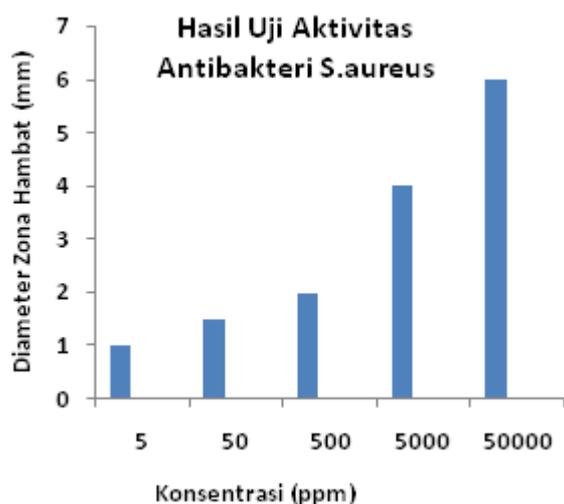
Sampel yang akan diuji diencerkan terlebih dahulu agar diketahui lebih jelas pada konsentrasi berapa ekstrak mampu aktif sebagai antibakteri. Konsentrasi yang dibuat yaitu 5, 50, 500, 5000 dan 50.000 ppm. Untuk kontrol negatif yang digunakan yaitu aquades dan untuk kontrol positif yang digunakan yaitu tetrasiklin dengan konsentrasi 50.000 ppm. Tetrasiklin digunakan sebagai kontrol positif karena merupakan antibiotik berspektrum luas sehingga dapat digunakan untuk bakteri *S. Aureus* yang merupakan jenis bakteri Gram positif. Hal ini antara lain karena struktur dinding bakteri Gram positif diketahui relatif sederhana sehingga akan memudahkan senyawa antibakteri dalam menemukan sasaran untuk bekerja [41].

Pengamatan dan pengukuran uji aktivitas antibakteri dilakukan setelah 2x24 jam, dengan tujuan untuk melihat kemampuan optimum senyawa dalam sampel berdifusi pada media tumbuh yang telah ditumbuhi bakteri. Diukur zona hambat yang terbentuk dengan menggunakan penggaris. Pengukuran dilakukan dengan cara mengurangi diameter keseluruhan (kapas + zona bening) dengan diameter kapas.

Pada konsentrasi terendah 5 ppm, zona bening yang terbentuk tidak terlalu terlihat karena zona bening yang diperoleh sangat kecil yaitu 1 mm. Pada konsentrasi 50.000 ppm zona bening yang terbentuk terlihat samar-samar dan tidak terlalu bening yaitu sebesar 6 mm. Pada kontrol positif dari tetrasiklin, zona bening yang terbentuk benar-benar terlihat dengan jelas dan sangat besar yaitu 30 mm dan kontrol negatif aquades yaitu 0 mm. Penggunaan kapas sebagai media untuk meletakkan sampel sebenarnya kurang efektif, karena pada dasarnya kertas cakram tidak boleh di ganti dengan yang lain, karena kertas cakram memiliki kerapatannya sendiri dan telah teruji dapat digunakan sebagai media untuk uji antibakteri.

Pada Gambar 2. dapat dilihat bahwa hubungan variasi konsentrasi ekstrak pandan laut berbanding lurus dengan diameter zona hambat, dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak maka kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* juga semakin besar.

Dengan hasil yang di peroleh dapat dilihat bahwa daun *P.odorifer* memiliki pengaruh antibakteri yang sedang terhadap bakteri *S. Aureus*. Hal ini didukung oleh senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada daun pandan laut yaitu flavonoid, terpenoid, tanin dan saponin[42].



Gambar 2. Hasil Diameter Zona Hambat Antibakteri VS Konsentrasi (ppm) selama 2x24 jam

Senyawa flavonoid disintesis oleh tanaman sebagai respon terhadap infeksi mikroba sehingga efektif sebagai zat antibakteri yang ampuh melawan berbagai mikroorganisme [43]. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh kemampuan flavonoid untuk membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan protein terlarut dan membentuk kompleks dengan

dinding sel bakteri. Flavonoid lipofilik juga dapat mengganggu membran mikroba. Flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri [44].

Senyawa terpenoid sebagai zat antibakteri diduga melibatkan kerusakan membran oleh senyawa lipofilik. Terpenoid dapat bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat dan merusak porin, mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri sehingga sel bakteri kekurangan nutrisi, pertumbuhan bakteri terhambat atau mati [45].

Senyawa tanin mempunyai daya antibakteri dengan cara memprepitasi protein. Tanin mampu menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak terbentuk [46]. Senyawa saponin sebagai antibakteri adalah menurunkan tegangan permukaan sehingga naiknya permeabilitas atau kebocoran sel sehingga mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan kemudian mengikat membran sitoplasma sehingga mengganggu dan mengurangi kestabilan membran sel. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel [47].

SIMPULAN

Hasil uji fitokimia ekstrak etanol daun Pandan Laut (*Pandanus odorifer*) positif mengandung golongan senyawa kimia berupa adanya terpenoid, flavonoid, tanin, dan saponin.

Hasil pengujian toksisitas menggunakan metode BSLT pada ekstrak daun *P. odorifer* terhadap larva udang *Artemia salina* Leach diperoleh nilai LC₅₀ sebesar 4,3557 ppm yang memiliki tingkat toksik yang sangat kuat.

Aktivitas antibakteri ekstrak daun *P.odorifer* tertinggi diperoleh zona hambat yaitu 6 mm pada konsentrasi 50.000 ppm yang memiliki daya kekuatan dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu sedang.

SARAN

Dari hasil penelitian perlu dilakukan penelitian lebih lanjut yaitu isolasi dan identifikasi senyawa murni ekstrak daun *Pandanus odorifer* untuk mengetahui senyawa aktif yang berpotensi sebagai obat.

DAFTAR PUSTAKA

- | | |
|-----|---|
| [1] | Ayen, R.Y., Rahmawati, Mukarlina, Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol |
|-----|---|

	Daun Sembung Rambut (<i>Mikania micrantha</i> H.B.K) Terhadap Pertumbuhan Bakteri IHB B 379 dan <i>Shigella flexneri</i> , <i>Protobiont</i> , 2017: 6(3): 123 –129
[2]	Agustina, W., Sumpono, Rina Elvia, Aktivitas Asap Cair Cangkang Buah <i>Hevea Brazilensis</i> sebagai Anti Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Alotrop</i> , 2017: 1(1): 6-9.
[3]	Misna., Khusnul Diana, Aktivitas Anti Bakteri Ekstrak Kulit Bawang Merah (<i>Allium cepa</i> L.) Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Galenika Journal of Pharmacy</i> , 2016: 2 (2):138-144
[4]	Sachwiver,B., Leny Sang Surya,Dewi Elianora, Identifikasi Bakteri Pada 3 Permukaan Dental Unit (Bowl Rinse, Dental Chair, Instrument Table) Di RSGM Universitas Baiturrahmah Tahun 2018, <i>Jurnal B-Dent</i> , 2018: 5(1): 65-71
[5]	Suardi, H.N., Antibiotik Dalam Dunia Kedokteran Gigi, <i>Cakradonya Dent J</i> , 2014: 6(2): 678-744
[6]	Fatimah, S.,Fitri Nadifah, Islamiati Burhanudin, Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Kubis (<i>Brassica oleracea var. capitata f. alba</i>) Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> Secara In Vitro, <i>Biogenesis</i> , 2016: 4 (2): 102-106
[7]	Pratiwi, R.H,Mekanisme Pertahanan Bakteri Patogen Terhadap Antibiotik, <i>Jurnal Pro-Life</i> , 2017: 4 (3): 418-429.
[8]	Tria, G., Nurhamidah , Hermansyah Amir, Potensi Ekstrak Metabolit Sekunder <i>Eugenia uniflora</i> L. Sebagai Bahan Pengawet Tahu, <i>Alotrop</i> , 2018: 2(1): 39-44.
[9]	Putri, H.D., Sumpono, Nurhamidah., Uji Aktivitas Asap Cair Cangkang Buah Karet (<i>Hevea brassiliensis</i>) Dan Aplikasinya Dalam Penghambatan Ketengikan Daging Sapi , <i>Alotrop</i> , 2018 : 2(2): 97-105
[10]	Pribadi, A., Nurhamidah., Elvinawati., Pemanfaatan Ekstrak Air Buah <i>Flacourtia inermis</i> Roxb. (Lobi-Lobi) Sebagai Pengawet Ikan Laut, <i>Alotrop</i> , 2018: 2(1): 1-7.
[11]	Marpaung,D.R.A.K.,Nursahara Pasaribu,T.Aliel Aththorick,

	Taxonomic Study Of Pandanus (<i>Pandanaceae</i>) In Swamp Area, Aceh Singkil, <i>Jurnal Natural</i> , 2013: 13(2) : 55-63.
[12]	Yosie Andriani, Nadiyah Madihah Ramli, Desy Fitriya Syamsumir. Murni Islamiah Kassim, Jasmin Jaafar, Nur Azniza, Aziz, Leni Marlina, Noor Suryani Musa, Habsah Mohamad. Phytochemical analysis, antioxidant, antibacterial and cytotoxicity properties of keys and cores part of <i>Pandanus tectorius</i> fruits. <i>Arabian Journal of Chemistry</i> . 2019 :12(8):3555-3564
[13]	Rochmadi,I., Siti Rohmah, Pemanfaatan Buah Pandan Laut Sebagai Pangan Olahan Pada Masyarakat Pesisir, <i>Jurnal Riset Ekonomi Pembangunan</i> , 2019: 4 (2): 161-173.
[14]	Mohamad, H., Y. Andriani., K. Bakar., C.C. Siang., D.F. Syamsumir., A. Alias <i>et al</i> ,Effect of drying method on anti – microbial, anti-oxidant activities and isolation of bioactive compounds from <i>Peperomia pellucida</i> (L) Hbk. <i>Journal of Chemical and Pharmaceutical Research</i> , 2015: 7(8): 578-584.
[15]	Hammado,N., Ilmiati Illing, Identifikasi Senyawa Bahan Aktif Alkaloid Pada Tanaman Lahuna (<i>Eupatorium odoratum</i>), <i>Jurnal Dinamika</i> , 2013: 4 (2) : 1-18.
[16]	Fajriaty, I., Hariyanto I.H., Irfan Rian Saputra, Monica Silitonga, Skrining Fitokimia Dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Dari Ekstrak Etanol Buah Lerak (<i>Sapindus rarak</i>), <i>Jurnal Pendidikan Informatika dan Sains</i> , 2017 : 6(2): 243-256.
[17]	Malik, A., Ferawati Edward, Risda Waris, Skrining Fitokimia Dan Penetapan Kandungan Flavonoid Total Ekstrak Metanolik Herba Boroco (<i>Celosia argentea</i> L.), <i>Jurnal Fitofarmaka Indonesia</i> , 2014: 1(1):1-5.
[18]	Ningsih, D.R., Zufahair, Dwi Kartika, Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Anti Bakteri, <i>Molekul</i> : 2016: 11 (1): 101-111

[19]	Lisan., F.R., Penentuan Jenis Tanin Secara Kualitatif Dan Penetapan Kadar Tanin Dari Serabut Kelapa (<i>Cocos nucifera</i> L.) Secara Permanganometri , <i>Calypra: Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya</i> , 2015 : 4(1): 1-16		Daun Jeruk Kalamansi (<i>Citrofortunella microcarpa</i>) Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> Dan <i>Escherichia coli</i> , <i>Alotrop</i> , 2019: 3(2): 158-169
[20]	Lestari, D, Rudi Kartika, Eva Marlina, Uji Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Umbi Bawang Tiwai (<i>Eleutherine bulbosa</i> (Mill.) Urb) Dan Uji Toksisitas Akut Fraksi Aktif, <i>Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia</i> , 2019,1(1): 1-10	[28]	Safitri,O.M., Nurhamidah, Hermansyah Amir, Potensi Sitotoksik Dan Antibakteri Ekstrak Daun <i>Laportea interrupta</i> (L.) Chew (Jelatang Ayam) Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Alotrop</i> , 2018: 2(2): 175-183.
[21]	Muaja, A.D., Harry S. J. Koleangan, Max R. J. Runtuwene, Uji Toksisitas dengan Metode BSLT dan Analisis Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Soyogik (<i>Saurauia bracteosa</i> DC) dengan Metode Soxhletasi, <i>Jurnal MIPA Unsrat Online</i> , 2013: 2(2): 115-118	[29]	Ergina, Siti Nuryanti , Indarini Dwi Pursitasari, Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (<i>Agave angustifolia</i>) Yang Diekstraksi Dengan Pelarut Air Dan Etanol, <i>J.Akad . Kim</i> , 2014: 3(3): 165-172.
[22]	Hendri, M, Gusti Diansyah, dan Jetun Tampubolon, Konsentrasi Letal (LC50-48 jam) Logam Tembaga (Cu) dan LogamKadmium (Cd) Terhadap Tingkat Mortalitas Juwana Kuda Laut (<i>Hippocampus</i> spp), <i>Jurnal Penelitian Sains</i> , 2013 , 13 (1): 26-30	[30]	Prayoga, D.G.E.,Komang Ayu Nocianitri, Ni Nyoman Puspawati, Identifikasi Senyawa Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Daun Pepe (<i>Gymnema reticulatum</i> Br.) Pada Berbagai Jenis Pelarut, <i>Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan</i> ,2019:8(2): 111-121
[23]	Syah,I.S.K., Penentuan Tingkatan Jaminan Sterilitas Pada Autoklaf Dengan Indikator Biologi Spore Strip, <i>Farmaka</i> , 2016: 14 (1) : 59-69	[31]	Agustina,W.,Nurhamidah,Dewi Handayani, Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Beberapa Fraksi Kulit Batang Jarak (<i>Ricinus communis</i> L.). <i>Alotrop</i> , 2017: 1(2) : 117-122.
[24]	Harjanto, S., Raharjo, Peran Laminar Air Flow Cabinet Dalam Uji Mikroorganisme Untuk Menunjang Keselamatan Kerja Mahasiswa Di Laboratorium Mikrobiologi, <i>METANA</i> , 2017 : 13(2):55-57	[32]	Karundeng, G.W., Herny E. Simbala, Imam Jayanto, Identifikasi Fitokimia, Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode 1.1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), Dan Toksisitas Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Dari Ekstrak Etanol Tangkai Buah Pinang Yaki (<i>Areca vestiaria Giseke</i>), <i>Pharmacon</i> , 2019: 8 (3): 619-628
[25]	Katrin, D., Nora Idiawati, Berlian Sitorus, Uji Aktivitas Anti Bakteri Dari Ekstrak Daun Malek (<i>Litsea gracie</i> Vidal) Terhadap Bakteri <i>Stapylococcus aureus</i> Dan <i>Escherichia coli</i> , <i>JKK</i> , 2015 : 4(1) : 7-12	[33]	Rahmawati, Sitti Amirah,Andi Sulfika, Uji Toksisitas Fraksi n-Heksan Daun Beruwat Laut (<i>Scaevola taccada</i> (Gaertn.) Roxb.) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test, <i>As-Syifaa</i> , 2012: 4 (2) : 196-202
[26]	Ismail,Y.S., Cut Yulvizar, Putriani, Isolasi, karakterisasi dan uji aktivitas antimikroba bakteri asam laktat dari fermentasi biji kakao (<i>Theobroma cacao</i> L.), <i>Bioleuser</i> , 2017: 1(2): 45-53	[34]	Vitalia,N., Ahmad Najib, Aktsar roskiana Ahmad, Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pletakan (<i>Ruelliatuberosa</i> L.) Dengan Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) , <i>Jurnal</i>
[27]	Oktasila, D., Nurhamidah, Dewi Handayani, Uji Aktivitas Antibakteri		

	<i>Fitofarmaka Indonesia</i> , 2016:3(1): 124-129
[35]	Illing, I, Wulan Safitri , Erfiana, Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dengan, <i>Jurnal Dinamika</i> , 2017 :8(1): 66-84
[36]	Chintihia, T., Efek Larvasida Ekstrak Daun Cengkeh (<i>Syzygium aromaticum</i> L.) terhadap <i>Aedes aegypti</i> , <i>J Agromed Unila</i> , 2015: 2 (4): 510-515
[37]	Koneri, R, Hanny Hesky Pontororing, Uji Ekstrak Biji Mahoni (<i>Swietenia macrophylla</i>) Terhadap Larva <i>Aedes aegypti</i> Vektor Penyakit Demam Berdarah, <i>Jurnal MKMI</i> , 2016: 12 (4): 216-223
[38]	Andriani, Y, Habsah Mohamad, M.N.I, Kassim.,N.D.Rosnan.,D.F. Syamsumir., J.Saidin., <i>et al</i> , Evaluation on <i>Hydnophytum formicarum</i> Tuber from Setiu Wetland (Malaysia) and Muara Rupit (Indonesia) for Anti bacterial and Antioxidant activities and anti-cancer Potency against MCF-7 and HeLa Cell. <i>Journal of Applied Pharmaceutical Science</i> , 2017: 7(9):30-37.
[39]	Ningdyah,A.W, Andi Hairil Alimuddin, Afghani Jayuska, Uji Toksisitas Dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) Terhadap Hasil Fraksinasi Ekstrak Kulit Buah Tampoi (<i>Baccaurea macrocarpa</i>) , <i>JKK</i> , 2015: 4(1): 75-83
[40]	Afifah, A.N.,Akhmad Rifa'i, Pengaruh Senam Diabetes Melitus (DM) Terhadap Perubahan Tekanan Darah Pada Pasien DM Tipe 2 Di Persadia Unit RSUD Dr. Moewardi Di Surakarta Tahun 2015, <i>Jurnal Keperawatan Global</i> , 2017, 2(2): 70-78
[41]	Muharni, Fitriya, Sofa Farida, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Tanaman Obat Suku Musi di Kabupaten Musi Banyuasin, Sumatera Selatan, <i>Jurnal Kefarmasian Indonesia</i> 2017: 7 (2): 127-135
[42]	Fauzan , M.R.,Ade Zuhrotun, Review Artikel: Beberapa Tanaman Yang Memiliki Aktivitas Analgesik Secara In Vivo, <i>Farmaka</i> , 2019: 17(1): 123-133
[43]	Parubak, A.S,Senyawa Flavonoid Yang Bersifat Antibakteri Dari Akway

	(<i>Drimys beccariana</i> .Gibbs) , <i>Chem. Prog.</i> 2013: 6(1): 34-37.
[44]	Sabir,A., Aktivitas antibakteri flavonoid propolis <i>Trigona</i> sp terhadap bakteri <i>Streptococcus mutans</i> (in vitro), <i>Maj. Ked. Gigi. (Dent. J.)</i> , 2005: 38(3): 135–141
[45]	Widowati,R.,Sri Handayani, Iqba Lasdi, Aktivitas Antibakteri Minyak Nilam (<i>Pogostemon cablin</i>) Terhadap Beberapa Spesies Bakteri Uji, <i>Jurnal Pro-Life</i> , 2019: 6 (3): 237-249
[46]	Anggraeni, D.H,Evi Liviawaty, Rusky Intan Pratama, Iis Rostini, Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Daun Jambu Biji Terhadap Masa Simpan Filet Patin Berdasarkan Jumlah Mikroba, <i>Jurnal Perikanan dan Kelautan</i> 2017: 8(2): 145-151
[47]	Ngajowa, M.,Jemmy Abidjulu, Vanda S. Kamu, Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (<i>Pometia pinnata</i>) terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> secara In vitro, <i>Jurnal MIPA Unsrat Online</i> , 2013: 2 (2) 128-132