

## Penentuan Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Ekstrak Etanol Daun Pandan (*Pandanus Amaryllifolius Roxb*) Terhadap Bakteri *Streptococcus Mutans*

Niamul Faza Assauqi,<sup>1</sup> Mutista Hafshah,<sup>1\*</sup> Rais Nur Latifah<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang, Indonesia.

Corresponding author: [mutista.hafshah@walisongo.ac.id](mailto:mutista.hafshah@walisongo.ac.id)

### Article history

Received: 28 July 2022

Received in revised form: 17 July 2023

Accepted: 18 July 2023

DOI:

10.17977/um0260v7i12023p001

### Kata-kata kunci:

KBM

KHM

*Pandanus amaryllifolius roxb*

Spektrofotometer

*Streptococcus mutans*

6,25% karena sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Sedangkan nilai KBM berada pada konsentrasi 25%, dimana pada konsentrasi tersebut sudah tidak terdapat koloni bakteri yang tumbuh.

### Abstrak

*Streptococcus mutans* merupakan salah satu mikroorganisme di dalam rongga mulut yang dapat menyebabkan terjadinya gigi berlubang. Pencegahan yang dapat dilakukan untuk menghindari penyakit ini dengan obat kumur yang mengandung antiseptik. Cara alternatif dapat dikembangkan dengan memanfaatkan bahan alami sebagai bahan dasar pembuatan obat kumur. Daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius roxb*) mengandung beberapa senyawa aktif diantaranya flavonoid, tanin, dan alkaloid yang berpotensi memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol daun pandan terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Ekstrak daun pandan wangi diperoleh dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% dengan variasi konsentrasi ekstrak 0,36%, 0,78%, 1,56%, 3,12%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100%. Etanol digunakan sebagai pelarut karena bersifat inert, netral, universal, dan dapat mengekstrak komponen-komponen metabolit sekunder dengan baik. Penentuan nilai KHM dilakukan dengan metode dilusi cair menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis. Sedangkan penentuan nilai KBM dilakukan dengan metode Spread plate. Hasil penelitian menunjukkan nilai KHM berada pada konsentrasi

### Abstract

*Streptococcus mutans* is one of the microorganisms in the oral cavity that can cause cavities. Prevention that can be done to avoid this disease with mouthwash that contains antiseptic. Alternative methods can be developed by utilizing natural ingredients as the basic ingredients for making mouthwash. Fragrant pandan leaves (*Pandanus amaryllifolius roxb*) contain several active compounds including flavonoids, tannins, and alkaloids that have the potential to have antibacterial activity. This study aims to determine the value of the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of pandan leaf ethanol extract against *Streptococcus mutans* bacteria. Fragrant pandan leaf extract was obtained by maceration method using 70% ethanol solvent with various concentrations of 0.36%, 0.78%, 1.56%, 3.12%, 6.25%, 12.5%, 25%, 50 %, and 100%. The determination of the MIC value was carried out by the liquid dilution method using a UV-Vis Spectrophotometer. While the determination of the value of MBC is done by the Spread plate method. The results showed that the MIC value was at a concentration of 6.25% because it was able to inhibit the growth of bacteria. While the MBC value is at a concentration of 25%, where at that concentration there are no bacterial colonies growing.

## PENDAHULUAN

Angka kesehatan gigi dan mulut dari riset kesehatan dasar (Riskesdas) 2018 mencatat proporsi masalah gigi dan mulut sebesar 57,6% (Riskesdas, 2019). Angka ini terus meningkat dibanding Riskesdas tahun-tahun sebelumnya yaitu tahun 2007 sebanyak 43,4% dan meningkat sebesar 53,2% pada tahun 2013. Dari besarnya angka masalah gigi dan mulut tersebut hanya 10,2% yang mendapatkan pelayanan dari tenaga medis gigi. Salah satu masalah gigi dan mulut adalah karies gigi. Karies gigi ialah penyakit yang timbul ketika struktur dan jaringan keras gigi mengalami kerusakan secara bertahap yang diawali dengan terkikisnya enamel, dentin, serta sementum yang terjadi karena fermentasi karbohidrat oleh mikroorganisme (Roberts et al., 2022).

*Streptococcus mutans* merupakan satu dari sekian banyak mikroorganisme yang menjadi agen utama penyebab karies gigi (Lemos et al., 2019). Apabila populasi mikroorganisme di dalam rongga mulut meningkat, maka mikroorganisme dapat menjadi pathogen sehingga proses terjadinya karies gigi berlangsung lebih cepat (Poluan & Marlina, 2021). Asam dari hasil metabolisme *Streptococcus mutans* dapat menyebabkan plak matang lebih cepat karena adanya hubungan antara protein permukaan *Streptococcus mutans* dengan glukosa yang mengakibatkan menurunnya pH pada lapisan terluar gigi (Baker et al., 2017). Jika pH tersebut turun hingga angka batas (5,2-5,5), maka enamel gigi akan terdemineralisasi serta kemungkinan dapat terjadi karies gigi (Delgado & Olafsson, 2017). *Streptococcus mutans* termasuk kelompok *Streptococcus viridans* yang merupakan anggota flora normal rongga mulut yang memiliki sifat  $\alpha$ -hemolitik dan komensal oportunistik. *Streptococcus mutans* merupakan bakteri gram positif, yang mampu menghasilkan asam. Sifat kariogenik bakteri ini dihubungkan dengan berbagai faktor, seperti dextran, dan mampu memproduksi asam pada plak (Lemos et al., 2019).

Saat ini obat alternatif mulai banyak dikembangkan, yakni dengan menggunakan tanaman herbal untuk menangani penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus mutans*. Daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius roxb*) adalah salah satu tumbuhan yang berpotensi memiliki aktivitas antibakteri (Hidayani et al., 2021). Potensi aktivitas antibakteri tersebut disebabkan karena adanya kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, dan tannin

yang dapat menghambat pertumbuhan bahkan membunuh bakteri (Bhuyan & Sonowal, 2021). Kandungan metabolit sekunder pada daun pandan dapat diekstraksi menggunakan pelarut etanol. Etanol merupakan pelarut yang *inert*, netral, bersifat universal, dan dapat menembus dinding sel sehingga dapat mengekstrak kandungan metabolit sekunder pada bahan alam tersebut (Hakim & Saputri, 2020). Ekstrak daun pandan juga terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* yang ditandai dengan adanya zona bening dengan nilai diameter 16,3 mm; 22,6 mm dan 28,3 mm pada konsentrasi ekstrak berturut-turut 15%, 17,5% dan 20% (Komala et al., 2017). Potensi aktivitas antibakteri ini perlu dikaji lebih dalam dengan menentukan nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dari ekstrak daun pandan terhadap bakteri *Streptococcus mutans* sehingga dapat dijadikan referensi untuk komposisi bahan aktif obat kumur.

## METODE

### Alat dan Bahan

Alat-alat utama yang dipakai pada penelitian ini adalah satu set alat meserasi, neraca analitik, cawan petri, tabung reaksi, *hot plate*, bunsen, Erlenmeyer, batang pengaduk, gelas ukur, aluminium foil, inkubator, kertas saring, autoklaf, jarum ose, evaporator, spektrofotometer UV-Vis, *laminar air flow* (LAF), vortex, mikropipet dan tip, spatula *spreader*.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain: daun pandan wangi yang diperoleh dari Kecamatan Mijen, Kota Semarang, biakan bakteri *Streptococcus mutans* diperoleh dari Laboratorium Kesehatan Permata, media *nutrient agar* (NA), media *Brain Heart Infusion Broth* (BHI-B), etanol, larutan Mc Farland 0.5, dan reagen-reagen untuk uji fitokimia.

### Pembuatan ekstrak etanol daun pandan mengacu pada penelitian Resmi & Mardiyarningsih (2016)

Pembuatan ekstrak daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius roxb*) dilakukan dengan metode maserasi. Sampel daun pandan dicuci bersih, dipotong, kemudian dikeringkan pada suhu ruang selama 5 hari tanpa terkena sinar matahari secara langsung. Daun pandan kering dihaluskan untuk memperbesar luas permukaan. Serbuk daun pandan sebanyak 250 g direndam dalam maserator menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 750 mL

selama 3 hari sambil sesekali diaduk. Hasil maserasi kemudian disaring menggunakan kertas saring, sehingga diperoleh filtrat 1 dan ampasnya. Ampas hasil penyaringan pertama di maserasi kembali menggunakan etanol 70% sebanyak 750 mL, sehingga didapatkan filtrat 2. Filtrat 1 dan 2 dicampur dan diuapkan menggunakan *Rotary vacuum Evaporator* pada suhu 60°C sampai didapatkan ekstrak yang lebih kental.

#### **Pembuatan variasi konsentrasi ekstrak etanol daun pandan mengacu pada penelitian Ambarwati & Yulianita (2021)**

Pembuatan variasi konsentrasi ekstrak daun pandan dilakukan dengan metode serial dilusi atau pengenceran bertahap menggunakan perbandingan 1:2 (v/v) sehingga diperoleh sejumlah konsentrasi. Sebanyak 11 tabung reaksi steril dipersiapkan. Tabung 1 sampai 9 merupakan variasi konsentrasi ekstrak berturut-turut 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,12; 1,56; 0,78; dan 0,36% v/v. Tabung 10 diberi tanda K (+) berisikan suspensi bakteri *Streptococcus mutans*, Tabung 11 berupa kontrol negatif berisi ekstrak etanol daun pandan yang tidak menambahkan suspensi bakteri diberi tanda K (-). Tabung 1 diisi dengan ekstrak daun pandan wangi sebanyak 6 mL dengan konsentrasi 100%. Sebanyak 3 mL media BHIB diisikan disetiap tabung pada tabung 2-9. Selanjutnya 3 mL larutan dari tabung 1, dicampur ke dalam tabung 2 sampai tercampur sempurna sehingga didapatkan konsentrasi 50%. Hal serupa dikerjakan sampai tabung ke-9.

#### **Uji fitokimia mengacu pada penelitian Audu et al. (2007)**

Pengujian fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa yang terdapat didalam daun pandan wangi. Senyawa yang diujikan diantaranya adalah flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin. Uji flavonoid dilakukan dengan mencampurkan 1 mL ekstrak daun pandan wangi dengan serbuk magnesium dan asam klorida pekat sebanyak 10 tetes. Uji positif flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna jingga.

Uji saponin dilakukan dengan mengambil sebanyak 1 mL ekstrak daun pandan kemudian ditambahkan aquades sebanyak 10 mL. Campuran dipanaskan selama 5 menit, setelah itu dikocok selama 10 menit. Jika dihasilkan busa yang konsisten dengan penambahan 1 tetes HCl 2 N maka hasil analisisnya positif.

Uji alkaloid dilakukan dengan mencampurkan ekstrak daun pandan dengan pereaksi dragendorff

dan 2 mL  $\text{CHCl}_3$ . Hasil positif uji alkaloid ditandai dengan terbentuknya larutan berwarna merah bata.

Uji tanin dilakukan dengan mengambil 0,5 g serbuk daun pandan wangi kering kemudian dilarutkan dalam 20 mL akuades pada tabung reaksi. Campuran tersebut dipanaskan. Setelah mendidih, campuran disaring kemudian ditambahkan 0,1%  $\text{FeCl}_3$  tetes demi tetes hingga terdapat perubahan warna. Hasil positif uji tannin ditandai dengan terbentuknya larutan berwarna hijau kehitaman.

#### **Pembuatan kultur bakteri *Streptococcus mutans* mengacu pada penelitian Kumakauw et al. (2020)**

Sediaan bakteri yang didapatkan dari Laboratorium Kesehatan Permata di remajakan dalam media NA. Sebanyak satu ose bakteri ditanamkan pada media agar miring dengan cara menggores, kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam.

#### **Pembuatan suspensi bakteri *Streptococcus mutans***

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan mengambil sebanyak satu ose bakteri *Streptococcus mutans* dari kultur bakteri kemudian dimasukkan ke dalam media BHI-B dalam erlenmeyer dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C di dalam inkubator. Kekekruhan suspensi bakteri disesuaikan dengan standar kekekruhan *McFarland* 0,5 dengan mengukur nilai absorbansi melalui spektrofotometer UV-Vis.

#### **Penentuan nilai KHM mengacu pada penelitian Wiharningtias (2016)**

Suspensi bakteri yang telah setara dengan *McFarland* 0,5 diambil sebanyak 3 mL kemudian dimasukkan ke dalam setiap tabung reaksi (tabung 1-9 dan 11). Masing-masing tabung reaksi yang berisi ekstrak daun pandan dan suspensi bakteri dikocok menggunakan vortex. Setelah larutan homogen, masing-masing campuran diambil sebanyak 2 mL dituangkan ke dalam kuvet untuk dilakukan penghitungan nilai absorbansi awal menggunakan spektrofotometer UV-Vis sebelum dilakukan inkubasi. Hal yang serupa dikerjakan pada semua tabung perlakuan. Selanjutnya semua tabung yang sudah diukur nilai absorbansi awal, diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Setelah inkubasi, masing-masing campuran diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Apabila nilai absorbansi akhir setiap tabung

(setelah inkubasi) lebih tinggi dari nilai absorbansi awal (sebelum inkubasi) maka bakteri tersebut masih tumbuh. Akan tetapi sebaliknya, apabila tidak terjadi perubahan nilai antara absorbansi sebelum dengan nilai absorbansi sesudah inkubasi, atau jika nilai absorbansi setelah inkubasi lebih kecil dari nilai absorbansi sebelum inkubasi maka perkembangan bakteri terhambat. Dengan demikian nilai KHM ditetapkan dari konsentrasi ekstrak terendah pada tabung perlakuan yang mulai menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

### Penentuan nilai KBM mengacu pada penelitian (Rollando et al., 2019)

Pengujian dalam menentukan nilai KBM dilakukan dengan mengambil sebanyak 100 µL sampel campuran (ekstrak daun pandan dan suspensi bakteri) lalu dituangkan pada media NA yang telah dipersiapkan di dalam cawan petri kemudian diratakan menggunakan batang *spreader* steril. Larutan yang dipakai merupakan larutan uji penentuan KHM yang bening atau tidak terdapat adanya tanda-tanda pertumbuhan bakteri, lalu diinkubasi dalam jangka waktu 24 jam. Nilai KBM ditentukan dengan mengamati ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri pada cawan petri.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Uji Fitokimia

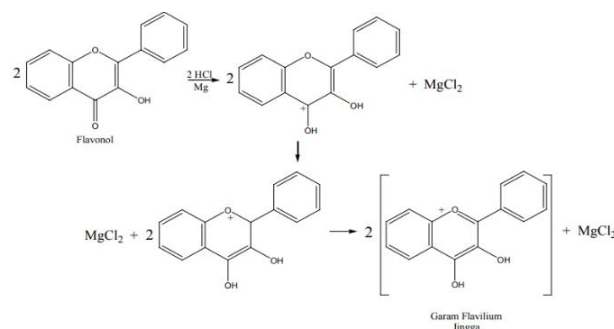
Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Daun Pandan.

Metabolit Sekunder	Hasil	Keterangan
Flavonoid	+	Merah bata
Saponin	-	Tidak berbusa
Alkaloid	+	Jingga
Tanin	+	Hijau kehitaman

Serbuk daun pandan wangi sebanyak 250 g diekstraksi menggunakan etanol 70% sebanyak 750 mL menggunakan metode maserasi. Hasil maserasi berupa ekstrak kental berwarna hijau. Ekstrak kental diuji fitokimia untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak tersebut. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa di dalam ekstrak etanol terkandung senyawa flavonoid, alkaloid, dan tannin (Tabel 1).

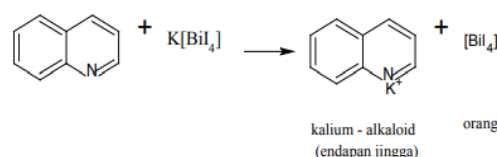
Analisis kualitatif kandungan senyawa flavonoid dilakukan dengan mereaksikan 1 mL ekstrak etanol daun pandan dengan 0,1 g serbuk

magnesium dan HCl pekat sebanyak 10 tetes (Gambar 1). Hasil analisis menunjukkan adanya perubahan warna menjadi jingga yang menandakan positif adanya senyawa tersebut. Tujuan penambahan serbuk magnesium dan HCl adalah untuk mereduksi benzopiran pada struktur flavonoid sehingga terbentuk garam flavilium yang berwarna jingga (Yuniati et al., 2020). Flavonoid merupakan senyawa organik yang mempunyai struktur berupa dua buah cincin aromatik dengan gugus hidroksil lebih dari satu. Semakin banyak gugus hidroksil pada flavonoid, maka kepolaran senyawa semakin meningkat sehingga akan mudah terlarut dalam pelarut-pelarut polar, salah satunya etanol (Panche et al., 2016).



Gambar 1. Reaksi pada uji flavonoid (Yuniati et al., 2020).

Selain flavonoid, alkaloid merupakan salah satu metabolit sekunder penting yang berpotensi memiliki aktivitas antibakteri (Bufo & Karaman, 2019; Othman et al., 2019). Salah satu ciri khas dari senyawa-senyawa yang masuk dalam golongan alkaloid adalah mempunyai atom N pada strukturnya. Ekstrak etanol daun pandan terbukti memiliki kandungan alkaloid dengan hasil positif berupa endapan jingga. Endapan tersebut merupakan kalium alkaloid (Gambar 2), dimana atom N (Nitrogen) pada alkaloid akan membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan kalium tetraiodobismutat dari reagen Dragendorff (Ergina et al., 2014).

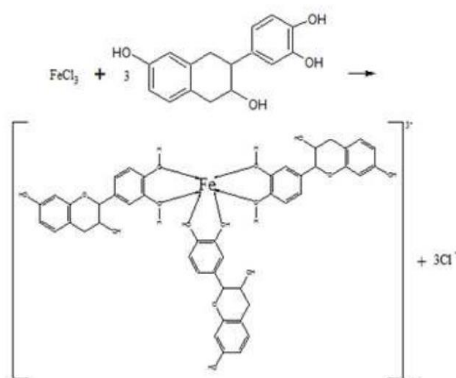


Gambar 2. Reaksi pada uji alkaloid (Yuniati et al., 2020).

Analisis fitokimia selanjutnya adalah uji saponin. Saponin merupakan glikosida yang banyak ditemukan pada organisme. Kandungan saponin dipengaruhi oleh varietas dan tahap pertumbuhan suatu tanaman. Hasil analisis menunjukkan tidak

terbentuknya busa stabil pada campuran sehingga ekstrak tersebut negatif mengandung saponin.

Pengujian tanin menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya larutan berwarna hijau kehitaman. Warna hijau kehitaman tersebut berasal dari senyawa kompleks yang terbentuk antara tannin (gugus fenol pada tannin) dengan  $Fe^{3+}$  (Gambar 3). Apabila analisis ekstrak dengan  $FeCl_3$  menunjukkan hasil positif, maka dimungkinkan dalam sampel tersebut terdapat senyawa fenol dan salah satunya adalah tannin karena tannin merupakan senyawa polifenol (Harbone, 1987).



Gambar 3. Reaksi pada uji tannin (Ergina et al., 2014).

### Penetapan Nilai KHM dan KBM

Isolat bakteri *Streptococcus mutans* diremajakan pada media NA. Bakteri diambil dengan jarum ose steril, digoreskan pada media agar yang sudah disediakan sebelumnya dengan teknik *streak plate*. Bakteri diinkubasi selama 24 jam pada temperatur  $37^{\circ}C$ , sehingga akan terbentuk kultur bakteri *Streptococcus mutans* (Fatmariza et al., 2019).

Kultur bakteri digunakan untuk membuat suspensi bakteri dengan media BHI-B yang kekeruhannya disetarakan dengan kekeruhan Mc Farland 0,5. Kekeruhan tersebut mengindikasikan jumlah bakteri sebanyak  $1,5 \times 10^8$  CFU (Aviany & Pujiyanto, 2020). Penyetaraan kekeruhan antara suspensi bakteri dengan larutan Mc Farland dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm (Mawea et al., 2019). Suspensi bakteri yang dibuat sudah setara dengan kekeruhan Mc Farland 0,5 dengan nilai absorbansi kedua larutan tersebut adalah 0,198.

Suspensi bakteri dimasukkan ke dalam tabung (tabung 1-9 dan 11) yang berisi variasi konsentrasi ekstrak etanol daun pandan yang telah dibuat sebelumnya. Campuran yang telah homogen diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer

pada panjang gelombang 600 nm. Absorbansi tersebut dicatat kemudian dibandingkan dengan nilai absorbansi setelah inkubasi. Inkubasi dilakukan selama 24 jam pada suhu  $37^{\circ}C$ . Analisis penentuan nilai KHM diamati dengan melihat perubahan nilai absorbansi, apabila nilai absorbansi setelah inkubasi mengalami penurunan maka pertumbuhan bakteri terhambat (Wiharningtias, 2016).

Data pada Tabel 2, menunjukkan bahwa pada konsentrasi  $\leq 3,12\%$  nilai absorbansi setelah inkubasi mengalami peningkatan dibanding nilai absorbansi sebelum inkubasi, sama halnya dengan  $K(+)$  yang berisikan bakteri *Streptococcus mutans* dimana warna larutan setelah inkubasi menjadi lebih keruh dan nilai absorbansinya meningkat. Hal ini menandakan bahwa suspensi bakteri yang diujikan pada konsentrasi tersebut masih mengalami pertumbuhan. Konsentrasi ekstrak yang rendah, menyebabkan kemampuan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri menjadi kurang kuat. Sedangkan untuk konsentrasi  $\geq 6,25\%$  nilai absorbansi setelah inkubasi mengalami penurunan. Hal ini menandakan bahwa suspensi bakteri yang diujikan pada variasi konsentrasi tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Berdasarkan hasil analisis perbandingan nilai absorbansi, maka nilai KHM ekstrak etanol daun pandan terhadap bakteri *Streptococcus mutans* yaitu pada konsentrasi 6,25% (v/v). Konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi terendah dimana terjadi penurunan nilai absorbansi setelah dilakukan inkubasi yang menunjukkan terjadinya penghambatan pertumbuhan bakteri (Mere et al., 2021).

Penentuan nilai KBM dilakukan dengan menguji aktivitas antibakteri menggunakan variasi konsentrasi hasil KHM ke dalam media agar. Konsentrasi ekstrak yang digunakan yaitu 3,12; 6,25; 12,5; 25; 50; dan 100% (v/v). Metode yang digunakan adalah *spread plate*, yaitu mengambil sampel yang sudah dilakukan uji KHM sebanyak 100  $\mu$ l lalu dituangkan ke dalam media agar dan diratakan menggunakan spatula *spreader* yang sudah disterilisasi, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu  $37^{\circ}C$ . Uji KBM menghasilkan data seperti pada Tabel 3, konsentrasi 3,12-12,5% (v/v) masih terdeteksi adanya pertumbuhan bakteri, sedangkan pada konsentrasi 25%-100% tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri. *Colony counter* digunakan untuk menghitung koloni bakteri yang tumbuh pada sampel dengan teknik *total plate count* (TPC) (Bunyamin et al., 2019). Semakin

tinggi konsentrasi ekstrak, maka koloni yang tumbuh semakin sedikit (Muchtaromah et al., 2020). Konsentrasi ekstrak 25% (v/v) merupakan konsentrasi terendah dimana sudah tidak terdapat pertumbuhan bakteri (jumlah koloni nol), sehingga konsentrasi tersebut ditetapkan sebagai nilai KBM ekstrak etanol daun pandan terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi terkecil yang dapat membunuh bakteri *Streptococcus mutans*.

Aktivitas antibakteri ekstrak daun pandan dipengaruhi oleh senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya, seperti flavonoid, alkaloid, dan tannin (Resmi & Mardiyarningsih, 2016). Senyawa-senyawa fenolik seperti flavonoid dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan menembus peptidoglikan dinding sel yang bersifat polar. Peptidoglikan yang rusak menyebabkan lapisan sel menjadi tidak utuh dan pertumbuhan bakteri terhambat. Adapun senyawa-

senyawa golongan alkaloid dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan menghambat sintesis dinding sel. Dinding sel yang rusak menyebabkan fungsi permeabilitasnya terganggu, sehingga pengendalian cairan dalam sel menjadi kurang optimal, metabolisme sel terganggu, defisiensi ATP dan lama kelamaan sel akan mengalami lisis (Heliawati et al., 2022). Senyawa-senyawa golongan tannin memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme mengkoagulasi dan mendenaturasi protein. Tannin berikatan dengan protein membentuk ion  $H^+$  sehingga pH menjadi asam dan protein terdenaturasi. Kondisi asam tersebut juga dapat menyebabkan enzim-enzim yang terdapat pada sel menjadi inaktif. Enzim yang inaktif menyebabkan metabolisme sel pada bakteri terganggu sehingga sel menjadi rusak bahkan mati. Tannin juga dapat menghambat enzim *reverse transcriptase* dan DNA *topoisomerase* sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Rahayu et al., 2021).

**Tabel 2.** Hasil Uji KHM.

Konsentrasi (v/v)	Perlakuan		Keterangan
	Sebelum Inkubasi	Setelah Inkubasi	
100%	$0,783 \pm 1,9 \times 10^{-3}$	$0,7116 \pm 7,3 \times 10^{-3}$	Turun
50%	$0,417 \pm 3,4 \times 10^{-3}$	$0,3854 \pm 3,1 \times 10^{-3}$	Turun
25%	$0,243 \pm 5 \times 10^{-3}$	$0,2312 \pm 6,2 \times 10^{-3}$	Turun
12,5%	$0,168 \pm 5,5 \times 10^{-3}$	$0,159 \pm 0$	Turun
6,25%	$0,121 \pm 1,1 \times 10^{-3}$	$0,105 \pm 7,8 \times 10^{-3}$	Turun
3,12%	$0,100 \pm 0$	$0,14 \pm 3,7 \times 10^{-3}$	Naik
1,56%	$0,097 \pm 0,001$	$0,232 \pm 0,1$	Naik
0,78%	$0,093 \pm 2,4 \times 10^{-3}$	$0,3778 \pm 0,03$	Naik
0,36%	$0,089 \pm 5,5 \times 10^{-4}$	$0,482 \pm 0,12$	Naik
Kontrol +	$0,192 \pm 1,5 \times 10^{-3}$	$0,284 \pm 1,1 \times 10^{-3}$	Naik
Kontrol -	$1,071 \pm 0$	$1,071 \pm 0$	Tetap

**Tabel 3.** Hasil Uji KBM

Konsentrasi (%)	Pertumbuhan Koloni
100	Tidak Tumbuh
50	Tidak Tumbuh
25	Tidak Tumbuh
12,5	Tumbuh
6,25	Tumbuh
3,12	Tumbuh

## KESIMPULAN

Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dengan metode dilusi cair menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pandan wangi dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus*

*mutans* pada konsentrasi ekstrak 6,25% (v/v). Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dengan memakai metode *spread plate* menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pandan dapat membunuh bakteri *streptococcus mutans* pada konsentrasi ekstrak 25% (v/v).

## DAFTAR RUJUKAN

- Ambarwati, Ri., & Yulianita, Y. (2021). Physical Evaluation of Transfersome that Contains Pandan Leaves Extract (*Pandanus amaryllifolius* R.). *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry*, 5(4), 369–374.
- Audu, S. A., Mohammed, I., & Kaita, H. A. (2007). Phytochemical screening of the leaves of *Lophira lanceolata* (Ochanaceae). *Life Science Journal*, 4(4), 75–79. [https://www.researchgate.net/profile/Ali-Sani-3/publication/265989428\\_Phytochemical\\_screening\\_of\\_the\\_leaves\\_of\\_Lophira\\_lanceolata\\_Ochanaceae/links/59ce2701458515cc6aaa0525/Phytochemical-screening-of-the-leaves-of-Lophira-lanceolata-Ochanaceae.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Ali-Sani-3/publication/265989428_Phytochemical_screening_of_the_leaves_of_Lophira_lanceolata_Ochanaceae/links/59ce2701458515cc6aaa0525/Phytochemical-screening-of-the-leaves-of-Lophira-lanceolata-Ochanaceae.pdf)
- Aviany, H. B., & Pujiyanto, S. (2020). Analisis Efektivitas Probiotik di Dalam Produk Kecantikan sebagai Antibakteri terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Berkala Bioteknologi*, 3(2), 24–31.
- Baker, J. L., Faustoferri, R. C., & Quivey, R. G. (2017). Acid-adaptive mechanisms of *Streptococcus mutans*—the more we know, the more we don't. *Molecular Oral Microbiology*, 32(2), 107–117. <https://doi.org/10.1111/omi.12162>
- Bhuyan, B., & Sonowal, R. (2021). AN OVERVIEW OF *Pandanus amaryllifolius* Roxb.exLindl. AND ITS POTENTIAL IMPACT ON HEALTH. *Current Trends in Pharmaceutical Research*, 8(1). [www.dibru.ac.in./ctpr](http://www.dibru.ac.in./ctpr)
- Bufo, S. A., & Karaman, R. (2019). Herbivores, Cancerous Cells and Pathogens. *Toxins*, 11(656), 1–28.
- Bunyamin, A., Siahaan, N. P., Purnomo, D., & Nawawi, M. (2019). The Comparison Study of Pasteurized "Fruits Up" Products Using TPC ( Total Plate Count ) Method. *Agroindustrial Journal*, 6(1), 384–387.
- Delgado, A. J., & Olafsson, V. G. (2017). Acidic oral moisturizers with pH below 6.7 may be harmful to teeth depending on formulation: A short report. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dentistry*, 9, 81–83. <https://doi.org/10.2147/CCIDE.S140254>
- Ergina, E., Nuryanti, S., & Pursitasari, I. D. (2014). Uji kualitatif senyawa metabolit sekunder pada daun palado (*Agave angustifolia*) yang diekstraksi dengan pelarut air dan etanol. *Jurnal Akademika Kimia*, 3(3), 165–172.
- Fatmariza, M., Inayati, N., & Rohmi, R. (2019). Tingkat Kepadatan Media Nutrient Agar Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Analisis Medika Biosains (JAMBS)*, 4(2), 69–73.
- Hakim, A. R., & Saputri, R. (2020). Narrative Review: Optimasi Etanol sebagai Pelarut Senyawa Flavonoid dan Fenolik. *Jurnal Surya Medika*, 6(1), 177–180. <https://doi.org/10.33084/jsm.v6i1.1641>
- Harbone, J. B. (1987). Metode Fitokimia: Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan terbitan kedua. *Terjemahan: Kosasih Padmawinata Dan Iwang Soediro. Bandung: Penerbit ITB.*
- Heliawati, L., Lestari, S., Hasanah, U., Ajiati, D., & Kurnia, D. (2022). Phytochemical Profile of Antibacterial Agents from Red Betel Leaf (*Piper crocatum* Ruiz and Pav) against Bacteria in Dental Caries. *Molecules*, 27(9). <https://doi.org/10.3390/molecules27092861>
- Hidayani, C. E., Ginting, C. N., & Chiuman, L. (2021). 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 (BirEx) Journal*, 3(3), 213–228. <https://www.bircu-journal.com/index.php/birex/article/view/2349>
- Komala, O., Nur'aini, P., & Indriati, D. (2017). Uji Antibakteri Sediaan Obat Kumur Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb) Terhadap *Streptococcus mutans*. *Ekologia*, 17(1), 14–20.
- Kumakauw, V. V., Simbala, H. E. I., & Mansauda, K. L. R. (2020). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sesewanua (*Clerodendron Squamatum* Vahl.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. *Jurnal MIPA*,

- 9(2), 86.  
<https://doi.org/10.35799/jmuo.9.2.2020.28946>
- Lemos, J. A., Palmer, S. R., Zeng, L., Wen, Z. T., Kajfasz, J. K., Freires, I. A., Abranches, J., & Brady, L. J. (2019). The Biology of *Streptococcus mutans*. *Microbiology Spectrum*, 7(1), 1–26.  
<https://doi.org/10.1128/microbiolspec.gpp3-0051-2018>
- Mawea, F., Maarisit, W., Datu, O., & Potalangi, N. (2019). Efektivitas Ekstrak Daun Cempedak *Artocarpus integer* Sebagai Antibakteri. *Biofarmasetikal Tropis*, 2(1), 115–122.  
<https://doi.org/10.55724/jbiofartrop.v2i1.52>
- Mere, J. K., Bintang, M., & Safithri, M. (2021). Antibacterial Effectiveness of *Syzygium cumini* (L.) Skeels Leaves to *Escherichia coli* pBR322. *Indo. J. Chem. Res.*, 9(1), 8–14. <https://doi.org/10.30598/ijcr.2020.9-jan>
- Muchtaromah, B., Safitri, E. S., Fitriyani, P. D., & Istiwandhani, J. (2020). Antibacterial activities of *curcuma mangga* val. extract in some solvents to *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *AIP Conference Proceedings*, 2231(April), 1–6.  
<https://doi.org/10.1063/5.0002490>
- Othman, L., Sleiman, A., & Abdel-Massih, R. M. (2019). Antimicrobial activity of polyphenols and alkaloids in middle eastern plants. *Frontiers in Microbiology*, 10(MAY), 1–28.  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00911>
- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: An overview. *Journal of Nutritional Science*, 5(47), 1–15.  
<https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>
- Poluan, F. H., & Marlina, L. (2021). The effectiveness test of 0.9m nacl solution and 0.2% chlorhexidine gluconate on bacterial growth in the oral cavity of students batch 2018 at medical faculty, Universitas Kristen Indonesia. *International Journal of Medical and Health Research*, 7(10), 27–32.  
[www.medicalsciencejournal.com](http://www.medicalsciencejournal.com)
- Rahayu, M. R., Muliarta, I. N., & Situmeang, Y. P. (2021). SEAS ( Sustainable Environment Agricultural Science ) Acceleration of Production Natural Disinfectants from the Combination of Eco-Enzyme Domestic Organic Waste and Frangipani Flowers ( *Plumeria alba* ). *Sustainable Environment Agriculture Science*, 05(01), 15–21.
- Resmi, A., & Mardiyarningsih, A. (2016). Pandan leaves extract (*Pandanus amaryllifolius* Roxb) as a food preservative. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan Indonesia Indonesian*, 7(4), 166–173.
- Riskesdas, T. (2019). Laporan Nasional Riskesdas 2018. In *Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kementerian Kesehatan RI* (p. 126).  
<https://doi.org/10.12688/f1000research.46544.1>
- Roberts, W. E., Mangum, J. E., & Schneider, P. M. (2022). Pathophysiology of Demineralization, Part II: Enamel White Spots, Cavitated Caries, and Bone Infection. *Current Osteoporosis Reports*, 20(1), 106–119. <https://doi.org/10.1007/s11914-022-00723-0>
- Rollando, R. (2019). Uji Antimikroba Minyak Atsiri Masoyi (*Massoia aromatica*) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Majalah Farmasi Dan Farmakologi*, 23(2), 52–57.
- Wiharningtias, I. (2016). Uji Konsentrasi Hambat Minimum (Khm) Ekstrak Kulit Nanas (*Ananas Comosus* L) Terhadap *Staphylococcus Aureus*. *PHARMACON*, 5(4).
- Yuniati, R., Zainuri, M., & Kusumaningrum, H. (2020). Qualitative Tests of Secondary Metabolite Compounds in Ethanol Extract of *Spirulina platensis* from Karimun Jawa Sea. *Indonesia. Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 12(3), 343–349.  
<http://dx.doi.org/10.15294/biosaintifika.v12i3.23153>