

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Pustaka

2.1.1 Tanaman Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb)



(a) Tanaman pandan wangi (b) Daun pandan wangi

Gambar 2.1 Tanaman daun pandan wangi (Dokumentasi pribadi 2024)

Pandanus amaryllifolius Roxb dikenal sebagai tanaman pandan wangi yang tumbuh di daerah tropis sering digunakan untuk memberikan aroma dan rasa serta pewarna alami pada olahan makanan dan minuman yang memiliki ciri khas sangat sedap dan menenangkan. Selain sebagai bahan tambahan dalam berbagai makanan, daun pandan juga memiliki manfaat sebagai tanaman herbal (Suryani *et al.*, 2017). Pandan wangi sebagai salah satu tanaman hortikultura merupakan segolongan tumbuhan monokotil dari genus *Pandanus*. Sebagian besar anggotanya tumbuh di pantai-pantai daerah tropika. Anggota tumbuhan ini dicirikan dengan daun

yang memanjang (seperti daun palem atau rumput), seringkali tepinya bergerigi. Akarnya besar dan memiliki akar tunjang yang menopang tumbuhan ini. Buah pandan tersusun dalam karangan berbentuk membulat. Ukuran tumbuhan ini bervariasi, mulai dari 50 cm hingga lima meter (Mataliana *et al.*, 2015)

2.1.2 Klasifikasi Tanaman Pandan Wangi

Tanaman pandan wangi dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisio : *Tracheophyta*

Classis : *Liliopsida*

Sub-Classis : *Arecidae*

Ordo : *Pandanales*

Familia : *Pandanaceae*

Genus : *Pandanus*

Species : *Pandanus amaryllifolius* Roxb (Ambarwati *et al.*, 2016)

2.1.3 Kandungan Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb)

Tanaman pandan wangi didalam daun nya mempunyai kandungan senyawa metabolit sekunder kimia yang merupakan senyawa kimia bioaktif berfungsi untuk mempertahankan diri dari lingkungan yang merugikan seperti iklim, suhu ataupun hama tanaman, kandungan senyawa flavonoid, alkaloida, saponin, dan polifenol menjadikan daun pandan wangi mempunyai aktivitas farmakologi yaitu sebagai antibakteri, antidiabetes, antikanker, dan antioksidan (Dewanti & Sofian, 2017). Selain

aktivitas antibakteri yang terkandung dalam daunnya, tanaman pandan wangi mempunyai senyawa yang mengeluarkan aroma dan pewarna yang alami yaitu senyawa polifenol berupa tanin, lignin, melanin, kuinon, dan alkaloida (Suryani *et al.*, 2017).

2.1.4 Definisi Biofilm dan Antibiofilm

Biofilm merupakan mikroorganisme yang biasa ditemukan pada permukaan gigi kumpulan bakteri interaktif ini melekat satu sama lain pada substrat biologi maupun non biologi yang dilindungi dalam matriks ekspolisakarida menyebabkan terjadinya perlindungan bakteri. Matriks memiliki fungsi menjadi sawar terhadap antimikroba, sehingga menyebabkan antibiotik sulit dalam proses melawan bakteri sehingga terjadi resistensi antimikroba yang salah satunya dikarenakan oleh bakteri yang sudah membentuk biofilm (Hidayati & Liuwan, 2019). Biofilm pada suatu permukaan diselimuti oleh lapisan pelekak matriks ekstraselular yang tersusun atas protein, DNA, dan matriks *Extracellular Polymeric Substances* (EPS) yang mencakup 50% sampai 90% dari total karbon organik biofilm. EPS dapat berbeda sifat kimia dan fisik tetapi terdiri dari polisakarida bersifat hidrofilik karena dapat mengikat sejumlah besar air dengan kelarutan yang berbeda (Thi *et al.*, 2020).

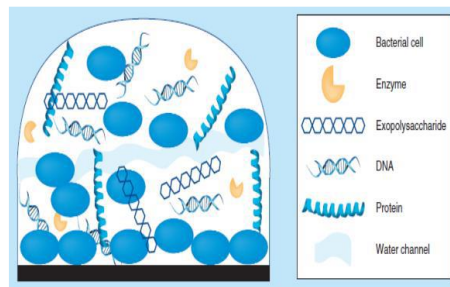
Antibiofilm merupakan senyawa yang dapat mengurangi biomassa bakteri melalui cara kerjanya berupa perubahan terhadap kualitas atau integritas biofilm. Pengelompokan senyawa antibiofilm secara umum

dibagi menjadi dua yaitu sintesis dan alami. Senyawa antibiofilm sintesis seperti *non-thermal plasma*, substansi *photodynamic*, *nanoparticles*, modifikasi dari permukaan *topographic*, dan peptide, sedangkan senyawa antibiofilm alami adalah protozoa, bakteri, dan tumbuhan (Forestier *et al.*, 2016). Senyawa fitokimia seperti flavonoid dan tanin dapat berperan sebagai antibiofilm dengan cara mengurangi adhesi bakteri dan menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membrane sitoplasma, menghambat metabolisme energi dan protein bakteri (Shamsudin *et al.*, 2022)

2.1.5 Struktur Pembentuk Biofilm

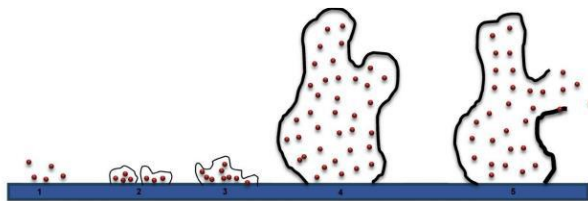
Struktur pembentuk biofilm merupakan *Extracellular Polymeric Substances* (EPS) yang mengandung 50-90% dari total karbon organik biofilm berfungsi sebagai bahan penyusun matriks primer biofilm yang dikeluarkan bakteri ke lingkungan. Eksopolisakarida, protein, dan asam nukleat (DNA) merupakan penyusun dari substansi polimerik ekstraseluler. Eksopolisakarida pada mikroskop terlihat untaian panjang yang bercabang dan menempel atau melekat pada permukaan sel. Eksopolisakarida berfungsi sebagai penyangga dari karbohidrat, protein, lipid, asam nukleat yang menyatu, pertukaran *environmental Deoxyribonucleic Acid* (DNA) dapat terjadi dikarenakan adanya biofilm yang berfungsi dalam penyediaan lingkungan yang optimal dan menyebabkan resistensi antibiotik (Hidayati & Liuwan, 2019). Matriks biofilm merupakan struktur yang dinamis. Struktur biofilm memiliki pori-pori dan

saluran air yang berfungsi sebagai nutrisi dan pembuangan melalui pertukaran produk dengan lingkungan luar secara aktif dan pasif (Edward *et al.*, 2015)



Gambar 2.2 Stuktur Penyusun Biofilm (Hidayati & Liuwan, 2019).

2.1.6 Mekanisme Pembentukan Biofilm



Gambar 2.3 Tahapan Pembentukan Biofilm (Samal & Kumar, 2018)

Mekanisme pembentukan biofilm digunakan untuk pelindung sel bakteri dari lingkungan yang merugikan kondisi dan kekurangan nutrisi melalui beberapa tahap seperti:

1. Perlekatan sel bakteri melekat pada organisme yang lain dengan interaksi yang lemah atau gaya *van der waals*, hal tersebut menyebabkan adanya perlekatan bakteri dan permukaan secara irreversibel (Wirnawati *et al.*, 2023)
2. Tahap kedua bakteri melanjutkan ke adhesi sel ke sel yang lain sehingga membentuk mikrokoloni yang stabil.

3. Tahapan ketiga proliferasi dan pertumbuhan sel dari perkembangan mikrokoloni yang menyebabkan terbentuknya sinyal berupa bahan kimia yang berfungsi dalam pembentukan eksopolisakarida yang dapat melindungi bakteri dan menyebabkan terjadinya pembelahan bakteri terus berlanjut.
4. Tahapan keempat pematangan sel terjadi ekspresi gen dalam pembentukan biofilm yang lebih besar dengan pembentukan saluran berisi air untuk pengangkutan nutrisi ke dalam biofilm dan memiliki kemampuan
5. Tahapan yang kelima pelepasan dan penyebaran, pada tahap ini bakteri melakukan penghentian produksi eksopolisakarida yang menyebabkan terjadi pelepasan bakteri dan kembali menyebar (Samal & Kumar, 2018)

2.1.7 Mekanisme Antibiofilm

Mekanisme atau cara kerja antibiofilm dikenal sebagai *Quorum Sensing Inhibitor* (QSI) bekerja dengan cara pengurangan dari sintesis dan aktivitas protein *Acyl Homoserine Lactone* (AHL), penghambatan produksi molekul QS, peniruan dari molekul QS, pendegradasian dari AHL (Miquel *et al.*, 2016). Penginderaan *Quorum sensing inhibitor* (QSI) sebagai mekanisme pensinyalan utama yang digunakan bakteri untuk komunikasi antar sel dapat mendorong degradasi intraseluler asam amino dan asam lemak, serta biosintesis dan transportasi siderofor, sehingga menyediakan

sel dengan cukup energi dan zat besi untuk membentuk biofilm yang lebih tebal (Zhou *et al.*, 2020)

Selama pembentukan biofilm *Quorum Sensing inhibitor* (QSI) berkomunikasi dengan banyak spesies bakteri dengan bakteri yang lain sehingga dapat membantu dalam komunikasi antara intraspecies dan interspecies selama pembentukan biofilm atau dalam kondisi lingkungan yang merugikan seperti pemberian antibiotik. Bakteri melakukan komunikasi satu sama lain yang memicu QSI pada gram negatif menggunakan *Asil Homoserine Lakton* (AHL), tipe AHL tergantung dari panjang dan fungsi rantai samping asil. Ekspresi gen QS yang terjadi pada bakteri gram positif diatur oleh peptide kecil (Hidayati & Liuwan, 2019). QSI merangsang koordinasi ekspresi gen dengan sel yang lain, molekul pensinyalan dalam penginderaan kuorum menempel pada reseptor bakteri lain dan membantu dalam transkripsi gen baik dari spesies bakteri yang sama atau antara bakteri dari spesies yang berbeda. Bakteri tersebut menyebarkan sinyal kimiawi yang dikenali oleh bakteri lain sehingga bersatu membentuk struktur biofilm yang kompleks (Samal & Kumar, 2018)

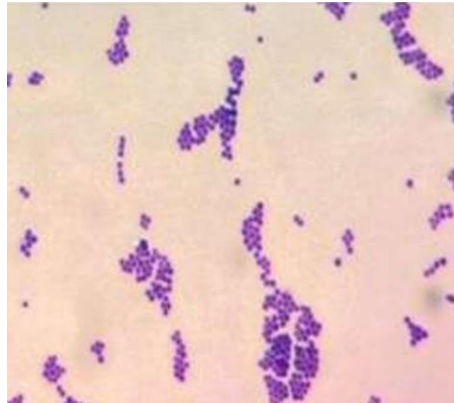
2.1.8 Definisi Karies Gigi

Karies gigi merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh demineralisasi bakteri pada permukaan gigi melalui interaksi bakteri yang bersifat asam menyebabkan degradasi email gigi. Plak merupakan proses dari terbentuknya karies yang berasal dari campuran zat saliva seperti

musin, debris seluler jaringan mulut, sel darah putih, limfosit, sisa makanan, dan bakteri yang berubah menjadi asam laktat di beberapa titik, menurunkan pH di mulut ke tingkat kritis dan menyebabkan demineralisasi di mulut, enamel gigi yang berkembang menjadi kerusakan gigi (Afiati *et al.*, 2017). Terdapat dua faktor risiko penyebab karies gigi pertama faktor lokal seperti pengalaman karies, oral hygiene, plak gigi, susunan gigi, kebiasaan konsumsi kariogenik dan faktor kedua seperti seperti usia, jenis kelamin, ras dan budaya, merokok, status ekonomi, dan tingkat pendidikan (Bebe *et al.*, 2018).

2.1.9 *Streptococcus mutans*

Streptococcus mutans merupakan bakteri gram positif, bersifat nonmotil (tidak bergerak) dan anaerob fakultatif, bakteri ini memiliki bentuk kokus yang bulat atau bulat telur dan tersusun dalam rantai, serta tumbuh secara optimal pada suhu sekitar 18°C – 40°C (Poernomo *et al.*, 2018). Karakteristik dari *Streptococcus mutans* antara lain mampu menyintesis polisakarida ekstraseluler yang tidak larut dalam air, dapat memproduksi asam laktat melalui proses homofermentasi, membentuk koloni yang melekat dengan erat pada permukaan gigi. *Streptococcus mutans* menghasilkan polisakarida ekstraseluler dari sukrosa yang menyebabkan karies gigi dengan memanfaatkan enzim glukosil transferase, polisakarida juga berfungsi memberikan energi selama defisiensi karbohidrat (Abachi *et al.*, 2016)



Gambar 2.4 Bakteri *Streptococcus mutans* (Darniati *et al.*, 2019)

2.1.10 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan sebuah proses memisahkan dari bagian-bagian komponennya dengan menggunakan pelarut, dasar dari ekstraksi adalah kelarutan dimana pelarut polar akan melarutkan bahan kimia polar, sedangkan pelarut non-polar akan melarutkan senyawa non-polar, hasil yang di peroleh berupa sediaan pekat yang disebut dengan ekstrak, tujuan dari ekstraksi untuk memisahkan konstituen dari simplisia atau campurannya (Syamsul *et al.*, 2020). Suhu, durasi, perbandingan bahan, jenis pelarut, dan ukuran partikel merupakan beberapa faktor yang mempengaruhi proses ekstraksi (Chairunnisa *et al.*, 2019)

2.1.11 Ekstraksi Maserasi

Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari dan menembus dinding sel masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, dan larutan yang terpekat didesak keluar, maserasi melakukan perendaman

selama 3-5 hari pada suhu kamar dan sesekali sambil diaduk untuk menarik senyawa aktif keluar dari dalam sel (Suhendar *et al.*, 2020). Keuntungan dari metode maserasi tidak dilakukan proses pemanasan sehingga dapat untuk mencegah kemungkinan terjadinya penguraian zat aktif yang terkandung pada sampel akibat pengaruh suhu serta senyawa tidak tahan pemanasan (Mujipradhana *et al.*, 2018).

2.1.12 Fraksinasi

Fraksinasi merupakan teknik pemisahan dan pengelompokan kandungan kimia ekstrak berdasarkan tingkat polaritasnya. Proses fraksinasi bertingkat menggunakan pelarut berbeda berdasarkan tingkat polaritasnya dan menghasilkan ekstrak alami yang berbeda, sehingga senyawa metabolit sekunder dapat tertarik secara maksimal oleh pelarut (Mulyawati *et al.*, 2016). Kelebihan metode fraksinasi dapat memisahkan senyawa bioaktif berdasarkan tingkat polaritas karena senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar, sementara senyawa yang semi polar akan larut dalam pelarut semi polar, dan senyawa yang tidak polar akan larut dalam pelarut non polar (Putri *et al.*, 2023).

Macam – macam proses fraksinasi:

1. Fraksinasi Cair - Cair

Fraksinasi cair - cair merupakan metode pemisahan dengan beberapa pelarut yang memiliki tingkat kepolaran berbeda, fraksinasi cair-cair dilakukan dengan pengocokan. Prinsip pemisahan pada proses fraksinasi adalah didasarkan pada perbedaan tingkat kepolaran dan

perbedaan bobot jenis antara dua fraksi (Luntungan *et al.*, 2021). Fraksinasi cair-cair bertujuan untuk memisahkan analit - analit dari komponen matriks yang mengganggu pada saat kuantifikasi dan untuk memekatkan analit yang berada dalam sampel dengan jumlah yang kecil agar memudahkan deteksi (Pramesti *et al.*, 2021)

2. Fraksinasi Padat – Cair

Metode fraksinasi Padat - Cair merupakan proses pemisahan suatu zat terlarut dalam suatu padatan bercampur sehingga zat terlarut terpisah atau larut dalam pelarut dan dapat dilakukan dengan kromatografi kolom (Salempa *et al.*, 2015). Kelebihan fraksinasi padat - cair yaitu proses ekstraksi menjadi lebih sempurna, pemisahan analit dari matriks menjadi lebih efisien, mengurangi pelarut organik yang digunakan, dan bisa menggunakan fase diam yang beragam. Fraksinasi padat - cair merupakan proses pemisahan yang efisien sehingga *recovery* yang tinggi (>99%) lebih mudah dicapai jika dibandingkan dengan fraksinasi cair - cair. Pada fraksinasi cair-cair masih diperlukan ekstraksi beberapa kali untuk memperoleh *recovery* yang tinggi, sedangkan dengan fraksinasi cair-padat hanya dibutuhkan satu tahap saja (Barnes *et al.*, 2016).

3. Kromatografi vakum cair

Kromatografi vakum cair merupakan modifikasi dari kromatografi kolom gravitasi. Metode ini digunakan untuk fraksinasi sampel dalam jumlah besar (10-50 gr), kolom disambungkan dengan penampung eluen

yang dihubungkan dengan pompa vakum yang akan menghisap eluen dalam kolom, sehingga proses pemisahan berlangsung lebih cepat. Mekanisme pemisahan yang terjadi dalam KCV berupa adsorpsi dan partisi. Adsorpsi terjadi berdasarkan kemampuan zat terlarut berinteraksi dengan fase diam silika yang bersifat polar akan lebih tertahan pada fase diam karena adanya interaksi antara zat-zat polar tersebut dengan gugus silanol dari silika membentuk ikatan hidrogen, kelebihan dari metode KCV yaitu proses pemisahan dapat berlangsung dalam waktu yang relatif singkat karena penggunaan vakum (Supriadin *et al.*, 2017)

2.1.13 Microplate Reader

Microplate reader adalah alat yang digunakan untuk menganalisa virus dan bakteri berdasarkan densitas optik antara referensi, buffer dan bahan yang diuji ditempatkan pada plate (Maharani *et al.*, 2023). *Microplate reader* dapat melakukan analisis dengan beberapa sampel sekaligus sehingga lebih cepat, memiliki teknik pengerjaan yang relatif sederhana, ekonomis dalam jumlah sampel yang digunakan dan cukup sensitif, *microplate reader* bekerja dalam rentang ultraviolet dan melakukan analisis antara 340-700 nm, berkas cahaya yang melewati sampel memiliki diameter berkisar antara 1 sampai 3 mm (Choerunisa *et al.*, 2024)

2.1.14 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis merupakan suatu metode analisis yang digunakan untuk memisahkan suatu campuran senyawa murninya dan mengetahui kuantitas sejumlah zat organik, termasuk menentukan jumlah partikel metabolit sekunder. Kromatografi lapis tipis merupakan kromatografi yang terdiri dari dua fase yaitu fase diam dan fase gerak (*eluen*). Fase gerak atau elusi terdiri dari campuran pelarut yang daya larutnya baik mendorong elusi dan pemisahan, pelarut yang digunakan tidak bereaksi dengan komponen dalam sampel maupun materialis fase diam, memiliki titik didih yang rendah untuk memudahkan pengeringan setelah pengembangan. Daya elusi ditentukan oleh total polaritas pelarut, polaritas fase diam, dan karakteristik komponen sampel (Pratiwi *et al.*, 2023). Faktor yang dapat mempengaruhi hasil kromatografi lapis tipis (KLT) yaitu sistem kromatografi pada fase gerak dan fase diam, kesesuaian pelarut terhadap senyawa target dalam ekstrak, kuantitas penimbangan ekstrak, dan pemilihan metode visualisasi yang tepat (Fajriaty *et al.*, 2018). Bercak komponen yang di dapat dihitung melalui nilai R_f. Nilai r_f yang baik adalah 0,2 - 0,8 (Aritonang *et al.*, 2022). Nilai r_f dapat dihitung dengan rumus:

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}}$$

(Usman & Muin, 2023)

2.2 Landasan Teori

Kandungan metabolit sekunder didalam daun pandan seperti flavonoid, alkaloida, saponin, dan polifenol menjadikan daun pandan mempunyai peran

sebagai antibakteri (Dewanti & Sofian, 2017). Terdapat koloni bakteri *Streptococcus mutans* penyebab utama terjadinya karies gigi menghasilkan asam yang menumpuk pada gigi mengakibatkan dekalsifikasi (hilangnya kalsium) serta terkikisnya permukaan gigi (Gurning *et al.*, 2018). Penyebab pembentukan karies gigi diantaranya faktor inang (permukaan gigi), mikroorganisme (bakteri penyebab karies gigi), substrat (karbohidrat yang dapat difermentasi) dan waktu (Casadidio *et al.*, 2019). Mekanisme atau cara kerja antibiofilm dikenal sebagai *Quorum Sensing Inhibitor* (QSI) merangsang koordinasi ekspresi gen dengan sel yang lain, molekul pensinyalan dalam penginderaan kuorum menempel pada reseptor bakteri lain dan membantu dalam transkripsi gen baik dari spesies bakteri yang sama atau antara bakteri dari spesies yang berbeda (Samal & Kumar, 2018).

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Juariah *et al.*, (2022) menyatakan bahwa ekstrak daun pandan wangi berpotensi sebagai penghambat bakteri *Streptococcus mutans* yang merupakan penyebab karies gigi, hal ini dapat dilihat pada tiap konsentrasi hasil diameter zona hamba terendah terdapat pada konsentrasi 25% dengan nilai rata-rata 10,3 mm dan tertinggi pada konsentrasi 75% dengan nilai rata-rata 17,6 mm. Pada kontrol positif (Amoxicilin) menunjukkan dengan nilai rata-rata 44,3 mm dan pada kontrol negatif (akuades) terbentuk zona hambat 6 mm. Berdasarkan hasil penelitian Setiyanto *et al.*, (2024) Ekstrak etanol fraksi N-heksan, etil asetat daun pandan wangi pada ekstrak etanol menunjukkan potensi antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Fraksi N-heksana menunjukkan potensi antibakteri

yang sedang. Fraksi etil asetat kurang berpotensi menghambat bakteri. Rerata daya antibakteri adalah 9,72 terhadap bakteri *Streptococcus aureus* pada konsentrasi ekstrak 20%. Rerata 12,79 dan 14,37 pada konsentrasi ekstrak 40% dan 60%. Menurut penelitian Bali *et al.*, (2019) ekstrak etanol daun pandan wangi memiliki efektivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi* pada konsentrasi 100, 75, 50, dan 25% menghasilkan rata - rata zona hambat terbesar pada konsentrasi 100% yaitu 15,3 mm.

2.3 Hipotesis

- H0: Tidak ada pengaruh dari penggunaan metode ekstraksi dan fraksinasi terhadap aktivitas antibiofilm ekstrak etanol 70%, fraksi n-heksan, etil asetat dan metanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb).
- H1: Terdapat pengaruh dari penggunaan metode ekstraksi dan fraksinasi terhadap aktivitas antibiofilm ekstrak etanol 70%, fraksi n-heksan, etil asetat dan metanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb).