



# PROFIL SENYAWA KIMIA DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBUCHA DAUN PANDAN WANGI (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) TERHADAP BAKTERI PENYEBAB BAU BADAN

Irmayanti<sup>1</sup>, Nur Arfa Yanti<sup>\*2</sup>, Sahidin<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Bioteknologi FMIPA Universitas Halu Oleo, Kendari. [irmayanty022@gmail.com](mailto:irmayanty022@gmail.com)

<sup>2</sup>Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Halu Oleo, Kendari. [nur.yanti@uho.ac.id](mailto:nur.yanti@uho.ac.id)

<sup>3</sup>Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Halu Oleo, Kendari.

Kampus Hijau Bumi Tridharma, Anduonohu Kendari Sulawesi Tenggara, 93232

\*Penulis Korespondensi E-mail: [nur.yanti@uho.ac.id](mailto:nur.yanti@uho.ac.id)

Diterima: 31 Maret 2025 – Disetujui: 12 Mei 2025 – Dipublikasi: 31 Mei 2025

## ABSTRACT

The purpose of this study was to determine the profile of chemical content and antibacterial activity against bacteria that cause body odor *Staphylococcus epidermidis* from fragrant pandan leaf kombucha (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.). The profile of the chemical compound was determined qualitatively using the Thin Layer Chromatography (TLC) method. Antibacterial activity was tested using the disc diffusion method. Antibacterial activity data was statistically analyzed using *One-Way* ANOVA with a 95% confidence level and further analyzed using the Smallest Real Difference (SRD) test. The results of the study showed that fragrant pandan leaf kombucha has a profile of flavonoid and phenolic chemical compounds. Fragrant pandan leaf kombucha with concentrations of 20%, 30%, 40%, 50% and 100% has antibacterial activity of *Staphylococcus epidermidis* which is included in the weak category.

**Keywords** : Fragrant pandan leaves, Kombucha, Thin Layer Chromatography (TLC), Antibacterial

## ABSTRAK

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui profil kandungan kimia dan aktivitas antibakteri terhadap bakteri penyebab bau badan *Staphylococcus epidermidis* dari kombucha daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.). Profil senyawa kimia ditentukan secara kualitatif menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Aktivitas antibakteri diuji menggunakan metode difusi cakram. Data aktivitas antibakteri dianalisis secara statistik menggunakan *One-Way* ANOVA dengan taraf kepercayaan 95% dan dianalisis lebih lanjut menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombucha daun pandan wangi memiliki profil senyawa kimia flavonoid dan fenolik. Kombucha daun pandan wangi dengan konsentrasi 20%, 30%, 40%, 50% dan 100% memiliki aktivitas antibakteri *Staphylococcus epidermidis* yang termasuk dalam kategori lemah.

**Kata Kunci**: Daun Pandan Wangi, Kombucha, Kromatografi Lapis Tipis (KLT), Antibakteri.

## PENDAHULUAN

Kombucha merupakan produk teh yang difermentasi dengan adanya penambahan starter kultur konsorsium bakteri dan khamir yang disebut *SCOBY* (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*). Kombucha telah banyak dimanfaatkan di seluruh dunia, termasuk di Indonesia. Teh kombucha ini cukup populer dikalangan masyarakat Indonesia karena kombucha memiliki potensi sebagai antimikroba, antioksidan, serta sebagai antikarsinogenik. Menurut Zubaidah *et al.* (2021), kombucha memiliki banyak kandungan mikroorganisme yang tergolong sebagai probiotik yang diperoleh dari proses fermentasi.

Proses fermentasi kombucha memanfaatkan hubungan simbiosis antara bakteri dan khamir. Bakteri yang berperan dalam proses fermentasi kombucha antara lain *Acetobacter* sp., *Gluconacetobacter* sp., *Agrobacterium tumefaciens*, *Rhizobium* sp. dan *Sarcina ventriculli*, sedangkan khamir berasal dari genus *candida*, *Zygosaccharomyces*, *Saccharomycodes* dan *Saccharomyces* (Villarreal-Soto et al., 2018).

Kombucha umumnya dibuat dari berbagai jenis teh dengan adanya penambahan larutan gula dan penambahan starter. Namun, saat ini proses pembuatan kombucha masih terus berkembang dan seiring berjalannya waktu diketahui bahwa kombucha dapat dibuat dari berbagai jenis tanaman. Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai substrat dalam fermentasi kombucha adalah tanaman daun pandan wangi.

Daun pandan wangi adalah tanaman yang banyak digunakan sebagai pewarna dan pewangi makanan, serta juga banyak dimanfaatkan pada bidang farmakologi. Daun pandan wangi mengandung banyak senyawa kimia diantaranya senyawa flavonoid, alkaloid, fenolik, polifenol dan saponin (Suryani et al., 2017). Senyawa kimia yang terdapat pada daun pandan wangi berpotensi sebagai antibakteri, antioksidan, antikanker dan antiinflamasi. Kandungan senyawa kimia pada daun pandan wangi dapat diidentifikasi menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Menurut Forestryana & Arnida (2020), KLT merupakan metode sederhana untuk mendapatkan informasi terkait keberadaan kandungan senyawa kimia yang terdapat pada suatu sampel. Metode KLT terdiri dari dua fase yaitu fase gerak dan fase diam. Fase gerak berupa pelarut yang digunakan (eluen), sedangkan fase diam terdiri dari silika gel yang digunakan (adsorben). Prinsip kerja metode KLT terbagi menjadi tiga yaitu adsorpsi, desorpsi dan elusi.

Kandungan senyawa kimia yang terdapat pada kombucha memiliki aktivitas penghambatan terhadap bakteri penyebab bau badan (Jayanti et al., 2024). Beberapa bakteri yang dapat menyebabkan bau badan antara lain *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hominis*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Streptococcus pyogenes* (Budi & Melviani, 2022). Bakteri yang paling dominan ditemukan pada kulit serta dapat menyebabkan bau badan yaitu *Staphylococcus epidermidis*. Pada penelitian ini diungkap profil senyawa kimia dan aktivitas antibakteri kombucha daun pandan wangi terhadap bakteri penyebab bau badan *Staphylococcus epidermidis*.

## **METODE PENELITIAN**

### **Waktu dan Tempat**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April – Agustus 2024. Sampel daun pandan wangi diperoleh di Kecamatan Kambu, Kota Kendari, Sulawesi Tenggara. Penentuan profil kandungan kimia dengan menggunakan metode KLT dilakukan di Laboratorium Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Halu Oleo. Pembuatan kombucha, pengujian total asam dan uji aktivitas antibakteri kombucha dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Unit Biologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Halu Oleo, Kendari, Sulawesi Tenggara.

### **Alat dan Bahan**

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah toples kaca sebagai bioreaktor, timbangan analitik, fermentor, *hot plate*, *magnetic stirrer*, *laminar air flow*, *erlenmeyer*, autoklaf, jarum ose, vortex, cawan petri, bunsen, botol vial, inkubator, jangka sorong, gelas ukur, pH meter, *Paper disk*, Pipet Tetes, Buret dan Statif, Pinset, Lampu UV 366 dan 245 nm.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah Daun Pandan Wangi, Starter *SCOBY*, Gula Pasir, *Aquadest*, Media NA (*Nutrient agar*), Isolat Bakteri *Staphylococcus epidermidis* Strain ATCC 12228,

Spiritus, *Streptomycin*, NaCl 0,9%, Standar *Mc. Farland* 0,5, *Cutton Swab Steril*, *Aluminium foil*, Etil Asetat, Sitroborat, FeCl<sub>3</sub>, NaOH 0,1N, N-Heksan, Serium Sulfat, Plat Silika Gel GF254.

## **Prosedur Kerja**

### ***Pengambilan Sampel***

Daun pandan wangi yang digunakan sebagai sampel pada penelitian ini diambil dari Kecamatan Kambu, Kota Kendari, Sulawesi Tenggara. Daun pandan wangi yang diambil yaitu daun pandan yang berwarna hijau tua, tidak layu dan tidak bolong. Putri (2019), menyatakan kriteria daun pandan wangi yang bagus yaitu dapat dilihat dari daunnya yang berwarna hijau tua, segar, memiliki aroma yang wangi dan tidak bolong.

### ***Pembuatan Kombucha Daun Pandan Wangi***

Proses pembuatan kombucha daun pandan wangi pada penelitian merujuk pada penelitian yang telah dilakukan oleh Saputra *et al.* (2017) dan Yanti *et al.* (2020), dengan substrat yang dimodifikasi. Daun pandan wangi disiapkan sebanyak 20 g, direbus dalam 1 L air hingga mendidih. Air rebusan disaring dan ditambahkan gula sebanyak 20%, kemudian dimasukkan ke dalam bioreaktor (toples kaca). Air rebusan didinginkan hingga suhu  $\pm 25^{\circ}\text{C}$  atau sama dengan suhu ruang, air rebusan diukur pH nya terlebih dahulu sebelum ditambahkan starter dan difermentasi. Air rebusan daun pandan wangi dipisahkan ke wadah yang berbeda sebanyak 100 mL untuk pengujian awal sebelum dilakukan fermentasi. Starter kombucha berumur 14 hari sebanyak 8% (v/v) dan 1 keping SCOBY, ditambahkan ke dalam bioreaktor berisi air rebusan daun pandan wangi yang akan difermentasi. Toples kaca (bioreaktor) ditutup dengan kain kasa, selanjutnya air rebusan daun pandan difermentasi secara statis (diam) selama 12 hari pada suhu ruang dalam kondisi tidak terkena sinar matahari secara langsung.

### ***Penentuan Profil Kandungan Kimia Kombucha Daun Pandan Wangi***

Profil kimia yang diamati pada kombucha daun pandan wangi adalah senyawa flavonoid dan senyawa fenolik. Penentuan profil kimia senyawa tersebut bertujuan untuk mengetahui perbedaan kandungan senyawa flavonoid dan senyawa fenolik yang terdapat pada ekstrak daun pandan wangi, air rebusan daun pandan wangi dan fermentasi kombucha daun pandan wangi. Penentuan profil kimia secara kualitatif dilakukan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Air rebusan dan fermentasi kombucha daun pandan wangi yang terlalu polar sulit melewati fase gerak dan fase diam pada silika gel, untuk itu kedua larutan tersebut dikurangi kepolarannya terlebih dahulu menggunakan etil asetat. Kepolaran larutan dapat dikurangi dengan cara menambahkan etil asetat dengan perbandingan 1:1 kemudian ditunggu hingga terbentuk 2 fraksi. Etil asetat akan mengikat air dan membentuk lapisan bawa, sedangkan senyawa yang dikandung akan berada difraksi atas. Daun pandan wangi juga di ekstrak menggunakan etil asetat dengan cara daun yang telah dikeringkan digerus sambil ditambahkan etil asetat sedikit demi sedikit, kemudian direndam menggunakan etil asetat sehingga seluruh bagian daun yang digunakan terendam.

Penentuan kandungan senyawa flavonoid dan fenolik dilakukan dengan metode identifikasi KLT, menggunakan plat (lempeng) silika gel GF<sub>254</sub>, yang berukuran 1x8 cm<sup>2</sup>. Ekstrak daun pandan wangi, air rebusan daun pandan wangi, dan kombucha daun pandan diteteskan pada lempeng silika dengan jarak sekitar 1 cm dari bagian bawah lempeng menggunakan pipa kapiler. Setelah itu, campuran tersebut dikeringkan dan diolah dengan masing-masing pelarut untuk memisahkan senyawa-senyawa yang ada. Plat diletakkan di dalam wadah yang sudah diisi dengan campuran N-Heksan dan etil asetat dengan perbandingan 2 : 8. Setelah fase gerak mencapai tinggi 7,5 cm, lempeng diambil dari chamber, lalu dikeringkan di udara. Setelah itu, bercak dilihat di bawah sinar UV 254 dan UV 366 nm.

Keberadaan kandungan senyawa flavonoid dapat dideteksi setelah diberikan larutan sitroborat, sedangkan kandungan senyawa fenolik dideteksi setelah diberikan larutan FeCl<sub>3</sub>. Hasil yang positif mengandung flavonoid berwarna kuning terang, sedangkan hasil yang positif mengandung fenolik berwarna hitam, biru, hijau dan merah.

### **Pengujian Total Asam Kombucha**

Pengujian total asam dilakukan dengan menggunakan metode titrasi asam basa (Rosada *et al.*, 2023). Titrasi asam basa dilakukan dengan cara air rebusan daun pandan wangi dan sampel kombucha daun pandan wangi masing-masing diambil sebanyak 10 mL. Sampel kombucha diencerkan menggunakan akuades dan dicukupkan hingga 100 mL. Sebanyak 10 mL air rebusan daun pandan wangi dan 10 mL sampel kombucha daun pandan wangi dimasukkan ke dalam erlenmeyer berbeda. Indikator phenolftalein (PP) ditambahkan 3 tetes ke dalam masing-masing erlenmeyer dan kemudian dilakukan titrasi dengan NaOH 0,1 N. Titrasi dihentikan ketika warnanya berubah menjadi merah muda yang konstan. Perhitungan total asam dapat menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Total asam (\%)} = \frac{V_{\text{NaOH}} \times N_{\text{NaOH}} \times \text{BM} \times F_p}{V_{\text{sampel}} \times 1000} \times 100$$

Keterangan:

V<sub>NaOH</sub> : volume NaOH untuk titrasi

N<sub>NaOH</sub> : konsentrasi standar NaOH

V<sub>sampel</sub> : volume sampel untuk titrasi

Fp : faktor pengencer

BM : Berat molekul

### **Uji Aktivitas Antibakteri Kombucha**

Pengujian ini dilakukan pada sampel kombucha yang berumur 12 hari untuk mengetahui aktivitas antibakteri pada kombucha daun pandan wangi. Perlakuan yang diberikan pada pengujian ini terdiri atas 6 variasi konsentrasi, perbedaan konsentrasi dilakukan untuk melihat konsentrasi terbaik kombucha daun pandan wangi dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Pengujian dilakukan pada 6 konsentrasi bahan aktif kombucha, yaitu konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50% dan 100% menggunakan metode difusi cakram dengan 3 kali ulangan.

Bakteri uji yang digunakan pada pengujian aktivitas antibakteri dipersiapkan dalam bentuk larutan suspensi. Pembuatan larutan suspensi bakteri dilakukan dengan cara isolat bakteri uji yang telah diremajakan pada media *Nutrient Agar* (NA) miring berumur 24 jam, diambil sebanyak 1-2 jarum inokulasi (ose) dan disuspensikan ke dalam larutan NaCl fisiologis steril, kemudian disetarakan kekeruhannya dengan larutan standar *Mc. Farland 0,5*.

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram. Bakteri uji diinokulasikan pada media agar (NA) menggunakan kapas *cutton swab* steril yang telah dcelupkan ke dalam suspensi bakteri. *Cutton swab* yang mengandung bakteri digoreskan pada permukaan media NA yang telah padat dalam cawan petri. Kemudian delapan kertas cakram yang berukuran 5 mm dcelupkan ke dalam sampel uji yaitu kombucha daun pandan wangi dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50% dan 100%, *aquadest* steril sebagai kontrol negatif dan *streptomycin* konsentrasi 10 mg/mL sebagai kontrol positif. Kertas cakram kemudian diletakkan di atas permukaan media menggunakan pinset steril pada posisi yang berbeda.

Cawan petri berisi media uji disimpan di dalam kulkas selama 60 menit, bertujuan agar sampel agensia antibakteri berdifusi dengan baik ke media. Kemudian media uji diinkubasi pada suhu 37°C

dalam inkubator selama 6-24 jam. Setelah diinkubasi, zona bening yang terbentuk disekeliling kertas cakram diukur menggunakan jangka sorong. Penentuan aktivitas antibakteri dihitung berdasarkan hasil pengukuran zona bening (zona hambat) menggunakan rumus sebagai berikut :

$$Z = \frac{(Dv - Dc) + (Dh - Dc) + (Dd - Dc)}{3}$$

Keterangan :

Z = Aktivitas antibakteri

Dv = Diameter zona bening vertikal

D<sub>h</sub> = Diameter zona bening horizontal

Dd = Diameter zona bening diagonal

Dc = Diameter kertas cakram

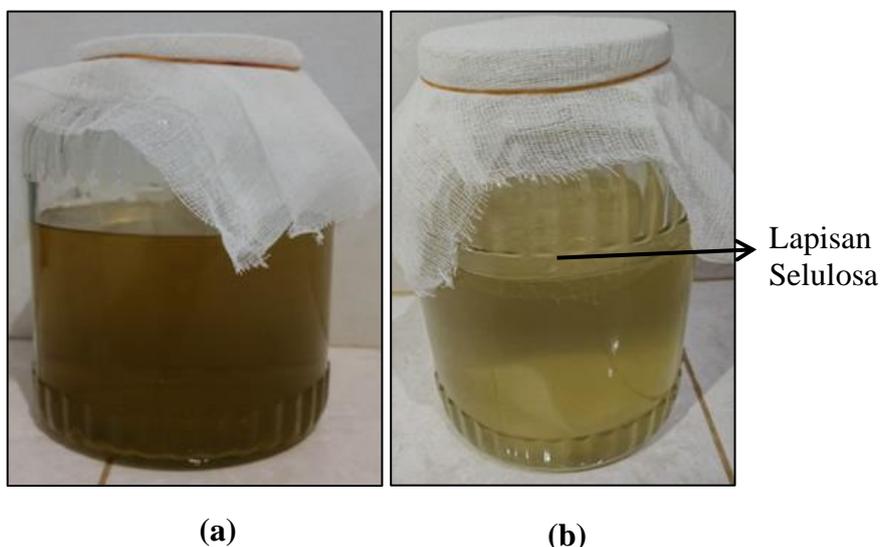
### Analisis Data

Data hasil uji profil kandungan senyawa kimia dan penentuan total asam kombucha disajikan dalam bentuk tabel dan penjelasan secara deskriptif. Data uji antibakteri dilihat dari zona hambat yang terbentuk dianalisis dengan *One-Way ANOVA (Analysis of Variance)* jika terdapat perbedaan dari masing-masing perlakuan dilakukan uji lanjut.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kombucha Daun Pandan Wangi

Kombucha daun pandan wangi merupakan minuman hasil fermentasi yang berbahan dasar air rebusan daun pandan wangi dengan penambahan gula dan starter mikroba kombucha (*SCOBY*). Kombucha daun pandan wangi memiliki aroma asam khas fermentasi, serta memiliki rasa yang manis dan asam. Menurut Puspita *et al.* (2022), ciri-ciri kombucha yang berhasil dan siap panen yaitu memiliki aroma asam dan tidak terdapat kontaminasi oleh jamur atau hifa pada *SCOBY* kombucha yang dihasilkan selama proses fermentasi. Hasil fermentasi kombucha daun pandan wangi tercantum pada **Gambar 1**.



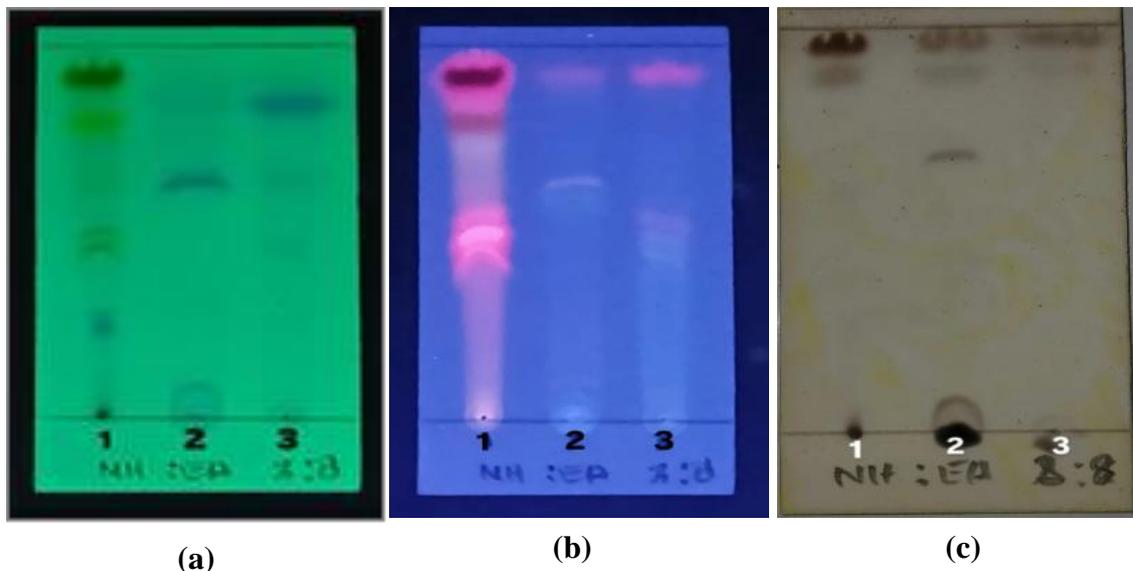
**Gambar 1.** Kombucha daun pandan wangi. (a) sebelum fermentasi, (b) setelah fermentasi.

**Gambar 1.** menunjukkan bahwa kombucha daun pandan wangi berhasil dibuat yang ditandai dengan terbentuknya selulosa berwarna putih yang mengapung atau biasa disebut *SCOBY*. Selulosa yang terbentuk selama proses fermentasi dihasilkan oleh bakteri *Acetobacter xylinum*. Menurut Suhardini & Zubaidah (2016), bakteri *A. xylinum* akan memecahkan komponen-komponen gula sehingga akan terbentuknya polisakarida yaitu selulosa. Adanya karbondioksida yang dihasilkan dari proses metabolisme sel menyebabkan selulosa yang dihasilkan mengapung ke permukaan kombucha.

Proses fermentasi mikroba pada kombucha juga memproduksi asam organik. Menurut Puspitasari *et al.* (2017), khamir merombak sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa selama proses fermentasi berlangsung, kemudian glukosa dikonversi menjadi selulosa, asam asetat dan asam glukonat oleh bakteri asam asetat melalui fosfat pentosa. Asam-asam organik yang dihasilkan selama pada fermentasi kombucha dapat menyebabkan kombucha memiliki rasa yang asam manis dan aroma yang sedikit asam.

### Profil Kimia Kombucha Daun Pandan Wangi

Penentuan Profil kimia dilakukan secara kualitatif dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Visualisasi hasil skrining kandungan senyawa kimia dengan menggunakan metode KLT tercantum pada **Gambar 2**.



**Gambar 2.** Hasil skrining kromatografi lapis tipis (a) di bawah sinar UV 254 nm, (b) di bawah sinar UV 366 nm, (c) setelah pemberian serum sulfat. **Keterangan:** 1: ekstrak daun pandan wangi; 2: rebusan daun pandan wangi; 3: kombucha daun pandan wangi.

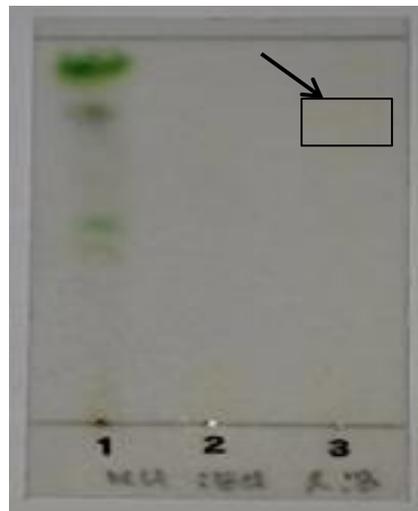
**Gambar 2.** menunjukkan ketiga perlakuan yakni ekstrak daun pandan wangi (1), rebusan daun pandan wangi (2) dan kombucha daun pandan wangi (3) memiliki kandungan senyawa kimia yang ditandai dengan noda yang terbentuk. Terjadinya perbedaan pemisahan noda yang terbentuk pada ketiga sampel. Hal ini menunjukkan bahwa ketiga perlakuan berpengaruh terhadap profil kandungan senyawa kimia daun pandan wangi. Perbedaan pemisahan noda yang terbentuk dapat dilihat secara jelas dibawah sinar UV 366 dan UV 254 nm. Menurut Forestryana & Arnida (2020), prinsip menggunakan lampu UV untuk pengamatan plat silika gel yakni pada gelombang pendek 254 nm, lempeng memberikan fluoresensi pada sampel berwarna gelap dan noda yang tampak timbul disebabkan karena adanya interaksi antara sinar UV dengan indikator fluoresensi yang terdapat pada KLT, sedangkan gelombang panjang 366 nm memberikan keadaan yang sebaliknya yakni noda memberikan fluoresensi dan

lempeng berwarna gelap serta noda yang tampak timbul karena adanya interaksi antara sinar UV dan gugus kromofor.

Berdasarkan hasil skrining profil kandungan kimia pada **Gambar 2**. setelah dilakukan pemberian serium sulfat, noda yang terbentuk pada kromotogram dapat terlihat secara langsung. Menurut Puspita *et al.* (2019), pemberian pereaksi serium sulfat bertujuan untuk memperjelas penampakan noda yang terbentuk pada kromatogram, sehingga noda dapat dilihat secara langsung. Berdasarkan hasil pengujian skrining kandungan senyawa kimia tersebut diketahui bahwa ketiga perlakuan memiliki kandungan senyawa kimia yang ditandai dengan terbentuknya noda yang tampak pada kromatogram. Menurut Forestryana & Arnida (2020), satu noda yang terbentuk dapat mengandung banyak senyawa aktif. Oleh karena itu kromatogram diberikan pereaksi untuk mengetahui adanya kandungan senyawa flavonoid dan fenolik pada ketiga perlakuan tersebut.

### Profil Senyawa Flavonoid

Penentuan senyawa flavonoid dilakukan dengan menyemprotkan pereaksi berupasiroborat pada plat silika gel. Menurut Menurut Santosa & Haresmita (2015), pereaksi sitroborat akan bereaksi dengan gugus orto-dihidroksi pada senyawa flavonoid sehingga dapat menghasilkan warna pada noda yang terbentuk. Penentuan kandungan senyawa flavonoid dilakukan pada tiga perlakuan yaitu ekstrak daun pandan wangi, rebusan daun pandan wangi dan kombucha daun pandan wangi. Hasil penentuan kandungan senyawa flavonoid dengan menggunakan metode KLT tercantum pada **Gambar 3**.



**Gambar 3.** Hasil Penentuan Kandungan Senyawa Flavonoid. Tanda panah menunjukkan noda indikator senyawa flavonoid.

**Gambar 3** menunjukkan bahwa pada ekstrak daun pandan wangi (1) dan kombucha daun pandan wangi (3) terdapat kandungan senyawa flavonoid yang ditandai dengan terbentuknya noda yang berwarna kuning. Intensitas noda yang berwarna kuning yang terbentuk tidak terlalu tampak (tanda panah), hal ini disebabkan karena reaksi yang terjadi antara kandungan senyawa flavonoid dan larutan pereaksi tidak cukup kuat untuk menghasilkan warna yang pekat. Menurut Naraswank (2021), spot warna yang kurang jelas, menandakan bahwa proses pemisahan masih kurang baik sehingga menghasilkan warna yang samar. Pada **Gambar 3** dan **Tabel 1**, menunjukkan bahwa Air rebusan daun pandan wangi (**Gambar 3 baris 2**) tidak terdapat noda yang berwarna kuning dan mengindikasikan tidak terdeteksi adanya kandungan senyawa flavonoid. Hasil ini disebabkan proses perebusan yang dilakukan pada daun pandan wangi dapat menurunkan kandungan senyawa flavonoidnya. Hal ini sesuai

dengan pernyataan Lekal & Watuguly (2017), bahwa adanya proses perebusan pada daun tanaman dapat menyebabkan kandungan senyawa kimianya akan menurun. Syafrida *et al.* (2018), juga menyatakan bahwa degradasi senyawa flavonoid pada proses pemanasan karena terjadi pemutusan rantai molekul, selain itu terjadi pula reaksi oksidasi yang menyebabkan gugus hidroksil akan membentuk senyawa lain yang mudah menguap dengan cepat. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa adanya proses fermentasi pada rebusan daun pandan wangi memiliki kandungan senyawa flavonoid.

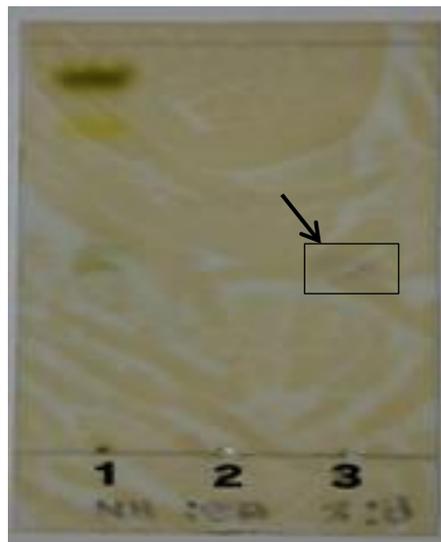
**Tabel 1.** Hasil Penentuan Profil Kandungan Senyawa Flavonoid

Sampel	Warna Noda		Ket.
	Sebelum Diberi Perekasi	Setelah Diberi Perekasi	
Ekstrak daun pandan wangi	Hijau	Kuning	+
Rebusan daun pandan wangi	Tidak berwarna	Tidak berwarna	-
Kombucha daun pandan wangi	Tidak berwarna	Kuning	+

Keterangan : (+) Mengandung senyawa flavonoid; (-) Tidak mengandung senyawa flavonoid

### Profil Senyawa Fenolik

Pengujian kandungan senyawa fenolik dengan metode KLT dilakukan dengan cara menyemprotkan plat silika gel menggunakan larutan  $\text{FeCl}_3$ . Penentuan kandungan senyawa fenolik dilakukan pada ketiga perlakuan yaitu ekstrak, air rebusan dan kombucha daun pandan wangi. Kandungan senyawa fenolik ditandai dengan terbentuknya warna hitam pada plat silika gel. Menurut Padamani *et al.* (2020), perubahan warna yang terjadi disebabkan karena reaksi antara gugus fungsi hidroksil fenol dengan larutan pereaksi  $\text{FeCl}_3$ . Hasil penentuan kandungan senyawa fenolik dengan menggunakan metode KLT tercantum pada **Gambar 4**.



**Gambar 4.** Hasil Penentuan Kandungan Senyawa Fenolik. Tanda panah menunjukkan noda indikator senyawa flavonoid

**Gambar 4.** menunjukkan bahwa terdapat kandungan senyawa fenolik pada ekstrak daun pandan wangi (1) dan kombucha daun pandan wangi (3). Kandungan senyawa fenolik pada ekstrak daun pandan wangi (1) ditunjukkan pada adanya pemisahan dengan terbentuknya pola noda yang warna hijau pada plat silika gel, sedangkan kandungan senyawa fenolik pada kombucha daun pandan wangi ditunjukkan

dengan terbentuknya satu noda yang berwarna hitam (Tanda panah) pada plat silika gel. Hasil ini didukung oleh pernyataan Pratiwi *et al.* (2023) bahwa suatu bahan yang positif mengandung senyawa fenolik ditandai dengan terbentuknya noda yang berwarna hitam, hijau, biru, ungu dan merah. **Gambar 4** dan **Tabel 2** menunjukkan bahwa air rebusan daun pandan wangi (**Gambar 4**, baris 2) tidak memiliki kandungan senyawa fenolik karena tidak terbentuknya noda plat silika gel. Menurut Firdaus *et al.* (2021), senyawa fenolik sensitif terhadap suhu dan tidak stabil dalam panas karena fenolik mempunyai sifat mudah menguap dan dioksidasi.

**Tabel 2.** Hasil Penentuan Profil Fenolik

Sampel	Warna Noda		Ket.
	Sebelum Diberi Pereaksi	Setelah Diberi Pereaksi	
Ekstrak daun pandan wangi	Hijau	Hijau	+
Rebusan daun pandan wangi	Tidak berwarna	Tidak berwarna	-
Kombucha daun pandan wangi	Tidak berwarna	Biru kehitaman	+

Keterangan: (+) Positif mengandung senyawa fenolik; (-) Tidak mengandung senyawa fenolik

Hasil yang ditampilkan pada **Tabel 1** dan **Tabel 2** menunjukkan bahwa penambahan starter dan proses fermentasi pada rebusan daun pandan wangi, terdeteksi adanya kandungan senyawa flavonoid dan fenolik sedangkan pada rebusan daun pandan wangi yang tidak difermentasi, senyawa flavonoid maupun senyawa fenolik tidak terdeteksi. Hal ini mengindikasikan bahwa proses fermentasi pada rebusan daun pada wangi berpengaruh pada kandungan senyawa kimia rebusan daun pandan wangi. Menurut Suhardini & Zubaida (2016), adanya kandungan senyawa fenolik yang dihasilkan pada proses fermentasi kombucha diduga karena melibatkan berbagai macam jenis mikroba yaitu berupa bakteri dan khamir yang melakukan metabolisme sehingga menghasilkan senyawa flavonoid melalui reaksi enzimatik serta juga dapat menghasilkan kandungan senyawa fenolik pada produk kombucha.

### Hasil Penentuan Total Asam

Pengujian total asam dilakukan pada sampel air rebusan daun pandan wangi dan kombucha daun pandan wangi yang telah di fermentasi selama 12 hari. Kadar total asam yang terdapat pada kedua sampel tersebut tercantum pada **Tabel 3**.

**Tabel 3.** Kadar Total Asam dan pH Kombucha Daun Pandan Wangi

No.	Perlakuan	Kadar Total Asam (%)	pH
1.	Rebusan daun pandan wangi	0,004%	5,00
2.	Kombucha daun pandan wangi	0,42%	3,02

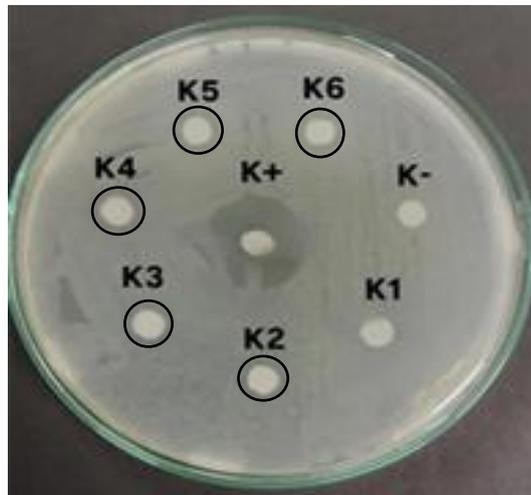
**Tabel 3** menunjukkan bahwa kadar total asam pada rebusan daun pandan wangi yaitu sebesar 0,004% serta memiliki pH 5,00. Sedangkan setelah terjadinya proses fermentasi kombucha daun pandan wangi memiliki kadar total asam sebesar 0,42% dengan pH 3,02. Menurut Puspaningrum *et al.* (2022), kadar total asam pada kombucha yang mengalami peningkatan selama proses fermentasi, disebabkan karena pada proses tersebut bakteri dan khamir memanfaatkan sukrosa dalam proses metabolisme sehingga menghasilkan beberapa asam-asam organik seperti asam asetat, asam glukoronat dan asam glukonat. Ardiansyah *et al.* (2023), juga melaporkan bahwa waktu fermentasi merupakan salah satu faktor penting dalam proses fermentasi kombucha karena dapat mempengaruhi jumlah asam-asam organik yang dihasilkan seperti asam asetat.

Proses fermentasi kombucha oleh mikroba menghasilkan asam organik yang dapat membuat terjadinya peningkatan kadar total asam dan terjadinya penurunan pH. Yanti *et al.* (2020) dan Jayanti

et al. (2024) melaporkan bahwa semakin tinggi kadar total asam yang didapatkan, maka nilai pH pada kombucha juga akan semakin rendah. Hal ini sejalan dengan hasil yang didapatkan pada **Tabel 3.** bahwa terjadinya penurunan pH pada rebusan daun pandan wangi setelah dilakukan fermentasi menjadi kombucha daun pandan wangi. Menurut Cholidah et al. (2020), penurunan pH selama proses fermentasi disebabkan oleh khamir yang mensintesis gula menjadi alkohol, kemudian dilanjutkan dengan bakteri yang mengubah alkohol menjadi asam-asam organik.

### Aktivitas Antibakteri Kombucha Daun Pandan Wangi

Pengujian aktivitas antibakteri pada kombucha daun pandan wangi dilakukan dengan metode difusi yang menggunakan kertas cakram dan bertujuan untuk mengetahui kemampuan kombucha daun pandan wangi dalam menghambat bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Bakteri *S. epidermidis* merupakan salah satu bakteri yang umum terdapat pada kulit manusia dan dapat menyebabkan terjadinya bau badan. Adanya aktivitas antibakteri pada kombucha daun pandan wangi ditandai dengan terbentuknya zona jernih di sekitar kertas cakram. Hasil penghambatan kombucha daun pandan wangi tercantum pada **Gambar 5.**



**Gambar 5.** Visualisasi hasil pengujian aktivitas antibakteri Kombucha Daun Pandan Wangi, **Keterangan** : K1 = kombucha 10%; K2 = kombucha 20%; K3 = kombucha 30%; K4 = kombucha 40%; K5 = kombucha 50%; K6 = kombucha 100%; K(+) = kontrol positif; K(-) = kontrol negatif; Tanda lingkaran = zona hambat.

**Gambar 5** menunjukkan bahwa pada kombucha dengan konsentrasi 10% tidak terdapat zona jernih pada sekeliling kertas cakram, dan hal ini mengindikasikan jika kombucha konsentrasi 10% tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. Epidermidis*. Kombucha dengan konsentrasi 20%, 30%, 40%, 50% dan 100% memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. epidermidis* yang ditandai dengan terbentuknya zona jernih di sekeliling kertas cakram. Namun, pada konsentrasi 20%, 30% dan 40% zona hambat yang dihasilkan lebih jernih dibandingkan konsentrasi 50% dan 100%. Hal tersebut diduga karena mikroba yang terdapat pada kombucha juga tumbuh pada media yang digunakan.

Zona jernih yang terbentuk pada sekeliling kertas cakram menandakan bahwa kombucha daun pandan wangi dengan konsentrasi 20%, 30%, 40%, 50% dan 100% dapat menghambat bakteri *S. epidermidis*. Hal tersebut juga dibuktikan oleh zona jernih yang terbentuk pada pengujian yang dilakukan, sedangkan pada kontrol negatif berupa akuades steril tidak terbentuk zona hambat. Menurut Buldani et al. (2017), akuades steril adalah salah satu pelarut yang sering digunakan sebagai kontrol

negatif karena tidak mengandung senyawa aktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil pengukuran aktivitas antibakteri kombucha daun pandan wangi tercantum pada **Tabel 4**.

**Tabel 4.** Aktivitas Antibakteri Kombucha Daun Pandan Wangi

Perlakuan	Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm) $\pm$ SD	Kategori
K10%	0,00 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	-
K20%	3,55 $\pm$ 0,61 <sup>b</sup>	Lemah
K30%	3,61 $\pm$ 1,48 <sup>b</sup>	Lemah
K40%	3,73 $\pm$ 0,89 <sup>b</sup>	Lemah
K50%	4,42 $\pm$ 1,12 <sup>b</sup>	Lemah
K100%	4,63 $\pm$ 1,18 <sup>b</sup>	Lemah

Keterangan : K10% = kombucha 10%; K20% = kombucha 20%; K30% = kombucha 30%; K40% = kombucha 40%; Kombucha 50% = kombucha 50%; K100% = kombucha 100%; Angka yang diikuti notasi yang berbeda menunjukkan ada beda nyata yang signifikan pada taraf kepercayaan 95%.

Aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. epidermidis* pada **Tabel 4**. menunjukkan bahwa kombucha daun pandan wangi dengan konsentrasi 20%, 30%, 40%, 50% dan 100% termasuk dalam kategori lemah. Nilai diameter zona hambat terendah terdapat pada konsentrasi kombucha 20% dengan nilai rata-rata 3,55 mm, sedangkan nilai rata-rata diameter zona hambat tertinggi terdapat pada konsentrasi 100% yaitu 4,63 mm. Hal tersebut berbeda dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Hayani (2024), yang melaporkan bahwa ekstrak daun pandan wangi dengan konsentrasi 30% belum mampu menghambat bakteri *S. epidermidis*. Hal ini menunjukkan bahwa daun pandan wangi yang difermentasi menjadi kombucha memiliki aktivitas antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak daun pandan wangi karena kombucha daun pandan wangi dapat menghambat bakteri dengan konsentrasi lebih kecil dibandingkan ekstrak daun pandan wangi.

Berdasarkan hasil analisis *One-Way* ANOVA diperoleh nilai ( $\text{sig} < 0,05$ ) yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada perlakuan. Berdasarkan nilai koefisien keragaman (KK) yang didapatkan pada data uji aktivitas antibakteri nilai KK yang didapatkan sebesar 5%, sehingga dilakukan uji lanjut dengan beda nyata terkecil (BNT) untuk melihat perbedaan yang signifikan pada setiap perlakuan. Terjadinya perbedaan yang signifikan pada setiap perlakuan dapat ditandai dengan nilai yang didapatkan kurang dari 0,05. Hasil uji BNT menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan terhadap aktivitas antibakteri antara kombucha pada konsentrasi 10% berbeda nyata dengan kombucha pada konsentrasi 20%, 30%, 40%, 50% dan 100%. Nilai signifikansi aktivitas antibakteri kombucha dengan konsentrasi 10% kurang dari 0,05, sedangkan pada konsentrasi 20% sampai 100% memiliki nilai signifikansi diatas 0,05. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada konsentrasi 20% sampai 100% tidak berbeda nyata.

Berdasarkan **Gambar 5** dan **Tabel 4** dapat disimpulkan bahwa kombucha daun pandan wangi memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri penyebab bau badan. Kemampuan kombucha dalam menghambat bakteri penyebab bau badan diduga karena adanya metabolisme yang terjadi pada saat berlangsungnya proses fermentasi sehingga menghasilkan beberapa produk yang memiliki potensi sebagai antibakteri, salah satu produk yang dihasilkan yaitu asam asetat. Menurut Kusumiyati *et al.* (2022), asam asetat yang terdisosiasi berperan merusak struktur bilayer lipid pada bakteri melalui masuknya proton ke dalam sitoplasma, sehingga jumlah proton secara intraseluler yang dihasilkan lebih banyak dan dapat menyebabkan terjadinya denaturasi protein pada bakteri. Kadar asam organik yang semakin tinggi pada kombucha akan meningkatkan kemampuan kombucha tersebut menghambat pertumbuhan bakteri. Kombucha daun pandan wangi yang mengandung flavonoid dan fenolik (**Tabel**

**1 dan Tabel 2)** menyebabkan kombucha daun pandan wangi memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. epidermidis*. Menurut Sadiyah *et al.* (2022), senyawa fenolik menginaktivasi protein melalui ikatan hidrogen sehingga dapat menyebabkan struktur protein pada bakteri rusak dan aktivitas metabolisme sel bakteri mengalami kematian, sedangkan senyawa flavonoid dapat menyebabkan lipid dan asam amino yang terkandung pada dinding sel bakteri akan bereaksi dengan gugus alkohol dari senyawa flavonoid dan menyebabkan sel bakteri lisis.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada penelitian ini maka disimpulkan bahwa kombucha daun pandan wangi memiliki kandungan senyawa flavonoid dan fenolik serta memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. epidermidis* yang termasuk dalam kategori lemah.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ardiansyah, A., Mahfudz, A. P. M., Maryani, A., & Yanti, N. A. (2023). Production of Kombucha From *Kyllinga monocephala* and its Antibacterial Activity. In *AIP Conference Proceedings*, 2704(1), 1-6.
- Budi, S., & Melviani, M. (2022). Uji Formulasi *Spray Scant Diffuse* untuk Memanipulasi Bau Tubuh. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 19(1), 80-89.
- Buldani, A., Yulianti, R., & Soedomo, P. (2017). Uji Efektivitas Ekstrak Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) sebagai Antibakteri Terhadap *Vibrio cholerae* dan *Staphylococcus aureus* Secara *In Vitro* dengan Metode Difusi Cakram. In *Prosiding Seminar Nasional IPTEK Terapan (SENIT)*, ISBN 978-602-74355-1-3.
- Cholidah, A. I., Danu, D., & Nurrosyidah, I. H. (2020). Pengaruh Lama Waktu Fermentasi Kombucha Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) Terhadap Aktivitas Antibakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 2(3), 186-210.
- Firdaus, M., Nazaruddin, N., & Cicilia, S. (2021). Efek Lama Perebusan Terhadap Aktivitas Antioksidan Air Rebusan Batang Brotowali (*Tinospora crispa* L.). *Journal of Food and Agricultural Product*, 1(2), 71-81.
- Forestryana, D., & Arnida. (2020). Phytochemical Screenings and Thin Layer Chromatography Analysis of Ethanol Extract Jeruju Leaf (*Hydrolea spinosa* L.). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 11(2), 113-124.
- Hayani, F. I. (2024). Aktivitas Antibakteri dan Karakteristik Fisik Deodoran *Roll On* Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) Terhadap Bakteri Penyebab Bau Badan. *Skripsi*. Universitas Halu Oleo. Kendari.
- Jayanti, D., Yanti, N.A., & Sahidin. 2024. Profil Senyawa Kimia Dan Aktivitas Antibakteri Kombucha Daun Senggani (*Melastoma candidum* D. Don) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *BioWallacea, jurnal Penelitian Biologi*, 11(2), 167-180.
- Kusumiyati, K., Setyaji, D. Y., Fadillah, M. F., & Rezaldi, F. (2022). Uji Daya Hambat Madu Hutan Baduy sebagai Substrat pada Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) Melalui Metode Bioteknologi Fermentasi Kombucha dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Patogen. *Medfarm: Jurnal Farmasi dan Kesehatan*, 11(2), 142-160.
- Naraswanik, P. K. (2021). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) dengan Metode Ekstraksi Ultrasonik. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Padamani, E., Ngginak, J., & Lema, A. T. (2020). Analisis Kandungan Polifenol pada Ekstrak Tunas Bambu Betung (*Dendrocalamus asper*). *Bioma: Jurnal Biologi dan Pembelajaran Biologi*, 5(1), 52-65.

- Pratiwi, S. A., Februyani, N., & Basith, A. (2023). Skrining dan Uji Penggolongan Fitokimia dengan Metode KLT pada Ekstrak Etanol Kemangi (*Ocimum basilicum* L) dan Sereh Dapur (*Cymbopogon citratus*). *Pharmacy Medical Journal*, 6(2), 140-147.
- Puspaningrum, D. H. D., Sumadewi, N. L. U., & Sari, N. K. Y. (2022). Karakteristik Kimia dan Aktivitas Antioksidan Selama Fermentasi Kombucha Cascara Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) Desa Catur Kabupaten Bangli. *Jurnal Sains Dan Edukasi Sains*, 5(2), 44-51.
- Puspita, S. I., Marlina, E., & Daniel, D. (2019). Isolation and Characterization of Flavonoid Compounds From Ethyl Acetate Fraction of Macaranga lamellata Whitmore Leaves. *Jurnal Atomik*, 4(1), 1-5.
- Puspita, S., Rezaldi, F., Galaresa, A. V., Priyoto, P., & Octavia, R. (2022). Uji Aktivitas Farmakologi pada Bunga Kacaping (*Gardenia jasminoides* L) pada Mencit (*Mus musculus* L) Betina Galur DDY yang Terpapar Asap Rokok Terhadap Morfometri Ovarium Melalui Metode Bioteknologi Fermentasi Kombucha. *Jurnal Kesehatan dan Kedokteran*, 1(1), 15-25.
- Putri, S. G. (2022). Pengaruh Variasi Konsentrasi Gula Terhadap Derajat Keasaman dan Aktivitas Antioksidan Kombucha Daun Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Jurnal Inovasi Pendidikan dan Sains*, 3(2), 37-40.
- Rosada, F. F. A., Agustina, E., & Faizah, H. (2023). Pengaruh Konsentrasi Gula Terhadap Karakteristik Fisika, Kimia dan Aktivitas Antioksidan Teh Kombucha Daun Belimbing Wuluh (*Avverhoa bilimbi* Linn.). *Rekayasa*, 16(1), 27-34.
- Saputra, H. W., Muin, R., & Permata, E. (2017). Karakteristik Fisik Produk Fermentasi Kombucha dari Berbagai Daun Berflavanoid Tinggi. *Jurnal Teknik Kimia*, 23(4), 255-262.
- Suhardini, P. N., & Zubaidah, E. (2016). Studi Aktivitas Antioksidan Kombucha dari Berbagai Jenis Daun Selama Fermentasi. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 4(1), 221-229.
- Suryani, C. L., Tamaroh, S., Ardiyan, A., & Setyowati, A. (2017). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Pandan (*Pandanus amaryllifolius*) dan Fraksi-Fraksinya. *Agritech*. 37(3), 271-279.
- Syafrida, M., Darmanti, S., & Izzati, M. (2018). Pengaruh Suhu Pengeringan Terhadap Kadar Air, Kadar Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Daun dan Umbi Rumput Teki (*Cyperus rotundus* L.). *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi*, 20(1), 44-50.
- Villarreal-Soto, S. A., Beaufort, S., Bouajila, J., Souhard, J. P., & Taillandier, P. (2018). Understanding Kombucha Tea Fermentation: A Review. *Journal of Food Science*, 83(3), 580-588.
- Yanti, N. A., Ambardini, S., Ardiansyah, A., Marlina, W. O. L., & Cahyanti, K. D. (2020). Aktivitas Antibakteri Kombucha Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dengan Konsentrasi Gula Berbeda. *Berkala Sainstek*, 8(2), 35-40.
- Zubaidah, E., Fibrianto, K., & Kartikaputri, S. D. (2021). Potensi Kombucha Daun Teh (*Camellia sinensis*) dan Daun Kopi Robusta (*Coffea robusta*) Sebagai Minuman Probiotik. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBi)*, 8(2), 185-195.